

# DSC 法研究 6 种莲子淀粉糊化和老化特性

郑铁松, 李起弘, 陶锦鸿

(南京师范大学金陵女子学院食品科学与营养系, 江苏 南京 210097)

**摘要:** 利用差示扫描量热仪(DSC)结合 Avrami 方程研究在 4℃、储存两周的条件下, 6 种莲子淀粉的糊化和老化特性, 探讨直链淀粉以及贮存时间对其热力学行为产生的影响, 并用 SPSS 软件计算其相关性。结果表明: 6 种莲子淀粉的糊化温度、 $\Delta H$ 、老化焓、老化度以及老化速率存在着一定的差异, 老化速率的大小顺序为太空莲>美人红>大紫红>武植 2 号>鄂莲>洪湖莲, 太空莲淀粉的老化速率是洪湖莲淀粉的 1.36 倍; 6 种莲子淀粉的成核方式均为瞬间成核; 4℃条件下贮存两周的莲子淀粉的老化度随着贮存时间的增加而增大; 直链淀粉含量与 Avrami 指数  $n$  值呈负相关, 与速率常数  $k$  值、 $\Delta H$ 、老化焓以及冰融溶焓呈正相关。

**关键词:** 莲子淀粉; 老化; 糊化; 差示扫描量热仪

## Gelatinization and Retrogradation Characteristics of 6 Kinds of Lotus-seed Starches as Studied by Differential Scanning Calorimetry

ZHENG Tie-song, LI Qi-hong, TAO Jin-hong

(Department of Food Science and Nutrition, Ginling College, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China)

**Abstract:** The gelatinization and retrogradation characteristics of 6 kinds of lotus-seed starches stored for 2 weeks at 4 °C were analyzed by DSC (differential scanning calorimetry). Meanwhile, the Avrami equation was used to explore the effects of amylase content and storage time on the thermodynamics action of lotus-seed starch, and the correlation between the content of amylase and thermodynamics action was evaluated using SPSS Version 17.0. The results showed that significant differences in pasting temperature,  $\Delta H$ , crystal melting enthalpy, retrogradation degree and aging rate were found among 6 kinds of lotus-seed starches; that the aging rates decreased in the order of Taikonglian, Meiren hong, Dazihong, Wuhzi No 2, Elian and Honghulian, and the aging rate of Taikonglian was 1.36 times higher than that of Honghulian; that 6 kinds of lotus-seed starches all had an instantaneous nucleation; that the degree of retrogradation of seed starches stored for 2 weeks at 4 °C increased with storage time prolonged; and that the content of amylase had a negative correlation with the Avrami exponent ( $n$ ) and a positive correlation with the rate constant ( $k$ ),  $\Delta H$ , crystal melting enthalpy and ice melting enthalpy.

**Key words:** lotus-seed starches; retrogradation; gelatinization; DSC

中图分类号: TS201.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)07-0151-05

莲子在我国分布广泛, 主要分布在福建、浙江、湖南、湖北、江苏、河北等地<sup>[1]</sup>, 自古以来就是一种高级滋补食品, 在民间广为食用, 现已被列入我国卫生部公布的既是食品又是药品的品种名单。莲子属于高淀粉质食品, 莲子中的淀粉是影响莲子深加工产品品质的重要因素, 莲子罐头等由于淀粉返生老化而带来产品品质不稳定的问题, 严重限制了莲子产品的开发和生产。因此对莲子淀粉的老化动力学的研究对莲子食品的加工和开发具有一定理论指导意义。

目前, 用于描述聚合物结晶的 Avrami 方程被广泛

用于淀粉老化的动力学模型研究中, 并取得了较高的精度。Fearn 等<sup>[2]</sup>在研究面包的老化动力学时发现 Avrami 指数  $n$  的非整数现象。Noblile 等<sup>[3]</sup>和 Russell<sup>[4]</sup>认为 Avrami 指数  $n$  和速率常数  $k$  能较好地拟合小麦淀粉和面粉两种体系的老化特征。Koo 等<sup>[5]</sup>结合 Avrami 方程研究了经蒸煮烘干后的高丽参内部变白现象与淀粉性能之间的关系。Avrami 方程最近还被 Angioloni 等<sup>[6]</sup>用来研究淀粉凝胶、面团以及富含膳食纤维面包的质构性能与老化特性间的关系。

江苏省宝应县是我国的荷藕之乡, 莲种植面积达

收稿日期: 2010-07-03

基金项目: 江苏省高校自然科学基金项目(07KJD550115)

作者简介: 郑铁松(1963—), 男, 教授, 博士, 主要从事食品生化与生物技术研究。E-mail: tieszheng@sina.com

数万亩, 莲子品种以本地美人红、大紫红、雁来争、水选1号、野莲为主, 近年又引进了武植2号、鄂莲、洪湖莲、太湖莲、太空莲等, 是江苏省莲藕新品种引进和良种培育基地。本研究采用江苏省宝应县的6种莲子为研究对象, 利用差示扫描量热仪(DSC)结合Avrami方程研究在4℃储存两周莲子淀粉的老化特性, 探讨直链淀粉以及贮存时间对其热力学行为产生的影响, 以期对莲子的深加工以及莲子原料的选择提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

大紫红、太空莲、美人红、鄂莲、武植2号和洪湖莲6个不同品种的莲子由江苏省扬州市宝应县荷园提供; 氢氧化钠、碘化钾、碘、无水乙醇等均为国产分析纯。

### 1.2 仪器与设备

Diamond DSC 功率补偿型差示扫描量热仪 美国Perkin-Elmer公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 莲子淀粉的制备

莲子淀粉采用碱提法提取<sup>[7]</sup>。从大紫红、太空莲、美人红、鄂莲、武植2号和洪湖莲6个不同品种的莲子中提取的淀粉依次命名为lz1、lz2、lz3、lz4、lz5和lz6。

#### 1.3.2 莲子直链淀粉含量的测定

直链淀粉含量的测定参照王肇慈<sup>[8]</sup>的碘比色法。

#### 1.3.3 莲子淀粉的糊化和老化性能的测定

参照Koo等<sup>[5]</sup>的方法加以改进: 配制约30mg的淀粉乳(淀粉含量40%)于不锈钢坩埚中, 用密封圈密封, 平衡过夜。以空坩埚作对照, 用差示扫描仪进行测定, 扫描温度范围为25~130℃, 扫描速率为5℃/min。DSC吸热曲线上有相变起始温度( $T_0$ )、相变峰值温度( $T_p$ )和相变终止温度( $T_c$ )3个特征参数。

糊化后的样品存于4℃冰箱中, 分别在1、2、4、6、9、14d进行DSC扫描, 测定时于-30℃冷冻10min, 扫描温度范围为-30~120℃, 扫描速率为5℃/min。

#### 1.3.4 莲子淀粉老化速率的计算

$$\text{老化度}/\% = \frac{t\text{时淀粉的老化焓}}{\text{淀粉糊化所需的糊化焓}} \times 100 \quad (1)$$

高聚物在等温下结晶速率变化的动力学关系式可用Avrami方程<sup>[9-10]</sup>来描述:

$$1 - \theta = \frac{E_L - E_t}{E_L - E_0} = e^{(-kt^n)} \quad (2)$$

$$\lg(-\ln \frac{E_L - E_t}{E_L - E_0}) = \lg k + n \lg t_0 \quad (3)$$

式中:  $E_0$  为零时刻的老化度;  $E_t$  为反应进行到  $t$  时刻的老化度;  $E_L$  为最大老化度;  $\theta$  为  $t$  时刻的结晶度;  $t$  为结晶时间;  $k$  为结晶速率常数;  $n$  为表征成核及晶核生长方式的整数, 又称Avrami指数。Avrami指数与成核的机理和生长方式有关, 其数值等于生长的空间维数和成核过程的时间维数之和。淀粉老化时所形成的结晶, 其成核及生长方式是同时形成且线性一维生长的, 所以其Avrami指数值  $n = 1$ 。当Avrami指数值  $n = 1$  时, 得到最理想的速率常数  $k$  值( $1/k$  为时间常数),  $k$  值由  $\ln(E_L - E_t)$  对时间  $t$  作图所得直线的斜率来表示<sup>[5,10]</sup>。

#### 1.3.5 统计分析

利用17.0版SPSS对实验数据进行回归和相关性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 莲子淀粉的糊化性能

由表1可知, 6种莲子的糊化温度范围分别为: lz1: 70.41~81.79℃; lz2: 67.07~78.72℃; lz3: 68.28~79.71℃; lz4: 68.22~80.24℃; lz5: 69.88~82.47℃; lz6: 66.98~79.49℃。它们之间存在着一定的差别, 因为淀粉的糊化为吸热反应, 所吸收的热能主要用于淀粉晶体的溶解、颗粒的膨胀和直链淀粉分子从淀粉颗粒中的释放, 不同来源淀粉的膨胀速度和直链淀粉溶解速度、糊化能及其分配存在着差异。lz5的吸热

表1 6种莲子淀粉的DSC参数

Table 1 Differential scanning calorimetric characteristics of 6 kinds of lotus-seed starch pastes

参数	lz1	lz2	Lz3	lz4	lz5	lz6
$T_0/^\circ\text{C}$	70.41 ± 0.10	67.07 ± 0.38	68.28 ± 0.16	68.22 ± 0.27	69.88 ± 0.48	66.98 ± 0.04
$T_p/^\circ\text{C}$	74.93 ± 0.02	72.54 ± 0.17	73.08 ± 0.04	73.67 ± 0.09	75.04 ± 0.19	72.49 ± 0.24
$T_c/^\circ\text{C}$	81.79 ± 0.49	78.72 ± 0.29	79.71 ± 0.29	80.24 ± 0.33	82.47 ± 0.36	79.49 ± 0.30
$\Delta H/(\text{J/g})$	5.22 ± 0.06	4.50 ± 0.03	4.48 ± 0.38	3.67 ± 0.14	5.32 ± 0.00	4.26 ± 0.10
$\Delta T/^\circ\text{C}$	11.38 ± 0.59	11.65 ± 0.09	11.43 ± 0.45	12.02 ± 0.06	12.59 ± 0.12	12.51 ± 0.25
最大老化焓/(J/g)	3.43 ± 0.03	3.55 ± 0.07	3.52 ± 0.05	3.13 ± 0.01	3.50 ± 0.08	3.09 ± 0.00

注:  $T_0$ : 起始温度;  $T_p$ : 相变峰值温度;  $T_c$ : 相变终止温度;  $\Delta H$ : 吸热焓;  $\Delta T$ :  $T_c - T_0$ 。

焓最大, lz4 的吸热焓最小, 这说明 lz5 较其他 5 种莲子淀粉具有更加有序、致密的结构。6 种宝应莲子淀粉的平均糊化温度比钱芳等<sup>[11]</sup>测定湘莲淀粉的糊化温度低 5℃ 左右, 吸热焓低 7J/g 左右; 比曾绍校<sup>[12]</sup>测定的建莲淀粉糊化温度高 5℃ 左右, 吸热焓相近。图 1 为 6 种莲子淀粉糊化的典型 DSC 图谱, 可以直观看出 6 种莲子淀粉糊化特性上的差异。

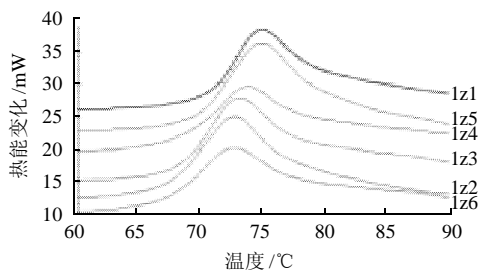


图 1 6 种莲子淀粉的 DSC 图谱

Fig.1 DSC thermogram of 6 kinds of lotus-seed starches

## 2.2 莲子淀粉的老化性能

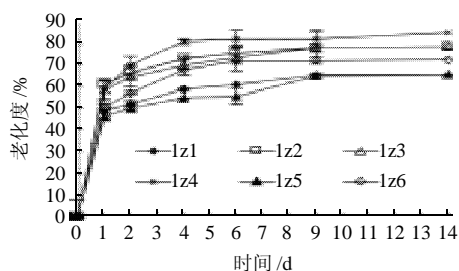


图 2 在 4℃ 贮存条件下贮存时间与老化度的关系

Fig.2 Relationship between storage time and retrogradation degree at 4 °C

图 2 为莲子淀粉样品在 4℃ 条件下贮存两周其老化度的变化趋势。莲子淀粉的老化度随着贮存时间的增加而增大。所有样品在贮存 1d 后老化度较葛根淀粉<sup>[13]</sup>(老化度为 5% 左右)和小麦淀粉<sup>[14]</sup>(老化度为 10% 左右)的老化度要高的多。在贮存的第 2 天到第 9 天之间, 所有样品的老化度增加缓慢, 之后几天趋于平稳, 增加不明显。Fredrisson 等<sup>[15]</sup>认为淀粉的老化可以分为两个阶段: 短期老化和长期老化。短期老化主要是由直链淀粉的胶凝有序和结晶所引起, 该过程可以在糊化后较短的时间(几小时或十几小时)内完成。而长期的老化(以天计)则主要是由支链淀粉外侧短链的重结晶所引起, 该过程是一个缓慢长期的过程。莲子淀粉中直链淀粉含量在 32.68%~48.51%(表 2), 因此, 贮存初始阶段淀粉样品老化度快速增大可能是由于莲子淀粉中直链淀粉含量较葛根淀粉和小麦淀粉高。贮存中期样品之间的差别可能是由直链淀粉与支链淀粉的比例以及支链淀粉分子结构的不同引起的。

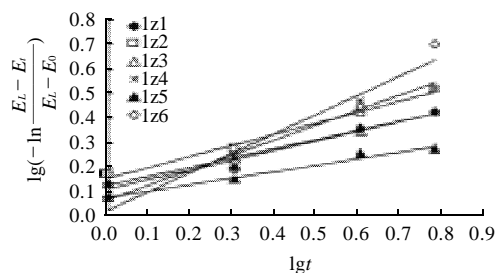


图 3 4℃ 贮存条件下  $\lg[-\ln(E_L - E_t)/(E_L - E_0)]$  与  $\lg t$  的对应关系

Fig.3 Plot of  $\lg[-\ln(E_L - E_t)/(E_L - E_0)]$  against  $\lg$  storage time at 4 °C of 6 kinds of lotus-seed starches

图 3 为  $\lg[-\ln \frac{E_L - E_t}{E_L - E_0}]$  对  $\lg t$  的贮存前 6d 淀粉老化度与贮存时间的关系图, 其中  $E_L$  是样品贮存 14d 后的最大老化度。由 Avrami 分析可以得出参数  $n$ 、 $k$  值(表 2)。

表 2 6 种莲子淀粉直链淀粉含量及 Avrami 参数

Table 2 Amylose contents and Avrami parameters of 6 kinds of lotus-seed starches

参数	lz1	lz2	Lz3	lz4	lz5	lz6
直链淀粉含量/%	36.21	48.51	47.73	34.57	48.17	32.68
$n$	0.3926	0.4462	0.3772	0.6115	0.2659	0.7872
$\lg k$	0.1154	0.1588	0.1265	0.0683	0.0782	0.0244
$k$	1.304	1.441	1.338	1.170	1.197	1.058
$R^2$	0.9735	0.9902	0.9962	0.9862	0.9825	0.9369

由表 2 可知,  $n$  值、 $k$  值与直链淀粉含量均存在一定的关联性, 随体系中直链淀粉含量增加各组的  $n$  值递减,  $k$  值呈递增趋势。这与 Fan 等<sup>[16]</sup>对米粉老化动力学的研究结果一致。随直链淀粉含量(25.6%~15.1%)的减小,  $n$  值逐渐增大(0.63~1.53),  $k$  值逐渐下降(0.917~0.181), 表明此时直链淀粉分子快速形成的有序区可能是支链淀粉分子后续结晶所需晶核的主体部分<sup>[16]</sup>。各组的  $n$  值大小有一定的差异, 表明不同品种的莲子淀粉在晶体成核及生长方式上亦有一定的差异。各组的  $n$  值均小于 1, 说明莲子淀粉成核方式以瞬间成核为主体, 即其结晶所需晶核主要集中在贮存初期形成, 在贮存后期晶核形成数量较小。这可能是在含水量一定的情况下, 莲子淀粉中直链淀粉分子微相区内密度较高的原因。一般情况下,  $n \leq 1$  时, 对应在一维、二维及三维结晶生长方式中, 成核方式为瞬间成核;  $1 < n \leq 2$  时, 说明成核方式以自发成核为主<sup>[17]</sup>。姚远等<sup>[18]</sup>研究米粉体系中水分含量对米粉贮存过程中的结晶行为得出, 体系含水量的增加相对会稀释直链淀粉分子的浓度, 减缓直链淀粉分子快速凝聚的趋势, 使体系内的晶核数量更多地源于贮存过程期间内的不断形成, 而在初始阶段晶核密度较低, 从而使  $1 < n \leq 2$  表现出成核方式向自发成核方面转化。在 Avrami 模型参数中, 结晶速率常数  $k$  同

晶核密度及晶体一维生长速率有关。 $k$  值间有着较大的差别,  $1z2$  的  $k$  值最大,  $1z6$  的  $k$  值最小,  $1z2$  的老化速率是  $1z6$  的 1.36 倍, 说明  $k$  值能较好地放大结晶速率。除了  $1z5$ , 其他的样品的  $k$  值与直链淀粉含量存在着一定的关系, 随着直链淀粉含量的增加而递增。 $1z5$  的  $k$  值偏小的原因可能是  $1z5$  中的脂质与部分直链淀粉分子形成复合物<sup>[19]</sup>, 使得直链的交联聚合受到阻碍, 从而降低了淀粉的老化速率; 也有可能是  $1z5$  的支链淀粉的分支结构与其他几种样品存在着很大的差别。 $R^2$  值越接近于 1, 表明系统老化行为的适用性越好。 $R^2$  均很接近于 1, 表明 Avrami 方程均适用于描述 6 种莲子淀粉的老化行为。

### 2.3 莲子淀粉的冰融溶焓

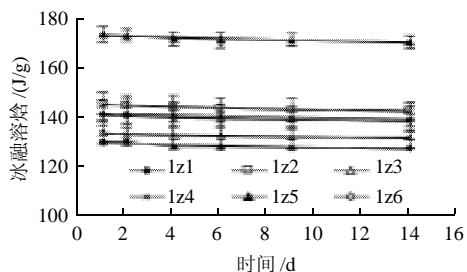


图 4 4℃贮存条件下 6 种莲子淀粉冰融溶焓的变化

Fig.4 Changes in ice melting enthalpy of 6 kinds of lotus-seed starches during storage at 4 °C

图 4 显示了 4℃贮存条件下 6 种莲子淀粉冰融溶焓的变化。冰融溶焓反映了淀粉凝胶内部的自由水含量。在莲子淀粉贮存期间,  $1z5$  含有的自由水最高, 其次是  $1z2$ 、 $1z4$ 、 $1z6$ 、 $1z3$ ,  $1z1$  最低。6 种莲子淀粉的冰融溶焓在贮存期间的变化趋势相同, 均随着贮存时间的延长而逐渐减小, 并最终趋于平缓。这是因为在贮存后期, 主要是支链淀粉参与了老化。和有机大分子不同, 支链淀粉的重结晶对水的依赖性较强。X 射线衍射证明支链淀粉的重结晶为 B 型晶体, 和 A 型晶体相比, B 型晶体有更高的水分度, 它的重结晶要求结合水分子进入结晶层<sup>[20]</sup>。

### 2.4 相关性分析

表 3 直链淀粉含量与 Avrami 参数间的 Pearson 双变量相关分析

Table 3 Pearson correlations between amylose content and Avrami parameters

参数	$n$	$k$	$\Delta H$	老化焓	冰融溶焓	直链淀粉含量
$n$	1					
$k$	-0.839*	1				
$\Delta H$	-0.927**	-0.531	1			
老化焓	-0.531	0.793	0.651	1		
冰融溶焓	-0.364	-0.104	0.452	0.229	1	
直链淀粉含量	-0.861*	0.691	0.407	0.885*	0.431	1

注: \*. 在 0.05 水平(双侧)上显著相关。\*\*. 在 0.01 水平(双侧)上极显著相关。

表 3 为 6 种莲子淀粉的直链淀粉含量与 Avrami 参数间的 Pearson 双变量相关分析结果,  $n$  与  $k$  呈显著相关, 相关系数为 -0.839, 说明老化速率受到晶体成核方式的影响显著。 $n$  值与直链淀粉含量呈显著负相关, 相关系数为 -0.861, 而与  $k$  值呈正相关, 相关系数为 0.691, 这与姚远等<sup>[18]</sup>、丁文平等<sup>[21]</sup>对大米淀粉及米粉的研究结论和朱帆等<sup>[14]</sup>对小麦淀粉及面粉老化特性的研究结果一致。直链淀粉含量与  $\Delta H$  成正相关, 与老化焓呈显著正相关, 相关系数分别为 0.407、0.885, 这与 Fan 等<sup>[16]</sup>对米粉老化动力学的研究结果一致, 随直链淀粉含量(25.6%~15.1%)的减小  $\Delta H$  值(12.0~8.1J/g)和老化焓(6.7~1.8J/g)逐渐增大, 说明莲子淀粉中直链淀粉含量越高, 体系中结晶部分越多, 不定形区越少。但这一结论与 Sasaki<sup>[22]</sup>的研究结论刚好相反。关于这个问题还有待进一步研究。直链淀粉含量与冰融溶焓呈正相关, 相关系数为 0.431, 表明在相同水分含量的情况下, 体系中直链淀粉含量越高, 体系老化时淀粉链中形成氢键的强结合析出的水分含量也就越高。

### 3 结 论

Avrami 方程, 目前已经被广泛用于描绘淀粉老化动力学研究, 本实验通过 Avrami 老化动力学模型的建立与参数确定, 揭示莲子直链淀粉分子含量以及贮存时间与莲子淀粉老化特性之间的关系。本研究根据 Avrami 方程得出不同品种的莲子淀粉的糊化温度、 $\Delta H$ 、老化焓、老化度以及老化速率存在着一定的差异。4℃条件下贮存两周的莲子淀粉的老化度随着贮存时间的增加而增大。直链淀粉含量与  $n$  值呈负相关; 与  $k$  值、 $\Delta H$ 、老化焓以及冰融溶焓呈正相关。

### 参考文献:

- [1] 王振莲, 赵琦, 李承森, 等. 古莲的研究现状[J]. 北京师范大学学报, 2005, 26(2): 55-58.
- [2] FEARN T, RUSSELL P L. A kinetic study of bread staling by differential scanning calorimetry[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1982, 33(6): 537-548.
- [3] NOBILE M A D, MRTORIELLO T, MOCI G, et al. Modeling the starch retrogradation kinetic of durum wheat bread[J]. Journal of Food Engineering, 2003, 59(2/3): 123-128.
- [4] RUSSELL P L. The aging of gels from starches of different amylase/amylopectin content studied by differential scanning calorimetry[J]. Journal of Cereal Science, 1987, 6(2): 147-158.
- [5] KOO H J, PARK S H, JO J S, et al. Gelatinization and retrogradation of 6-year-old Korean ginseng starches studied by DSC[J]. Food Science and Technology, 2005, 38(1): 59-65.
- [6] ANGIOLONI A, COLLAR C. Gel, dough and fibre enriched fresh breads: Relationships between quality features and staling kinetics[J]. Journal of Food Engineering, 2008, 91(4): 526-532.
- [7] 陶锦鸿, 郑铁松, 胡月珍. 莲子淀粉凝胶力学性能影响因素的研究[J]. 食品科学, 2009, 30(21): 109-112.

- [8] 王肇慈. 粮油食品品质分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2006: 326-327.
- [9] BAIK M Y, KIM K J, CHEON K C, et al. Recrystallization kinetics and glass transition of rice starch gel system[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1997, 45(11): 4242-4248.
- [10] RIVA M, FESSAS D, SCHIRALDI A. Starch retrogradation in cooked pasta and rice[J]. *Cereal Chemistry*, 2000, 77(4): 433-438.
- [11] 钱芳, 黄立新, 杨晓泉. 莲子淀粉性质的研究[J]. *食品工业科技*, 2007, 28(3): 57-60.
- [12] 曾绍校. 莲子淀粉品质特性的研究与应用[D]. 福州: 福建农林大学, 2007.
- [13] 杜先锋, 宛晓春, 许时婴, 等. 葛根淀粉老化动力学研究[J]. *中国农业科学*, 2002, 35(9): 1145-1149.
- [14] 朱帆, 徐广文, 丁文平. DSC 法研究小麦淀粉与面粉糊化和老化特性[J]. *食品科学*, 2007, 28(4): 279-282.
- [15] FREDRISSON H, SLIVERIO J, ANDERSSON R, et al. The influence of amylose and amylopectin characteristics on gelatinization and retrogradation properties of different starches[J]. *Carbohydrate Polymers*, 1998, 35(3/4): 119-134.
- [16] FAN J, MARKE B P. Retrogradation kinetics of rice flours as influenced by cultivar[J]. *Cereal Chemistry*, 1998, 75(1): 153-155.
- [17] 刘凤岐, 汤心颐. 高分子物理[M]. 北京: 高等教育出版社, 1995: 35-98.
- [18] 姚远, 丁霄霖. 米饭回生研究(II)米饭回生动力学[J]. *中国粮油学报*, 1999, 14(6): 19-22.
- [19] 魏西根, 许琳, 刘建伟. 大米淀粉回生的研究进展[J]. *农产品加工: 学刊*, 2007(10): 32-34.
- [20] 丁文平, 王月慧, 夏文水. 淀粉的回生机理及其测定方法[J]. *粮食与饲料工业*, 2004(12): 28-30.
- [21] 丁文平, 王月慧. 米粉体系和米淀粉体系回生特性的比较研究[J]. *郑州工程学院学报*, 2004, 25(3): 16-19.
- [22] SASAKI T. Effect of wheat starch characteristics on gelatinization, retrogradation and gelatin properties[J]. *Japan Agricultural Research Quarterly*, 2005, 39(4): 253-260.