

黔江肾豆营养品质研究

梁叶星¹, 彭佳莹¹, 邹泊羽¹, 钟耕^{1,2,*}

(1.西南大学食品科学学院, 重庆 400716; 2.重庆市特色食品工程技术研究中心, 重庆 400716)

摘要:以黔江肾豆为对象进行理化分析研究并运用 Englyst 法对其碳水化合物消化速度做进一步测定。结果表明:肾豆籽粒中蛋白质含量达 $(23.08 \pm 0.97)\%$ 、淀粉含量为 $(43.44 \pm 0.69)\%$ 、脂肪含量为 $(2.72 \pm 0.09)\%$ 、粗纤维含量为 $(3.90 \pm 0.04)\%$ 、灰分含量为 $(3.19 \pm 0.06)\%$ 、还原糖及非还原糖含量分别为 $(1.38 \pm 0.03)\%$ 、 $(0.29 \pm 0.05)\%$, 钾镁含量高、而钠含量低, 其中蛋白质评价必需氨基酸指数(EAAI)为 0.87, 氨基酸比值系数(RC)为 0.91, 是一种低脂高蛋白高矿物元素含量的优质食物资源。肾豆富含慢速消化淀粉, 含量达 $(41.46 \pm 0.64)\%$ (以干基淀粉计), 加热糊化对其含量有降低作用。

关键词:黔江肾豆; 营养品质; 慢速消化淀粉

Nutritional Quality of Qianjiang Grown Kidney Beans

LIANG Ye-xing¹, PENG Jia-ying¹, ZOU Bo-yu¹, ZHONG Geng^{1,2,*}

(1.College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400716, China;

2. Chongqing Special Food Programme and Technology Research Center, Chongqing 400716, China)

Abstract: Kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is a featured crop grown in Qianjiang district, southeast Chongqing, China. The plant is commercially exploited due to its pleasant sensory characteristics and plentiful nutrients. In the present study, the chemical composition of Qianjiang grown kidney beans were determined. Moreover, the digestion rate of carbohydrates from Qianjiang grown kidney beans was also explored by Englyst method. The results indicated that Qianjiang grown kidney beans contained protein $(23.08 \pm 0.97)\%$, starch $(43.44 \pm 0.69)\%$, crude fat $(2.72 \pm 0.09)\%$, crude fiber $(3.90 \pm 0.04)\%$, ash $(3.19 \pm 0.06)\%$, reducing sugar $(1.38 \pm 0.03)\%$ and non-reducing sugar $(0.29 \pm 0.05)\%$. Meanwhile, high content of potassium and magnesium as well as low content of sodium were observed. The essential amino acid index (EAAI) was 0.87 and the ratio coefficient of amino acids (RC) was 0.91. These results suggest that kidney bean is a high-quality food source, and rich in slowly digestible starch (SDS) $((41.46 \pm 0.64)\%$, relative to dry basic starch). Heat gelatinization can result in a reduction in the SDS content.

Key words: Qianjiang grown kidney bean; nutritional quality; slowly digestible starch (SDS)

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)13-0271-05

芸豆, 学名菜豆(kidney bean), 为豆科(Leguminosae), 蝶形花亚科(Papilionoideae), 菜豆族(Phaseoleae), 菜豆属(*Phaseolus*)植物, 主要栽培种包括多花菜豆(*Phaseolus multiflorus* Willd)和普通菜豆(*Phaseolus vulgaris* L.)^[1]。大白豆、长形白芸豆、扁形白芸豆、大红花芸豆等均属多花菜芸豆。小白芸豆、红芸豆、长形奶白花芸豆、圆形奶白花芸豆、小红花芸豆、黑芸豆、褐芸豆、黄芸豆及本研究材料黔江肾豆等属普通菜豆。芸豆分布范围广泛、营养丰富, 是廉价且优质的蛋白质来源, 在亚洲、非洲、拉美的一些发展中

国家和地区, 为解决营养缺乏和人类繁衍生存问题起到重要的作用; 在发达国家, 起到优化人类膳食结构、增进健康作用。其品种间营养成分差异较大, 相对值相差 28% 至 188%, 平均营养素含量约为^[2]: 蛋白质 22.7%、淀粉 42.2%(直链淀粉 21.8%)、脂肪 1.7%、灰分 3.3%, 富含人体必需的 8 种氨基酸, 第一限制氨基酸为蛋氨酸, 矿物质含量中钾镁含量高而钠含量低。

肾豆(*Phaseolus vulgaris* L. cv. shendou), 又名花豆, 因其形状如人体肾脏、全身布满红色经络花纹而得名。旧时为朝廷贡品, 又叫圣豆、皇帝豆; 也有

收稿日期: 2011-06-22

作者简介: 梁叶星(1989—), 男, 硕士研究生, 主要从事现代食品加工理论与技术研究。E-mail: 825751935@qq.com

* 通信作者: 钟耕(1964—), 男, 教授, 博士后, 主要从事粮食工程及现代食品加工理论与技术研究。E-mail: zhongdg@qq.com

的形如装钱用的荷包,也称招财豆、荷包豆、富贵豆;长期食用具有滋阴壮阳、强身健体、倍增力量等功效,也被称之为壮腰豆、壮阳豆;其性平和,味甘美,具有祛湿、补血、健胃、强肾、养颜抗衰老等功效。

黔江肾豆产于重庆黔江海拔1400m以上的山区,系黔江地区栽培的普通菜豆种亚种,是黔江地方传统特色农产品,外形美观,营养美味,待开发价值大,但相应开发研究基本缺乏。肾豆具有普通菜豆主根发达、根瘤有固氮能力,喜温耐寒、对光照要求不严格等生物学特性,于是对于云贵川渝等地大面积冷凉山区其他作物低产甚至无产的贫瘠山坡地极具栽培种植优势。随着社会大众营养健康意识的提高,食品的营养属性得到了愈加广泛的重视,大众消费者对黔江肾豆的营养价值认同度较高,为提供清晰、明确、科学的数据支持,对肾豆各组成成分进行分析测定是必要的。并且,通过较为系统的分析测定,可发掘其潜在的营养及经济价值,进一步探索其价值,为肾豆及其产品的开发提供科学依据。

本实验主要对黔江肾豆各营养成分含量进行分析测定,包括:蛋白质、淀粉、脂肪、氨基酸、矿物质、水分、灰分、还原糖、非还原糖、粗纤维以及各种矿物质含量等。此外,还对肾豆碳水化合物消化速度和肾豆蛋白质的氨基酸组成进行分析,对肾豆蛋白进行营养价值评价。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

黔江肾豆,产地为重庆黔江(E108°28'04"~108°56'56",N29°04'29"~29°52'10"),由重庆黔江区农村工作委员会提供。

α -淀粉酶、糖化酶(生化试剂) 上海如吉生物科技有限公司;其他化学试剂除注明外,均为分析纯。

1.2 仪器与设备

BM251型粉碎机 美的集团公司;DHG-9070A型鼓风干燥箱 上海齐欣科学仪器有限公司;FA2004A型电子分析天平 上海恒平科学仪器有限公司;4-10型马弗炉 北京市永光明仪器厂;RE-52型旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂;SHZ-D(III)型循环水真空泵 郑州市荣阳华盛仪器厂;KjelFlex K-360型全自动凯氏定氮仪 瑞士Buchi公司;L-8800型氨基酸自动分析仪、Z-5000型原子吸收分光光度计 日本日立公司;HH-4型数显恒温水浴锅 金坛市富华仪器有限公司;PHS-3C型pH计 上海盛磁仪器有限公司;JH722型可见光光度计 上海菁华科技仪器有限公司;100~1000 μ L移液枪 Eppendorf公司;ZDJ-4A型自动电位滴定仪 上海雷磁仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 原材料的准备

原料肾豆用手工清选,去除杂质及不完善粒,用粉碎机粉碎,控制粉碎时间,避免粉碎温度过热影响实验材料品质,过40目筛,筛上部分重新粉碎,重复粉碎和筛分直至全部肾豆原材料通过40目筛,混合均匀,密封,4℃保存备用。

1.3.2 各成分含量测定

水分测定:采用105℃恒质量法,参照GB/T5497—1985《粮食、油料检验 水分测定法》;灰分测定:采用550℃高温灰化法,参照GB/T5505—2008《粮油检验 灰分测定法》;还原糖及非还原糖测定:采用铁氰化钾法,参照GB/T5513—1985《粮食、油料检验 还原糖和非还原糖测定法》;淀粉测定:酶水解、酸水解成还原性单糖后参照GB/T5513—1985测定还原糖含量,折算成淀粉含量,参照GB/T5514—2008《粮油检验 粮食、油料中淀粉含量测定》;蛋白质测定:凯氏测定法,采用自动凯氏定氮仪测定,计算系数参照GB/T5511—2008《谷物和豆类 氮含量测定和粗蛋白质含量计算 凯氏法》;氨基酸测定:自动氨基酸分析仪分析测定,GB/T5009.124—2003《食品中氨基酸的测定》;粗脂肪测定:索氏抽提法,参照GB/T5512—2008《粮油检验 粮食中粗脂肪含量测定》;粗纤维测定:酸碱及溶剂分别处理后高温灼烧,参照GB/T5515—1985《粮食、油料检验 粗纤维素测定法》;矿物质测定:采用原子吸收分光光度法,参照GB/T14609—2008《粮油检验 谷物及其制品中、铜、铁、锰、钙、镁的测定 火焰原子吸收光谱法》。

1.3.3 肾豆碳水化合物评价

1.3.3.1 葡萄糖含量测定

采用DNS比色法^[3]。

1.3.3.2 碳水化合物体外消化性测定方法^[4-6]

参照Englyst法稍改良应用,测定样品中快速消化淀粉(RDS)、慢速消化淀粉(SDS)和抗消化淀粉(RS)的含量。准确称取500mg样品放入具塞试管中,加入15mL pH 5.2的磷酸盐缓冲溶液,混匀,采用沸水浴糊化,冷却至37℃,振摇平衡10min,加入10mL混合酶液(α -淀粉酶290U/mL和葡萄糖淀粉酶250U/mL),测定游离葡萄糖含量,并分别在水解一定时间(20、120min)后测定水解产生的葡萄糖量。计算公式如下:

$$\text{RDS含量}/\%=(m_{20\text{min}}-m_{\text{FG}})\times 0.9\times 100/m_{\text{TS}} \quad (1)$$

$$\text{SDS含量}/\%=(m_{120\text{min}}-m_{20\text{min}})\times 0.9\times 100/m_{\text{TS}} \quad (2)$$

$$\text{RS含量}/\%=(m_{\text{TG}}-m_{\text{FG}})\times 0.9\times 100/m_{\text{TS}}-(C_{\text{RDS}}+C_{\text{SDS}}) \quad (3)$$

式中: $m_{120\text{min}}$ 为酶解20min后释放的葡萄糖质量/mg;
 $m_{120\text{min}}$ 为酶解120min后释放的葡萄糖质量/mg; m_{FG} 为游

离葡萄糖质量/mg; m_{TG} 为总葡萄糖质量/mg; m_{TS} 为总淀粉干基质量/mg; C_{RDS} 为 RDS 含量/%; C_{SDS} 为 SDS 含量/%。

1.3.4 氨基酸营养价值评价

通过氨基酸评分(AAS)、化学评分(CS)、必需氨基酸比率(A/E)、氨基酸比值系数(RC)、必需氨基酸指数(EAAI)对氨基酸营养价值进行评价^[7-9]。

1.3.5 数据处理

采用 Excel 和 SPSS15.0 for windows 软件进行数据处理和统计分析。

2 结果与分析

2.1 肾豆籽粒基本成分

表1 肾豆籽粒基本成分含量

Table 1 Major components of Qianjiang grown kidney bean

指标	含量/%	指标	含量/%
水分	12.21 ± 0.05	蛋白质	23.08 ± 0.97
灰分	3.19 ± 0.06	淀粉	43.44 ± 0.69
粗脂肪	2.72 ± 0.09	还原糖	1.38 ± 0.03
粗纤维	3.90 ± 0.04	非还原糖	0.29 ± 0.05

由表1可知, 受试肾豆籽粒水分含量较低, 适于长期贮藏; 由于蛋白质含量较高、脂肪成分含量低, 根据我国居民饮食特点, 肾豆籽粒具有优质的膳食能量来源构成比例, 可起到平衡整体膳食构成作用, 是优质的低脂肪高蛋白质食物原材料。蛋白质和淀粉为最主要成分, 二者质量总和达总质量的65%以上。粗纤维是不能被稀酸、稀碱所溶解, 不容易被家畜消化的部分, 其主要成分是纤维素、半纤维素、木质素及少量含氮物质, 对感官品质影响较大, 肾豆籽粒粗纤维含量在豆类平均水平(4.0 ± 0.7)%内, 口感较为细腻^[10]。肾豆籽粒矿物质含量如表2所示, 其中含有主要矿物元素有: 钙、铜、铁、钾、镁、锰及锌等。

表2 肾豆籽粒矿物质元素含量

Table 2 Mineral element contents in Qianjiang grown kidney bean

元素	含量/(mg/100g)	元素	含量/(mg/100g)
Mg	115.46 ± 0.56	Zn	2.76 ± 0.00
Mn	5.86 ± 0.57	Fe	5.97 ± 0.14
Cu	0.78 ± 0.03	Ca	55.55 ± 1.69
K	1010.16 ± 1.01	Na	4.20 ± 0.11

2.2 肾豆碳水化合物消化速率分析

2.2.1 碳水化合物构成分析

碳水化合物是三大产能营养素之一, 提供总能量

60%~70%^[11]。本实验肾豆籽粒碳水化合物主要构成为淀粉、粗纤维、还原糖及非还原糖, 由表1可知, 碳水化合物占总成分的49.01%。其中淀粉含量占总碳水化合物88.60%, 为最主要成分, 对总碳水化合物消化速度起决定性作用; 粗纤维含量占总碳水化合物8.98%, 对碳水化合物消化速度起一定调控作用, 可一定程度降低碳水化合物消化速率, 并且非淀粉组分膳食纤维相较于可消化吸收的淀粉, 产生更高的饱腹感, 利于控制摄食量^[12]。

2.2.2 淀粉消化速率测定

淀粉消化速率通过一定时间的酶解产生的葡萄糖量表示, SPSS 线性回归对实验数据分析建立 DNS 测定葡萄糖含量的标准曲线为: $y = 0.741A - 0.010$, 其中 y 为所测样液中葡萄糖含量/mg, A 为 DNS 反应体系在 540nm 波长处吸光度。方程建立拟合度 $R^2 \geq 0.999$, 方差分析 $P < 0.01$, 极显著。

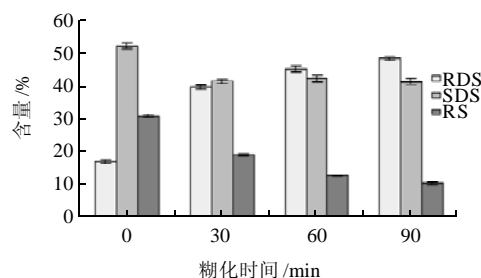


图1 不同糊化时间下肾豆淀粉 RDS、SDS、RS 含量变化

Fig.1 Effect of gelatinization time on RDS, SDS and RS contents in Qianjiang grown kidney bean starch

膳食中 SDS 及 RS 能预防糖尿病、心血管等疾病的发生, 改善 II 型糖尿病人症状^[13]。考虑到烹调加工中采用不同蒸煮时间会对 SDS 及 RS 的含量产生影响, 故采用 Englyst 测定方法, 分别测定了肾豆在糊化 0、30、60、90min 时 RDS、SDS、RS 的含量, 由图1可知, 受试材料在沸水浴 30min 处理条件下测得的肾豆淀粉中 RDS、SDS、RS 含量分别为(39.64 ± 0.62)%、(41.46 ± 0.64)% 和 (18.90 ± 0.26)%。而在处理了 60min 和 90min 时肾豆淀粉中 SDS 和 RS 含量都出现了一定的下降, 但在处理了 90min 时肾豆淀粉 SDS 及 RS 成分仍占半数以上 ($(51.63 \pm 0.60)\%$, 以干基淀粉计), 表明虽然加热时间增加会导致肾豆淀粉中 SDS 及 RS 含量下降, 但下降趋势较小。故其可在混合膳食中起到降低膳食整体碳水化合物消化速度作用, 有降低食品血糖指数的作用。淀粉的消化速度受蛋白质、脂肪含量及结合构成方式、淀粉结构、膳食纤维含量等综合影响, 糊化加热过程使豆类中阻碍消化的抗营养因子失活、破坏原淀粉结构使

更多酶接触点暴露,蛋白质变性及结构改变等,随加热时间增长,热和水分对肾豆淀粉结构破坏的程度加深,从而影响淀粉消化速度。

由于豆类具有较高的直链淀粉含量、大量的抗性淀粉以及独特的淀粉与蛋白质紧密结合的结构,在消化过程中淀粉较难释放出来,水解率较低。并且在混合膳食中可起到降低膳食整体碳水化合物消化速度作用^[14]。因此可将肾豆粉末作为食品添加成分以提高 SDS 淀粉比例、降低食品血糖指数、增加食品健康属性。

2.3 氨基酸组成分析

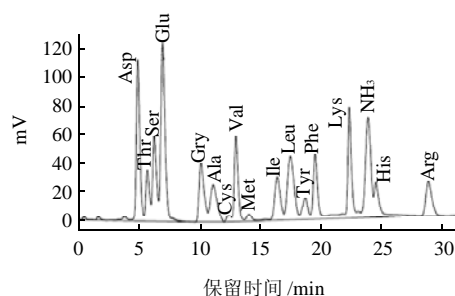
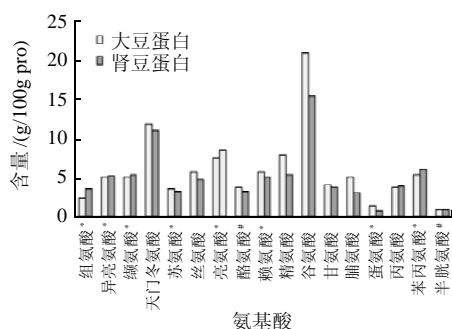


图2 氨基酸组成分析图谱

Fig.2 Amino acid pattern of Qianjiang grown kidney bean

由图2可知,所检测17种氨基酸中,含量最高为谷氨酸(Glu),其次为天门冬氨酸(Asp),可用于辅助治疗神经精神疾病,如精神分裂症和脑血管障碍等引起的记忆和语言障碍、小儿智力不全等,作用机理为谷氨酸在人体内可促进氨基丁酸的合成,从而降低血氨,促进脑细胞呼吸^[15-16]。天门冬氨酸是一种良好的营养增补剂,具有抗疲劳的作用,可以用于辅助治疗心脏病、肝脏病、高血压症^[17]。



*.必需氨基酸;#.条件必需氨基酸。

图3 肾豆与大豆蛋白质氨基酸组成分析比较图

Fig.3 Comparison of amino acid compositions between Qianjiang grown kidney bean and soybean

由图3可知,肾豆蛋白和大豆蛋白氨基酸组成比例相似,谷氨酸在肾豆蛋白的氨基酸组成中占15.345g/100g pro,其中组氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、丙氨酸、

苯丙氨酸等必需氨基酸含量更是略高于大豆蛋白。并且,肾豆蛋白中必需氨基酸与总氨基酸或非必需氨基酸比例均符合FAO/WHO提出的优质蛋白参考模式标准。

2.4 肾豆蛋白营养价值评价

表3 蛋白营养价值分析评价表

Table 3 Protein nutritional value analysis

氨基酸	FAO/WHO模式	全鸡蛋	肾豆蛋白	AAS	CS	A/E	RC
蛋氨酸+							
胱氨酸	35.0	55.0	11.2	0.32	0.20	3.01	0.32
赖氨酸	55.0	64.0	49.1	0.89	0.77	13.19	0.88
异亮氨酸	40.0	66.0	52.1	1.3	0.79	13.99	1.29
亮氨酸	70.0	88.0	84.6	1.21	0.96	22.72	1.19
苯丙氨酸+							
酪氨酸	60.0	100.0	90.7	1.51	0.91	24.36	1.49
苏氨酸	40.0	51.0	31.7	0.79	0.62	8.51	0.78
缬氨酸	50.0	73.0	52.9	1.06	0.72	14.21	1.05

由表3可知,蛋氨酸+胱氨酸为肾豆的第一限制氨基酸,经计算可得肾豆必需氨基酸指数(EAAI)为0.87,就氨基酸各项评价看,蛋氨酸+胱氨酸和苏氨酸分值较低,其他氨基酸基本接近甚至超过FAO/WHO模式,分析结果贴近牛乳蛋白和大豆蛋白等优质动植物蛋白资源^[17-18],表明肾豆蛋白可以作为一种良好的植物蛋白源。

3 结论

3.1 肾豆中含有丰富的蛋白质、脂肪、维生素、碳水化合物和膳食纤维,其中蛋白质含量(23.08 ± 0.97)%、淀粉含量(43.44 ± 0.69)%、粗脂肪含量(2.72 ± 0.09)%、粗纤维含量(3.90 ± 0.04)%、灰分含量为(3.19 ± 0.06)%、还原糖及非还原糖含量分别为(1.38 ± 0.03)%、(0.29 ± 0.05)%,是一种低脂、高蛋白、高矿物含量的优质食物资源。

3.2 通过对肾豆矿物质含量分析可知,肾豆中主要有利矿物元素含量丰富,钾镁含量高,而钠含量低。

3.3 通过对肾豆碳水化合物消化速度的测定,肾豆是天然高SDS含量食物原料,以干基淀粉计含量达(41.46 ± 0.64)%,由于SDS对糖尿病、心血管疾病及肥胖症等营养代谢疾病的防治作用,故肾豆极具开发利用价值。

3.4 加热糊化会减少肾豆慢消化淀粉比例,加快淀粉消化速度,但90min的加热糊化后,肾豆淀粉SDS及RS成分仍占半数以上((51.63 ± 0.60)%,以干基淀粉计),故可在混合膳食中起到降低膳食整体碳水化合物消化速度作用,有降低食品血糖指数的作用。

3.5 通过对肾豆蛋白质氨基酸组成的分析,在肾豆蛋白各氨基酸组成中谷氨酸及天门冬氨酸含量为最高;

必需氨基酸组成贴近 FAO/WHO 标准模式即各分值得趋向于 1, 必需氨基酸指数、氨基酸比值系数分别为 0.87、0.91; 蛋氨酸 + 胱氨酸为肾豆的第一限制氨基酸。由此得出肾豆蛋白质是优质植物蛋白质。

参考文献:

- [1] 柴岩, 冯佰利. 中国小杂粮产业发展现状及对策[J]. 干旱地区农业研究, 2003, 21(3): 145-151.
- [2] 卿晓红, 熊绿芸. 芸豆不同品种的营养成分分析[J]. 贵州农学院学报, 1996, 15(2): 59-61.
- [3] 赵凯, 许鹏举, 谷广烨. 3,5-二硝基水杨酸比色法测定还原糖含量的研究[J]. 食品科学, 2008, 29(8): 534-536.
- [4] ENGLYST H N, KINGMAN S M, CUMMINGS J H. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions[J]. European Journal of Clinical Nutrition, 1992, 46(2): 33-55.
- [5] ENGLYST H N, HUDSON G J. The classification and measurement of dietary carbohydrates[J]. Food Chemistry, 1996, 57(1): 15-21.
- [6] 张二娟, 何小维. 湿热处理对慢消化淀粉形成和性质的影响[J]. 广东农业科学, 2009(8): 156-159.
- [7] ARAI S. A purified test diet for coho salmon(*Oncorhynchus kisutch*) fry [J]. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 1981, 47: 547-550.
- [8] MURAI T, AKIYAMA T, NOSE T. Effect of amino acid balance on efficiency in utilization of diet by fingerling carp[J]. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 1984, 50(5): 893-897.
- [9] JOOD S, KAPOOR A C, SINGH R. Amino acid composition and chemical evaluation of protein quality of cereals as affected by insect infestation[J]. Plant Foods for Human Nutrition, 1995, 48: 159-167.
- [10] MARLETT J A. The content and composition of dietary fiber in 117 frequently consumed foods[J]. Journal of the American Dietetic Association, 1992, 92: 175-186.
- [11] 杨月欣, 崔红梅, 王岩, 等. 常见谷类和薯类的血糖生成指数[J]. 营养学报, 2003, 25(2): 185-189.
- [12] IKEDA K, KUSANO T. *in vitro* inhibition of digestive enzymes by indigestible polysaccharides[J]. Cereal Chemistry, 1983, 60: 260-263.
- [13] 王竹, 杨月欣, 王国栋, 等. 淀粉的消化特性与血糖生成指数[J]. 卫生研究, 2003, 2(6): 622-624.
- [14] 王彤, 何志谦. 眉豆、绿豆及赤小豆对餐后血糖影响的研究[J]. 食品科学, 2001, 22(5): 74-76.
- [15] 周佩, 熊华, 陈升军, 等. 高蛋白含量米蛋白肽制备及产品营养成分分析[J]. 食品与生物技术学报, 2009, 28(1): 28-32.
- [16] HA S T, WILKINS C L, ABIDI S L. Analysis of antimycin A by reversed-phase liquid chromatography/nuclear magnetic resonance spectrometry[J]. Anal Chem, 1989, 61(5): 404-408.
- [17] 陆东林. 牛奶中的氨基酸含量及其营养价值[J]. 中国乳业, 1999, 24(6): 24-26.
- [18] 黄友如, 华欲飞, 郁达, 等. 脂肪氧合酶催化亚油酸氧化对大豆蛋白氨基酸组成的影响[J]. 食品科技, 2008(4): 20-24.