

DOI: 10.19398/j.att.201708009

引用格式:林型跑,陈海相,孙岩峰,谢甲增,蒋丹丹.高效液相色谱法测定纺织品中丙烯酰胺、甲基丙烯酰胺和 N-羟甲基丙烯酰胺[J].现代纺织技术,2019,27(1):80-86.

高效液相色谱法测定纺织品中丙烯酰胺、 甲基丙烯酰胺和 N-羟甲基丙烯酰胺

林型跑¹,陈海相¹,孙岩峰²,谢甲增¹,蒋丹丹¹

(1. 浙江理工大学先进纺织材料与制备技术教育部重点实验室,
杭州 310018;2. 浙江吉华集团股份有限公司,杭州 311228)

摘要:建立了高效液相色谱(HPLC)测定纺织品中丙烯酰胺、甲基丙烯酰胺和 N-羟甲基丙烯酰胺含量的方法。色谱条件:流动相为乙腈-水(1:99,V/V),检测波长为 202 nm,流速为 0.5 mL/min。用水提取纺织样品中的丙烯酰胺、甲基丙烯酰胺和 N-羟甲基丙烯酰胺,提取液经 C₁₈ 柱分离,外标法定量。结果表明:丙烯酰胺、甲基丙烯酰胺和 N-羟甲基丙烯酰胺在 0.05~1.00 μg/mL 范围内均线性良好,相关系数均大于 0.999,方法检出限分别为 0.8、0.5、1.5 mg/kg,加标回收率在 85.81%~107.37%之间,相对标准偏差在 0.13%~4.34%之间。

关键词:高效液相色谱;测定;纺织品;丙烯酰胺;甲基丙烯酰胺;N-羟甲基丙烯酰胺

中图分类号:TS101.9;O657.7 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-265X(2019)01-0080-07

Determination of Acrylamide, Methacrylamide and N-hydroxymethyl Acrylamide in Textiles by HPLC

LIN Xingpao¹, CHEN Haixiang¹, SUN Yanfeng², XIE Jiazeng¹, JIANG Dandan¹

(1. Key Laboratory of Advanced Textile Materials and Manufacturing Technology, Ministry of Education, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China; 2. Zhejiang Jihua Group Co., Ltd., Hangzhou 311228, China)

Abstract: A method was established to determine the content of acrylamide, methacrylamide and N-hydroxymethyl acrylamide in textiles by high performance liquid chromatography (HPLC). The chromatographic conditions are as follows: mobile phase acetonitrile-water (1:99, V/V), detection wavelength 202 nm and flow rate 0.5 mL/min. Acrylamide, methacrylamide and N-methylolacrylamide in the textile samples were extracted by water. The extract was separated by C₁₈ column and quantified by external standard method. The results showed that acrylamide, methacrylamide and N-hydroxymethyl acrylamide had a good linear relationship in the range of 0.05~1.00 μg/mL, and the correlation coefficient was more than 0.999. The detection limits were 0.8, 0.5 and 1.5 mg/kg respectively. The recovery rates were between 85.81% and 107.37%, and the relative standard deviation was between 0.13% and 4.34%.

Key words: HPLC; determination; textiles; acrylamide; methacrylamide; N-hydroxymethyl acrylamide

收稿日期:2017-08-09 网络出版日期:2018-06-04

基金项目:浙江省质监系统科研项目(20150234)

作者简介:林型跑(1992-),男,浙江温州人,硕士研究生,主要从事功能高分子材料方面的研究。

通信作者:陈海相,E-mail:chx@zstu.edu.cn

丙烯酰胺或其聚合物在纺织品的生产加工过程中用作上浆剂、抗静电剂、粘合剂、稳定剂等;甲基丙烯酰胺或其聚合物可用于纤维的匀染剂、吸湿剂、胶黏剂和抗静电剂等;N-羟甲基丙烯酰胺常作为交联

剂,用于纤维改性、染料及纺织染整助剂的加工等^[1]。因此,纺织品中可能残留有丙烯酰胺、甲基丙烯酰胺和 N-羟甲基丙烯酰胺。Bluesign 认证^[2]已把丙烯酰胺、甲基丙烯酰胺和 N-羟甲基丙烯酰胺纳入限用物质清单,一般不得超过 0.1%(w/w)。

丙烯酰胺具有明显的神经毒性、生殖毒性和潜在致癌性,可经消化道、呼吸道、皮肤黏膜等多种途径侵入人体,危害健康^[3-4],被国际癌症研究机构(IARC)列为对人类可疑致癌物,属严格管制的高风险物质^[5]。甲基丙烯酰胺与 N-羟甲基丙烯酰胺均对眼睛、皮肤、上呼吸道及粘膜有刺激作用。欧盟 Directive 76/768/EEC 指令要求化妆品禁用丙烯酰胺^[6]。丙烯酰胺超过 0.1%(w/w)的商品不得在欧洲市场销售,世界卫生组织规定水中丙烯酰胺不得超过 0.5 μg/L^[7-8]。丙烯酰胺的检测主要采用气相色谱法、高效液相色谱法、气质联用法和离子排斥色谱法等分析技术^[9-14]。国家标准 GB/T 30166—2013《纺织品丙烯酰胺的测定》规定了高效液相色谱法和离子排斥色谱法测定纺织品中丙烯酰胺的含量^[15]。但未见纺织品中甲基丙烯酰胺和 N-羟甲基丙烯酰胺含量测定方法的研究报道。本文采用高效液相色谱法建立测定纺织品中丙烯酰胺、甲基丙烯酰胺和 N-羟甲基丙烯酰胺含量的方法,对促进纺织品进出口贸易、保护环境、保障健康都有积极意义,并为检测方法标准的制修订提供基础数据。

1 实验

1.1 仪器和试剂

1100 高效液相色谱仪,配备二极管阵列检测器(DAD,美国 Agilent 公司),色谱柱:SB-C18(150 mm×4.6 mm,5 μm)和 TC-C18(150 mm×4.6 mm,5 μm),KQ-250DB 数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),THZ-8 型水浴恒温振荡器(江苏太仓市实验设备厂),AG135 电子天平(美国 Mettler Toledo 公司)。

丙烯酰胺(纯度 99%,上海洪昌化学试剂厂),甲基丙烯酰胺、N-羟甲基丙烯酰胺(纯度均为 98%,上海麦克林生化科技有限公司),甲醇、乙腈(均为色谱纯,美国 Tedia 公司);水为二级水。

标准溶液的配制:分别准确称取 0.1 g(精确至 0.000 1 g)的丙烯酰胺、甲基丙烯酰胺和 N-羟甲基丙烯酰胺标准样品于 100 mL 棕色容量瓶中,用甲醇溶解并定容,制成 1.0 mg/mL 标准储备溶液。分别准确移取 1.0 mL 各标准储备溶液于 100 mL 容

量瓶中,用水稀释定容,配制成浓度为 10 mg/L 的标准中间溶液。

1.2 样品准备

1.2.1 阳性样品制备

选取标准棉贴衬织物样品,剪碎(约 5 mm×5 mm),称取 1.0 g(精确至 0.001 g),取适量丙烯酰胺、甲基丙烯酰胺和 N-羟甲基丙烯酰胺标准溶液滴入到织物中后,室温自然凉干。

1.2.2 提取工艺

样品置于 100 mL 锥形瓶中,加入提取剂提取,提取液经 0.45 μm 滤膜过滤,待测。

1.3 色谱条件

流动相为甲醇-水或乙腈-水;流速为 0.5 mL/min;柱温为 30 ℃;进样量为 20 μL。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的选择优化

2.1.1 波长的确定

采用二极管阵列检测器对丙烯酰胺、甲基丙烯酰胺和 N-羟甲基丙烯酰胺的标准溶液在 190~360 nm 范围内进行光谱扫描,结果见图 1。丙烯酰胺的最大吸收波长在 198 nm 处,甲基丙烯酰胺为 202 nm,N-羟甲基丙烯酰胺为 200 nm。本文方法选定检测波长为 202 nm,对丙烯酰胺和 N-羟甲基丙烯酰胺的响应值影响不大(与各自最强吸收波长比较,灵敏度仅下降 8.58%和 1.04%),又可尽量减少基质对测定的干扰。

2.1.2 流动相优化选择

国家标准 GB/T 30166—2013 以甲醇-水为流动相在 202 nm 波长下采用 C₁₈ 柱测定纺织品中丙烯酰胺含量,由于甲醇的截止波长为 205 nm,在 202 nm 波长下测定有干扰,因此需对国标的色谱条件进行优化。若选择 205 nm 波长下测定,丙烯酰胺、甲基丙烯酰胺和 N-羟甲基丙烯酰胺的灵敏度将分别下降 21.9%、3.3%和 7.3%(与各自最强吸收波长比较)。为此,实验采用 TC-C18 色谱柱以乙腈-水为流动相分离 3 种丙烯酰胺类组分,并与甲醇-水为流动相进行了对比,结果见图 2。按式(1)计算相邻两组分分离度 R_{12} 、 R_{23} ,结果见表 1。

$$R=2\left(\frac{t_{R_1}-t_{R_2}}{W_1+W_2}\right) \quad (1)$$

式中: R 为分离度; t_{R_1} 、 t_{R_2} 为两组分保留时间, min; W_1 、 W_2 为两组分峰宽, min。

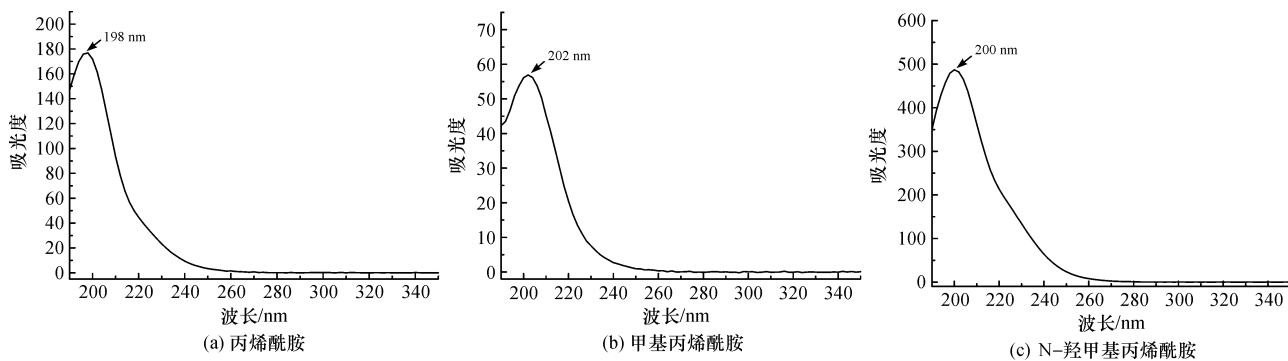
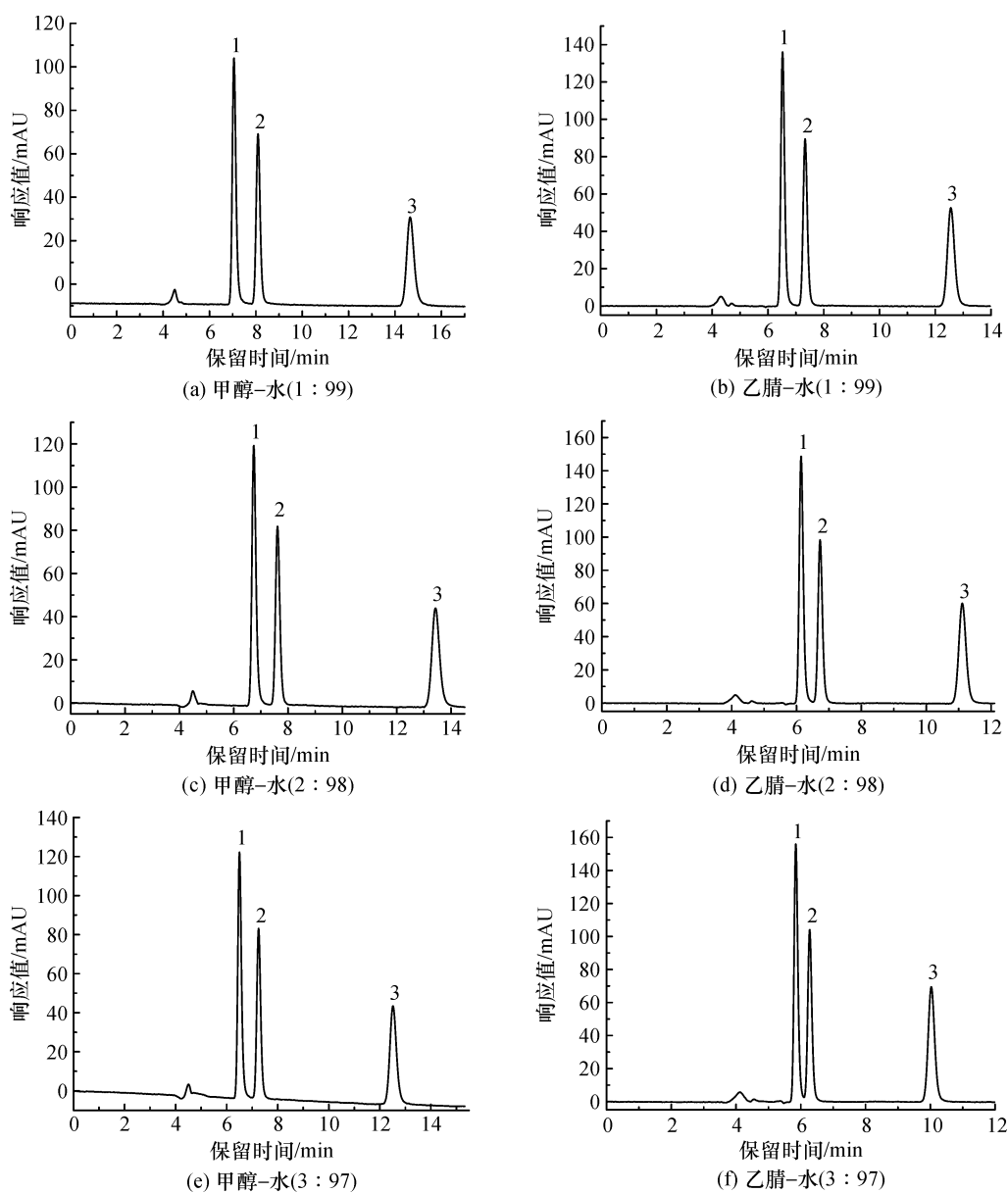
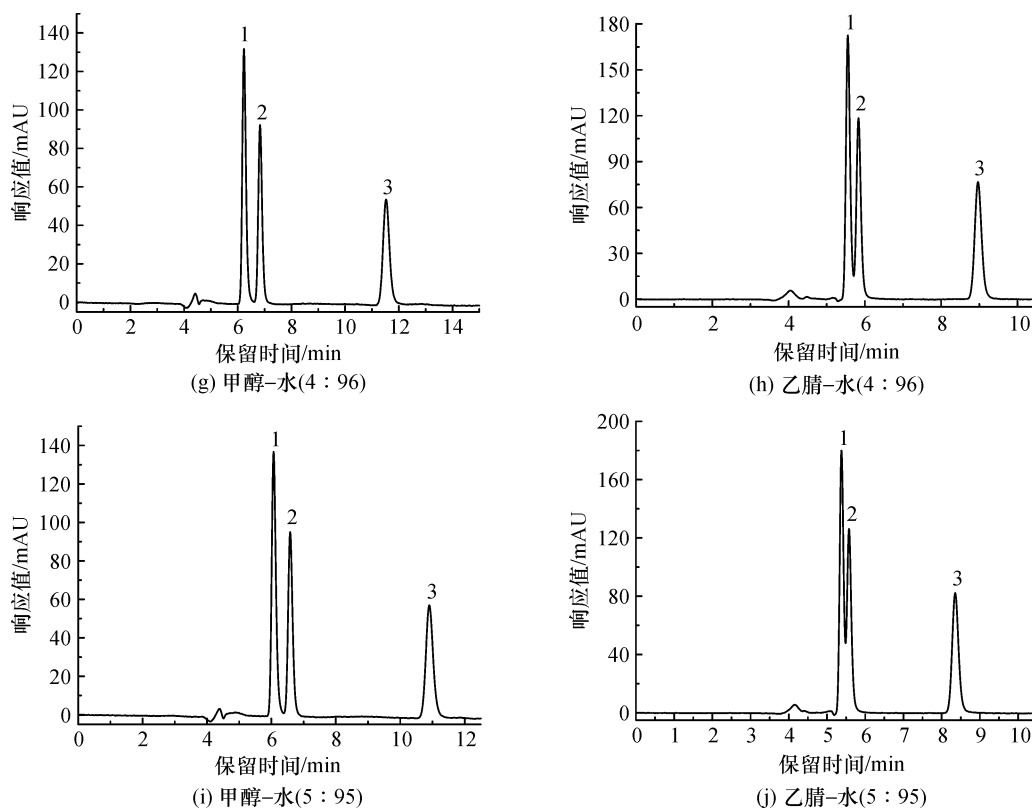


图 1 DAD 扫描光谱图





1—丙烯酰胺;2—N-羟甲基丙烯酰胺;3—甲基丙烯酰胺

图 2 不同流动相及配比的分离色谱图比较

可见,无论用何种流动相,三组分的保留顺序不变,即 $t_{R_1} < t_{R_2} < t_{R_3}$, 其中,丙烯酰胺与 N-羟甲基丙烯酰胺较难分离。其次,与甲醇-水为流动相比较,采用乙腈-水为流动相时三组分保留较弱,洗出较快,分离较差。通过调整流动相比,即增加乙腈-水流动相中水比例可提高组分间的分离度,当超过 99% 时分离度可达 2.98, 分离完全。

表 2 是色谱峰面积响应值和计算得到的理论塔

板数。可见,采用乙腈-水为流动相时,丙烯酰胺、甲基丙烯酰胺和 N-羟甲基丙烯酰胺三组分的峰面积和理论塔板数均比甲醇-水流动相大,说明使用乙腈-水为流动相时,色谱峰更优,灵敏度会更高。这是由于乙腈的截止波长为 190 nm, 在 202 nm 波长下对三组分的定量测定没有干扰。此外,乙腈-水流动相中水比例的提高既有利于组分分离,又更环保经济。

表 1 不同流动相及配比下的分离度

流动相及配比	丙烯酰胺		R_{12}	N-羟甲基丙烯酰胺		R_{23}	甲基丙烯酰胺		
	t_{R_1}	W_1		t_{R_2}	W_2		t_{R_3}	W_3	
甲醇-水 (V:V)	1:99	7.057	0.304	3.31	8.094	0.323	14.07	14.652	0.609
	2:98	6.740	0.282	2.99	7.614	0.302	13.88	13.429	0.536
	3:97	6.504	0.268	2.69	7.25	0.285	13.55	12.515	0.492
	4:96	6.232	0.255	2.29	6.832	0.270	13.00	11.527	0.452
	5:95	6.069	0.248	2.01	6.584	0.265	12.66	10.903	0.417
乙腈-水 (V:V)	1:99	6.525	0.258	2.98	7.333	0.284	13.65	12.559	0.482
	2:98	6.142	0.234	2.37	6.727	0.258	12.81	11.112	0.427
	3:97	5.846	0.224	1.82	6.274	0.246	12.04	10.031	0.379
	4:96	5.554	0.206	1.30	5.833	0.224	11.09	8.966	0.341
	5:95	5.379	0.192	0.97	5.576	0.214	10.57	8.353	0.311

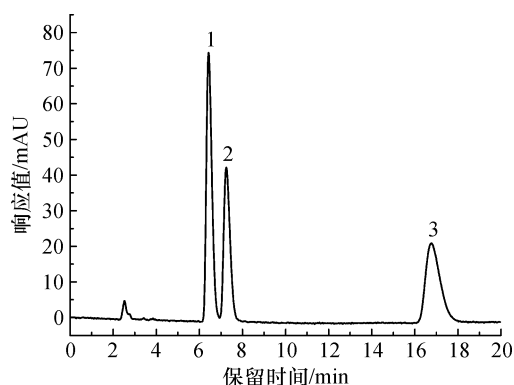
表 2 不同流动相及配比下的峰面积 A 与理论塔板数 n

流动相及配比	丙烯酸胺		N-羟甲基丙烯酸胺		甲基丙烯酸胺		
	峰面积	理论塔板数	峰面积	理论塔板数	峰面积	理论塔板数	
甲醇-水 (V:V)	1:99	1 305.7	8 622	963.0	10 047	939.0	26 711
	2:98	1 301.2	9 140	950.4	10 170	938.3	29 043
	3:97	1 298.3	9 423	955.1	10 354	946.8	29 901
	4:96	1 299.7	9 556	965.6	10 476	939.1	30 024
	5:95	1 324.7	9 582	967.7	10 583	942.6	31 532
乙腈-水 (V:V)	1:99	1 345.0	10 234	971.1	10 667	973.3	31 400
	2:98	1 359.3	11 023	977.4	10 711	979.9	31 610
	3:97	1 344.0	11 196	975.5	10 754	988.9	32 403
	4:96	1 360.7	11 630	986.0	10 849	990.3	32 480
	5:95	1 342.5	12 558	984.2	10 863	983.0	33 226

注:理论塔板数 $n=16(t_R/W)^2$ 。

2.1.3 色谱柱的比较

根据丙烯酸胺和 N-羟甲基丙烯酸胺的分离度 R_{12} 来评价选择色谱柱。以乙腈-水(1:99)为流动相,使用 TC-C18 和 SB-C18 色谱柱对丙烯酸胺、甲基丙烯酸胺和 N-羟甲基丙烯酸胺进行分离,获得的色谱图分别见图 2(b)和图 3。根据保留时间和峰宽计算得到分离度分别为: $R_{12}(TC)=2.98$, $R_{12}(SB)=1.46$,即色谱柱 TC-C18 分离性能较好。同时计算得到使用 SB-C18 时的三组分理论塔板数 n 分别为:8 555、8 258 和 10 147,柱效明显比 TC-C18 柱差(表 2)。此外,使用 SB-C18 柱分析时间较长,需要 18 min;而使用 TC-C18 柱分析只需要 13 min,分析效率较高。



1—丙烯酸胺;2—N-羟甲基丙烯酸胺;3—甲基丙烯酸胺

图 3 色谱柱 SB-C18 分离色谱图

2.2 样品的前处理

2.2.1 提取方式

固体样品中残留物的提取方式一般有:超声萃

取、加速溶剂萃取、索氏萃取、振荡萃取等方法。其中,索氏萃取常使用有机溶剂且耗时长;加速溶剂萃取设备昂贵,普及性不高,不适于提取水溶性且不耐高温的目标物;超声萃取和振荡萃取是两种常用的提取方法,操作简单,成本较低。由图 4 可知使用超声萃取的提取率在 87.4%~102.9%,而使用振荡萃取的提取率为 94.4%~104.9%。两种方式的提取效果都较好。但由于在超声萃取过程中溶液温度易上升而难控制,因此本文采用了振荡萃取方式。

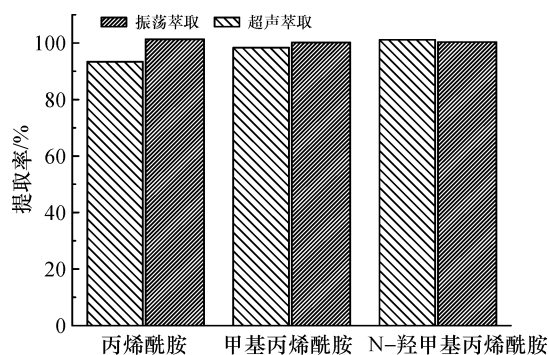


图 4 两种方式的提取效率

2.2.2 提取剂的选择

目前,空气、食品和材料中的丙烯酸胺检测大多使用水为提取剂,也有使用甲酸、甲醇、乙醇等的水溶液作为提取剂^[16-17]。丙烯酸胺、甲基丙烯酸胺和 N-羟甲基丙烯酸胺极性较强,都易溶于水、乙醇等极性溶剂,为此,实验设计选择了水、50%乙醇、100%乙醇为提取剂对纺织品中丙烯酸胺、甲基丙烯酸胺和 N-羟甲基丙烯酸胺进行提取试验比较,结果见图 5。

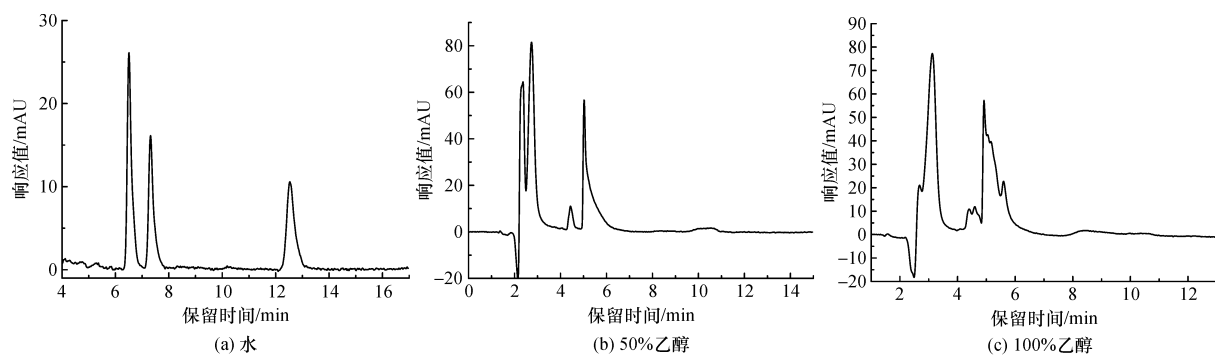


图 5 使用不同提取剂的检测结果色谱图

可见,使用上述 3 种提取剂的检测结果色谱图存在较大差异。用水为提取剂,检测结果与实际含量水平相一致。但使用 50%乙醇、100%乙醇为提取剂,检测结果明显偏高,可能是因乙醇还能提取出纺织品中其他残留物,从而造成干扰,从图 5 分析,若乙醇含量越高,则干扰越严重。

2.3 方法学评价

2.3.1 线性关系和检出低限

取丙烯酰胺、甲基丙烯酰胺和 N-羟甲基丙烯酰胺标准中间溶液,用水配制成 0.05、0.10、0.25、

0.50、0.75、1.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 系列工作溶液,采用上述方法确定的色谱条件进行分析测定,以质量浓度 C 为横坐标、峰面积 A 为纵坐标绘制标准工作曲线(图 6),并线性回归得到丙烯酰胺、甲基丙烯酰胺和 N-羟甲基丙烯酰胺标准工作曲线方程分别为: $A_1 = 407.78C_1 - 0.19$, $A_2 = 327.50C_2 - 2.46$, $A_3 = 304.87C_3 - 0.98$;相关系数分别为:0.999 7、0.999 8、0.999 8,线性关系良好。若以 10 倍信噪比确定方法检出限,可计算得到丙烯酰胺、甲基丙烯酰胺和 N-羟甲基丙烯酰胺的检出低限分别为 0.8、0.5、1.5 mg/kg (纺织品)。

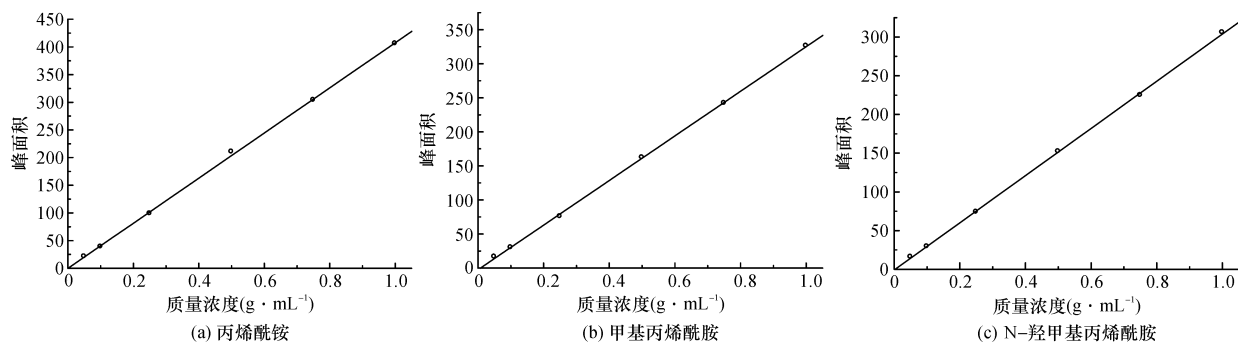


图 6 标准工作曲线

2.3.2 加标试验

用棉贴衬织物样品以低、中、高 3 种加标水平(2.5、10、40 mg/kg)进行加标试验,采用以上建立

的方法测定,实验结果表明:加标回收率在 85.81%~107.37%之间,相对标准偏差 RSD 在 0.13%~4.34%之间,方法的回收率和精密度都较好(表 3)。

表 3 加标试验结果

测试 结果	加标量/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	丙烯酰胺			甲基丙烯酰胺			N-羟甲基丙烯酰胺		
		50.98	49.27	53.68	46.60	42.94	45.08	50.79	49.81	49.48
提取液浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	2.5	50.98	49.27	53.68	46.60	42.94	45.08	50.79	49.81	49.48
	10	197.40	210.89	199.36	211.49	209.57	211.49	193.80	199.38	204.63
	40	756.81	758.53	756.81	699.43	693.01	707.06	686.47	701.56	686.47
检测量/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	2.5	2.55	2.46	2.68	2.33	2.15	2.25	2.54	2.49	2.47
	10	9.87	10.54	9.97	10.57	10.48	10.57	9.69	9.97	10.23
	40	37.84	37.93	37.84	35.35	34.65	35.35	34.32	35.08	34.32
回收率 /%	2.5	101.97	98.54	107.37	93.20	85.88	90.15	101.58	99.60	98.96
	10	98.70	105.44	99.68	105.74	104.79	105.74	96.90	99.69	102.31
	40	94.60	94.82	94.60	87.43	86.63	88.38	85.81	87.70	85.81

(续表)

测试 结果	加标量/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	丙烯酰胺	甲基丙烯酰胺	N-羟甲基丙烯酰胺
	2.5	4.34	4.10	1.37
RSD/%	10	3.60	0.52	2.72
	40	0.13	1.00	1.26

3 结 语

本文以水为提取剂采用振荡法提取纺织品中的丙烯酰胺、甲基丙烯酰胺和 N-羟甲基丙烯酰胺,优化了样品的前处理条件,建立以乙腈-水(1:99,V/V)为流动相的高效液相色谱测定纺织品中丙烯酰胺、甲基丙烯酰胺和 N-羟甲基丙烯酰胺的方法。三组色谱分离完全,在 0.05~1.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内线性关系良好,相关系数均大于 0.999,丙烯酰胺、甲基丙烯酰胺和 N-羟甲基丙烯酰胺的检出限分别为 0.8、0.5、1.5 mg/kg (纺织品),加标回收率在 85.81%~107.37%之间,相对标准偏差 RSD 在 0.13%~4.34%之间,方法简单、准确、更环保、更经济。

参考文献:

- [1] 《化学化工大辞典》编委会. 化学化工大辞典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003: 1833.
- [2] Bluesign system. Bluesign criteria textile products[EB/OL]. (2017-01-17)[2017-12-01]. <http://www.bluesign.com/>.
- [3] 郑宗平, 秦川, 兰山, 等. 食品体系中丙烯酰胺的研究进展: 抑制剂及其抑制机理[J]. 食品科学, 2014, 35(1): 282-288.
- [4] PÁNKOVÁ K. IARC Monographs on the evaluation of the carcinogen risk of chemical to humans[J]. Biologia Plantarum, 1986, 28(5): 354-354.
- [5] 张文娜, 李亚滨. 浅谈生态纺织品的标准与检测[J]. 上海毛麻科技, 2008, 23(2): 39-42.

- [6] 赵同刚. 化妆品卫生规范[M]. 北京: 军事医学科学出版社, 2007: 59-61.
- [7] 章杰. 纺织助剂领域中新高度关注物质的替代研究和进展[J]. 印染助剂, 2011, 28(7): 1-3.
- [8] WHO. Acrylamide in drinking-water background document for development of WHO guidelines for drinking-water quality [EB/OL]. (2011-03-04)[2017-12-01]. http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/acrylamide/en/.
- [9] 全国职业卫生标准委员会. GBZ/T 160.62-2004 工作场所空气中酰胺类化合物的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.
- [10] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. GB/T 5009.204-2014 食品中丙烯酰胺含量的测定方法气相色谱-质谱(GC-MS)法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.
- [11] 河北省质量技术监督局. DB13/T 1081.10-2009 食品用包装材料及制品塑料丙烯酰胺特定迁移量的测定[S]. 石家庄: 河北人民出版社, 2009.
- [12] 姜建彪, 常青, 罗毅, 等. 气相色谱法测定水中丙烯酰胺的方法研究[J]. 河北工业科技, 2017, 34(1): 71-74.
- [13] US EPA. Method 8032A. Acrylamide by gas chromatography [S]. US: American National Standards Institute, 1996.
- [14] 汪磊, 李艳, 姜瑞妹, 等. 离子排斥色谱法测定纺织品中丙烯酰胺[J]. 现代纺织技术, 2013, 21(2): 51-54, 56.
- [15] 中国纺织工业联合会. GB/T 30166-2013 纺织品丙烯酰胺的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2013.
- [16] PALEOLOGOS E K, KONTOMINAS M G. Determination of acrylamide and methacrylamide by normal phase high performance liquid chromatography and UV detection[J]. Journal of Chromatography A, 2005, 1077(2): 128-135.
- [17] 石声鑫. 食品中丙烯酰胺的测定及其含量控制方法[J]. 现代食品, 2016, 22(24): 121-125.

(上接第 55 页)

- [5] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T 3896.2-2015 进出口纺织品 纤维定量分析 近红外法 第 2 部分: 聚酯纤维与聚氨酯弹性纤维的混合物[S]. 北京: 中国标准出版社, 2015.
- [6] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T 3896.3-2015 进出口纺织品 纤维定量分析 近红外法 第 3 部分: 聚酰胺纤维与聚氨酯弹性纤维的混合物[S]. 北京: 中国标准出版社, 2015.
- [7] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T 3896.4-2015 进出口纺织品 纤维定量分析 近红外法 第 4 部分: 棉与聚氨酯弹性纤维的混合物[S]. 北京: 中国标准出版社, 2015.
- [8] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T 3896.5-2015 进出口纺织品 纤维定量分析 近红外法

第 5 部分: 聚酯纤维与粘胶纤维的混合物[S]. 北京: 中国标准出版社, 2015.

- [9] 黄越, 王冬, 段佳, 等. 近红外光谱成像技术的应用进展[J]. 现代仪器, 2011, 17(5): 13-17.
- [10] 吴岳忠, 刘琴, 李长云, 等. 基于云存储的网络文档共享研究[J]. 小型微型计算机系统, 2015(1): 95-97.
- [11] 刘槟宾. 江西检验检疫局红外光谱应用工程技术中心获批组建[EB/OL]. (2013-05-13)[2017-10-11]. <http://roll.sohu.com/20130513/n375687043.shtml>.
- [12] 伯乐公司. 萨萨特勒(Sadtler)光谱库和谱图解析软件 KnowItAll[EB/OL]. [2017-10-11]. <http://www.telops.cn/Bio-Rad/bindex.html>.
- [13] 高宏卿, 汪浩. 基于云存储的教学资源整合研究与实现[J]. 现代教育技术, 2010, 20(3): 97-101.