

文章编号:1001-6880(2015)6-1042-05

蜜蜂巢脾提取物的降血脂研究

赵红霞¹, 黄文忠¹, 邹宇晓², 沈维治², 林光月², 梁勤³, 罗岳雄^{1*}¹广东省昆虫研究所, 广州 510260; ²广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 广州 510640;³福建农林大学, 福州 350002

摘要:利用高脂饲料诱导小鼠高脂血症模型,对巢脾提取物进行体内降血脂功能研究。选取体重一致的72只小鼠随机分成六组,组别即为巢脾提取物高、中、低剂量组、空白对照组、高血脂模型对照组、阳性对照组(辛伐他汀),连续每日定时给予饲料及其相应的受试样品,实验共5周;每周进行一次眼眶取血,检测总胆固醇、甘油三酯和高密度脂蛋白胆固醇三项指标。结果显示,各组间的体重没有显著性差异($P > 0.05$),三个剂量组的总胆固醇、甘油三酯和高密度脂蛋白显著低于高血脂对照组的以上三项指标($P < 0.05$)。其中,高剂量组降血脂水平最明显,中剂量组次之,低剂量组最小。高剂量组和阳性对照组之间无显著性差异($P > 0.05$)。因此,蜜蜂巢脾提取物具有良好的降血脂作用和潜在防控高血脂疾病功效。

关键词:蜜蜂巢脾; 小鼠; 降血脂; 总胆固醇; 甘油三酯; 高密度脂蛋白胆固醇

中图分类号:S896.9

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2015.06.019

Hypocholesterolaemic Effect of Honeybee Comb Extracts

ZHAO Hong-xia¹, HUANG Wen-zhong¹, ZOU Yu-xiao², SHEN Wei-zhi²,
LIN Guang-yue², LIANG Qin³, LUO Yue-xiong^{1*}

¹Guangdong Entomological Institute, Guangzhou 510260, China; ²Sericulture & Agri-FoodResearch Institute GAAS, Guangzhou 510640, China; ³Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China

Abstract: To investigate the hypolipidemic effects of honeycomb extract *in vivo*, healthy male mice were fed with high-fat diet to create a hyperlipidemic animal model. According to the body weight, 72 mice were randomly divided into 6 groups: blank control group (normal feed + normal saline), a high-fat control group (high-fat diet + normal saline), a positive control group (high-fat diet + simvastatin solution), a high dose group (high-fat diet + 1.0 g/mL honeycomb extract), a medium dose group (high-fat diet + 0.5 g/mL honeycomb extract) and a low dose group (high-fat diet + 0.25 g/mL honeycomb extract). This experiment conducted about 5 weeks and these mice were fed every day in the same time, took blood from eyes weekly. Serum total cholesterol (TC), triglyceride (TG) and high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) were determined. The results showed body weight of each group had no significant difference ($P > 0.05$). The levels of TC, TG and HDL-C of three dosage groups were significant lower than those of the high-fat control group ($P < 0.05$). Among them, the high dosage group achieved best antihyperlipidemic effect, followed by the medium dosage group and low dosage group. In addition, the high dosage group and the positive control group had no significant difference ($P > 0.05$). Hence, honeycomb extract had a good hypolipidemic effect and it can be used for the prevention and treatment of hyperlipidemia disease.

Key words: honeybee comb; mice; hypocholesterolaemic effect; total cholesterol; triglyceride; high density lipoprotein cholesterol

巢脾是指由蜜蜂蜡腺分泌蜡质后建造的双面巢房结构,是蜜蜂栖息繁衍育子、贮存花蜜花粉的场

收稿日期:2014-12-23 接受日期:2015-04-02

基金项目:广东省农产品加工重点实验室、农业部功能食品重点实验室开放基金项目(201406);广东省科学院测试基金(sf201304);国家蜂产业技术体系建设专项资金(CARS-45-SYZ-12,CARS-45-KXJ7)

*通讯作者 Tel:86-20-84191724; E-mail:lyxbee@126.com

所,含有大量的生物活性成分。我国是世界第一的养蜂大国^[1],提供了丰富的优质蜂产品,但是巢脾作为蜂群的副产物,研究开发的程度较低且养蜂生产淘汰下来的巢脾数量相当惊人^[2]。近年来研究表明蜜蜂巢脾对鼻炎、乙型肝炎、急性乳腺炎等炎症以及抑菌杀菌、攻毒杀虫、祛风镇痛、抗肿瘤、抗氧化(清除自由基)功能等生物学以及药理学价值^[2-8]。

尤其是,巢脾提取物具有抑菌效果,吴国栋等通过巢脾抑菌试验表明,巢脾提取物对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、沙门氏杆菌、伤寒杆菌产生明显抑制作用^[9]。朱俊彦等报道0.5 g/mL和0.25 g/mL(终浓度)意蜂巢脾水提液对短小杆菌、金黄色葡萄球菌、八叠杆菌、大肠杆菌和蜡状杆菌都有很好的抑制作用^[10]。龚蜜等研究表明,巢脾提取物对金黄色葡萄球菌均有抑制作用,并且抑制效果呈浓度依赖效应^[11]。巢脾对多种细菌具有抑制作用,且对革兰氏阳性细菌的抑制效果优于对革兰氏阴性细菌的抑制效果。自由基对人体危害极大,必须补充有效的抗氧化物来抑制自由基,所以天然优质的抗氧化物选择非常重要,老蜂巢具有清除自由基的作用^[12]。褚亚芳等得出巢脾水提物对于对二甲苯致小鼠耳肿胀和角叉菜胶致小鼠足肿胀等急性炎症有显著的抑制作用^[13];匡邦郁等应用巢脾提取物治疗急性传染性肝炎、慢性肝炎、迁延性肝炎、早期肝硬化214例,同时对各种鼻炎294例,包括慢性鼻炎、慢性副鼻窦炎、过敏性鼻炎、肥大性鼻炎、单纯性鼻炎^[14]。程茂盛等通过巢脾提取物对试验菌株金黄葡萄球菌、铜绿假单胞菌、表皮葡萄球菌、乙型溶血性链球菌、肺炎链球菌抑制有良好的抑制效果^[15,16]。目前,民间有记载关于巢脾提取物用于降血脂的功效,但其药效成分和作用机理尚不明确,因此本文探讨了蜜蜂巢脾提取物对高脂血症小鼠的降血脂作用,为巢脾在医药保健领域的应用提供科学依据,为巢脾的产业化开发提供有效的技术保障。

1 材料与仪器

1.1 蜜蜂巢脾提取物

冰冻破碎并过筛后,2 kg蜜蜂巢脾和1 kg水混匀,煮至完全溶解,过滤,除去蜂蜡后,再将滤渣和滤液混合,慢火(80~86℃)煮2~3 h,过滤去渣,剩余滤液慢火(80~86℃)煮至浓缩为500 g。小鼠高、中、低剂量分别设为10 g/kg·bw·d,5 g/kg·bw·d,2.5 g/kg·bw·d。

1.2 实验动物

雄性KM小鼠(20±2 g),购自广州中医药大学动物实验中心,许可证号SCXK(粤)2008-0020。

1.3 试剂

高脂饲料(上海起发实验试剂有限公司),高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C选择性沉淀法)试剂盒(北京北化康泰临床试剂有限公司);甘油三酯(TG酶法)试

剂盒,总胆固醇(CHO酶法)试剂盒,均由浙江东瓯诊断产品有限公司提供,其余试剂均为国产分析纯。

1.4 仪器

AL204电子天平(上海梅特勒托利多仪器有限公司);HWS26电热恒温水浴锅(上海一恒有限公司);MM-2型快速旋涡振荡器(江苏省姜堰市沈高康健生化器具厂);SB25-12DTD超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司);D-37520离心机(Thermo Electron LED GmbH);酶标仪;计时器

2 实验方法

2.1 实验小鼠

KM雄性小鼠喂饲基础饲料,适应性喂养7 d后,按体重随机分为6组,每组10只小鼠:①空白对照组:饲喂基础饲料和灌喂生理盐水;②高血脂对照组:饲喂高脂饲料和灌喂生理盐水;③阳性对照组:饲喂高脂饲料和灌喂阳性药物(辛伐他汀);④高剂量组:饲喂高脂饲料和巢脾提取物(10 g/kg·bw·d);⑤中剂量组:饲喂高脂饲料和巢脾提取物(5 g/kg·bw·d);⑥低剂量组:饲喂高脂饲料和巢脾提取物(2.5 g/kg·bw·d)。每饲喂7 d后禁食12 h,进行眼眶取血,测定小鼠的总胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白胆固醇等三项血脂指标(按试剂盒使用说明测定)。

2.2 数据处理与统计

本实验数据用SPSS17.0 statistics统计软件中邓肯氏新复极差检验分析,结果以平均数±标准差(±s)表示。

3 实验结果

3.1 实验小鼠体重变化

从实验第1周开始至第5周实验结束,各组小鼠的体重呈增长趋势。其中,相对于空白对照组而言,高血脂对照组、阳性对照组和低剂量组小鼠的体重增长较快,但是实验过程中各组间的体重没有显著性差异($P>0.05$)(表1)。

3.2 血脂指标检测

3.2.1 对小鼠血清总胆固醇(TCH)的影响

实验第一周,各组小鼠血清中总胆固醇水平均无显著性差异($P>0.05$)。到实验中期(第3周),给药组(包括高血脂对照组,阳性对照组,高、中、低剂量组)的总胆固醇水平明显高于空白对照组,存在显著性差异($P<0.05$)。到实验后期(第5周),

表 1 各组小鼠的体重变化

Table 1 Body weights of mice among different groups

| 组别 Groups | 体重 Body weight (g) | | |
|-------------------------------------|--------------------|--------------|--------------|
| | 第 1 周 Week 1 | 第 3 周 Week 3 | 第 5 周 Week 5 |
| 空白对照组 Blank control group | 20.83 ± 0.62 | 32.5 ± 0.90 | 39.85 ± 0.64 |
| 阳性对照组 Positive control group | 20.45 ± 0.93 | 35.58 ± 0.69 | 43.52 ± 1.27 |
| 高血脂对照组 Hyperlipidemic control group | 20.3 ± 0.89 | 35.45 ± 0.90 | 47.13 ± 1.05 |
| 高剂量组 High dosage group | 20.5 ± 0.77 | 33.77 ± 1.16 | 41.82 ± 1.83 |
| 中剂量组 Medium dosage group | 20.7 ± 0.58 | 34.2 ± 1.28 | 42.73 ± 0.85 |
| 低剂量组 Low dosage group | 20.5 ± 0.28 | 34.43 ± 0.41 | 43.65 ± 0.94 |

注:表中数据为样品的平均值 ± 标准差;每组 10 只重复样本数。

Note: Data in the table were shown in mean ± SD; Each group was 10 repeats.

所有剂量组的总胆固醇显著低于高血脂对照组的总胆固醇水平。其中,高剂量组降总胆固醇水平最明显,中剂量组次之,低剂量组最小。高剂量组和阳性对照组之间无显著性差异($P > 0.05$) (见表 2)。

表 2 巢脾提取物对小鼠血清总胆固醇的影响

Table 2 The effects of honeybee comb on serum TC in mice

| 组别 Groups | 总胆固醇 Total cholesterol | | |
|-------------------------------------|------------------------|----------------|-----------------|
| | 第 1 周 Week 1 | 第 3 周 Week 3 | 第 5 周 Week 5 |
| 空白对照组 Blank control group | 1.831 ± 0.065 | 1.892 ± 0.108a | 1.918 ± 0.134e |
| 阳性对照组 Positive control group | 1.847 ± 0.145 | 2.512 ± 0.160b | 2.693 ± 0.216cd |
| 高血脂对照组 Hyperlipidemic control group | 1.851 ± 0.065 | 2.531 ± 0.085b | 3.257 ± 0.445a |
| 高剂量组 High dosage group | 1.843 ± 0.036 | 2.422 ± 0.196b | 2.861 ± 0.061bd |
| 中剂量组 Medium dosage group | 1.818 ± 0.022 | 2.519 ± 0.249b | 2.933 ± 0.409b |
| 低剂量组 Low dosage group | 1.867 ± 0.053 | 2.485 ± 0.070b | 2.966 ± 0.161b |

注:表中数据为样品的平均值 ± 标准差;同列数据后不同字母表示数据经邓肯氏新复极差检验在 0.05 水平上差异显著($P < 0.05$)。

Note: Data in the table were shown in mean ± SD; Different letters after each data in the same column indicated significant different by Duncan's test at 0.05 level.

3.2.2 对小鼠甘油三酯的影响

实验第一周,各组小鼠血清中甘油三酯水平均无显著性差异($P > 0.05$)。实验中期(第 3 周),给药组(包括高血脂对照组,阳性对照组及高、中、低剂量组)的甘油三酯水平显著高于空白对照组($P < 0.05$),而阳性对照组和高、中、低剂量组的甘油三

酯水平均显著低于高血脂对照组($P < 0.05$)。到了实验后期(第 5 周),所有剂量组的甘油三酯水平均显著低于高脂对照组($P < 0.05$)。其中,高剂量组降甘油三酯水平最为明显,中剂量组次之,低剂量组最小。高剂量组与阳性对照无显著性差异($P > 0.05$) (见表 3)。

表 3 巢脾提取物对小鼠血清甘油三酯的影响

Table 3 The effects of honeybee comb on serum TG in mice

| 组别 Groups | 甘油三酯 Triglycerides | | |
|-------------------------------------|--------------------|----------------|-----------------|
| | 第 1 周 Week 1 | 第 3 周 Week 3 | 第 5 周 Week 5 |
| 空白对照组 Blank control group | 0.512 ± 0.023 | 0.576 ± 0.03a | 0.603 ± 0.03c |
| 阳性对照组 Positive control group | 0.570 ± 0.028 | 0.656 ± 0.039b | 0.66 ± 0.035c |
| 高血脂对照组 Hyperlipidemic control group | 0.576 ± 0.057 | 0.683 ± 0.04c | 0.715 ± 0.045a |
| 高剂量组 High dosage group | 0.551 ± 0.043 | 0.627 ± 0.065b | 0.598 ± 0.039bc |
| 中剂量组 Medium dosage group | 0.536 ± 0.041 | 0.635 ± 0.077b | 0.672 ± 0.023b |
| 低剂量组 Low dosage group | 0.541 ± 0.047 | 0.641 ± 0.037b | 0.682 ± 0.057b |

注:表中数据为样品的平均值 ± 标准差;同列数据后不同字母表示数据经邓肯氏新复极差检验在 0.05 水平上差异显著($P < 0.05$)。

Note: Data in the table were shown in mean ± SD; Different letters after each data in the same column indicated significant different by Duncan's test at 0.05 level.

3.2.3 对小鼠高密度脂蛋白的影响

实验第一周,各组小鼠血清中高密度脂蛋白水平平均无显著性差异($P > 0.05$)。到实验中期(第3周),给药组(包括高脂对照组,阳性对照组及高、中、低各剂量组)的高密度脂蛋白水平显著低于空

白对照组($P < 0.05$),给药组组间无显著差异($P > 0.05$)。到了实验后期(第5周),给药组高密度脂蛋白显著高于高脂对照组($P < 0.05$),且阳性对照组和高剂量组显著高于中、低剂量组($P < 0.05$)(见表4)。

表4 巢脾提取物对小鼠高密度脂蛋白的影响

Table 4 The effects of honeybee comb on HDL-C in mice

| 组别 Groups | 高密度脂蛋白 HDL-C | | |
|-------------------------------------|---------------|----------------|----------------|
| | 第1周 Week 1 | 第3周 Week 3 | 第5周 Week 5 |
| 空白对照组 Blank control group | 1.235 ± 0.080 | 1.238 ± 0.091a | 1.214 ± 0.263c |
| 阳性对照组 Positive control group | 1.305 ± 0.278 | 1.136 ± 0.122b | 1.104 ± 0.094c |
| 高血脂对照组 Hyperlipidemic control group | 1.244 ± 0.090 | 1.07 ± 0.029b | 0.779 ± 0.031a |
| 高剂量组 High dosage group | 1.226 ± 0.086 | 1.158 ± 0.076b | 1.206 ± 0.023c |
| 中剂量组 Medium dosage group | 1.302 ± 0.259 | 1.107 ± 0.079b | 0.904 ± 0.133b |
| 低剂量组 Low dosage group | 1.254 ± 0.102 | 0.987 ± 0.110b | 0.884 ± 0.084b |

注:表中数据为样品的平均值±标准差;同列数据后不同字母表示数据经邓肯氏新复极差检验在0.05水平上差异显著($P < 0.05$)。

Note: Data in the table were shown in mean ± SD; Different letters after each data in the same column indicated significant different by Duncan's test at 0.05 level.

4 讨论

高脂血症是指由于脂肪代谢或运转异常使血浆一种或多种脂质高于正常,表现为高胆固醇血症、高甘油三酯血症或两者兼有,因此,本研究对实验动物胆固醇、甘油三酯和高密度脂蛋白水平进行了测定。本实验结果显示,巢脾提取物能较好地降低高脂血症小鼠血清中胆固醇和甘油三酯水平,提高高密度脂蛋白的含量,且具剂量依赖性,说明巢脾提取物能较显著地降低高脂血症模型小鼠的血脂水平。

目前,临幊上常用的降血脂药物主要有降甘油三酯为主的贝特类药物和降胆固醇为主的他汀类药物,然而,这些药物长期服用不可避免地产生较多的不良反应^[17]。民间有记载高血脂患者通过食用巢脾物,降低血脂的功效;未见相关的动物试验及其深入的机理研究^[2]。通过本研究,不仅证实了相关的记载或报道,而且探讨了巢脾提取物对高血脂小鼠的降血脂功效。

本研究表明,巢脾提取物具有良好的降血脂作用,有望开发成为安全有效的降脂药物,其确切作用机制有待进一步研究。

参考文献

- Chen LH(陈黎红),Zhang FX(张复兴),Wu J(吴杰),et al. Enlightenment of European apiculture development status to China. *J Agric Sci Technol* (中国农业科技导报),2012,

14(3):16-21.

- Yu LS(余林生),Liu ZF(刘在芳),Ju DW(琚大伟),et al. The old process and its development and utilization of the honeybee comb. *Apicul China*(中国蜂业),2010,61(6):39-47.
- Hu FL(胡福良),Li YH(李英华),Chen ML(陈民利),et al. Study on the effect of propolis extracted by ethanol or water on acute inflammation in animals based on model tests. *J Zhejiang Univ,Agric Life Sci*(浙江大学学报:农业与生命科学版),2003,29:444-448.
- Zeng ZJ(曾志将),Wang LG(汪礼国),Rao B(饶波),et al. A study on the effect of honeybee pollen polysaccharide on decreasing lipoidemia in rat. *Acta Agric Univ Jiangxiensis*(江西农业大学学报),2004,6:406-408.
- Yan WY(颜伟玉),Zeng XK(曾星凯),Xie GX(谢国秀),et al. Effects of active components of royal jelly on lipoidemia decrease of mice. *Acta Agric Univ Jiangxiensis*(江西农业大学学报),2009,31:825-829.
- Wang LZ(王立志). The old honeybee comb is a treasure. *Apicul Technol*(养蜂技术),1994,3:19-21.
- Li JZ(李金枝),He GY(何光源). Honeycomb preliminary study for the treatment of allergic rhinitis. *Apicul China*(中国蜂业),2008,59(2):33.
- Yan YM(闫亚美). Study on the honeybee comb volatile oil and its pharmacodynamics to AR. Fuzhou:Fujian Agriculture and Forestry University(福建农林大学),MSc. 2006.
- Wu GD(吴国栋),Shi JM(施建民),Yu YY(俞永裕),et al. The honeybee comb extract in weight and survival rate of

- experiments of chicken. *Poul Ind Sci Technol* (禽业科技), 1994, 5(10):26.
- 10 Zhu JY(朱俊彦), Yu QL(喻庆禄), Deng BL(邓必麟), et al. Pharmacodynamics research of the honeycomb. *Lishizhen Med Mater Med Res*(时珍国医国药), 1999, 10:168-169.
- 11 Gong M(龚蜜), Xu BL(徐冰璐). Study on the inhibitory effect of the dark comb water extracts from Chinese honeybee and italien honeybee hives on staphylococcus aureus. *Apicul China*(中国蜂业), 2008, 59(11):11-12.
- 12 Yang XP(杨晓萍), Luo ZY(罗祖友), Wu MC(吴谋成). Study on preparation of rape pollen polysaccharide and its effect on tumor-bearing mice. *Food Sci*(食品科学), 2005, 26:202-204.
- 13 Chu YF(褚亚芳), Hu FL(胡福良). Anti-inflammatory activities of water extract from honey-comb. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2011, 23:726-729.
- 14 Kuang BY(匡邦郁). The bee product ingredients and its application in medical. *J Zhejiang Inst Tradit Chin Med*(浙江中医学院学报), 1979, 3(5):38.
- 15 Cheng MS(程茂盛), Yin L(尹玲), Ji T(吉挺), et al. Comparison of antioxidant activity of honey-comb water and alcohol extracts. *J Anhui Agri Sci*(中国蜂业中旬刊), 2011, 62:45-47.
- 16 Cheng MS(程茂盛). The study of honeycomb biological activity and preparation compound recipe proplis products using microcapsule embedding technology. Hefei: Anhui Agricultural University(安徽农业大学), MSc. 2012.
- 17 Wang HY(王海勇), Wang L(王林). Study on hypocholesterolaemic medicine. *Foreign Med Secti Pharm*(国外医学药学分册), 2004, 31:160-162.

(上接第 1027 页)

- 8 Wang Y(王艳), Hasimu R(茹仙古丽·哈斯木), Han YC(韩艳春), et al. Study on polysaccharides from uygor medicine *Diaphragma juglandis fructus* by phenol-sulfuric acid method. *Asia Pacific Tradit Med*(亚太传统医药), 2012, 8(2):35-37.
- 9 Hu AJ(胡爱军), Luo DL(罗登林), Qiu TQ(丘泰球). Extraction mechanism of ultrasound-enhanced supercritical fluids. *J Chem Eng Chin Univ*(高校化学工程学报), 2005, 24(5):11-15.
- 10 Wang DZ(王笃政), Yu NN(于娜娜). Review on micro-wave-ultrasonic wave synergic extraction of effective constituents from chinese herbal medicine. *Chem Int*(化工中间体), 2011, 11(5):5-9.
- 11 LI QH, FU CL. Application of response surface methodology for extraction optimization of germinant pumpkin seeds protein. *Food Chem*, 2005, 92:701-706.
- 12 Mao SS(茆诗松), Wang JL(王静龙), Shi DH(史定华), et al. Statistical Manual(统计手册). Beijing: Science Publishing House, 2003. 78-86.
- 13 Sun T, Ho CT. Antioxidant activities of buckwheat extracts. *Food Chem*, 2005, 90:743-749.
- 14 St phanie D, Xavier V, Philippe C, et al. Comparative study antioxidant properties and total phenolic of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD and ORAC assays. *J Agric Food Chem*, 2009, 57:1768-1774.
- 15 Fang ZX, Zhang YH, Yuan L, et al. Phenolic compounds and antioxidant capacities of bayberry juices. *Food Chem*, 2009, 113:884-888.
- 16 Yuan YV, Bone DE, Carrington MF. Antioxidant activity of dulse (*Palmaria palmata*) extract evaluated invitro. *Food Chem*, 2005, 91:485-494.
- 17 Liu CH(刘春红), Ma Y(马宇), He ZM(何忠梅), et al. Partial characterization and antioxidant activity of water-soluble polysaccharide isolate from *Bulbus fritillariae ussuriensis*. *Food Chem*(食品科学), 2011, 32(21):29-33.
- 18 Gao L(高莉), Wang YM(王艳梅), Mahemuti P(帕提吉丽·马合木提). Study on antibacterial activities of walnut diaphragm extracts. *Food Chem*(食品科学), 2008, 29(11):69-71.
- 19 Wang YM(王艳梅), Bai J(白洁), Kuerban M(马木提·库尔班), et al. Determination of total flavone and microelements from dissepiment of Walnut. *Food Sci*(食品科学), 2007, 28:477-479.
- 20 Ke CY(可成友), Liang HB(梁宏斌), Bian Q(边蔷), et al. Study on enzyme extraction processes of the coarse polysaccharide from *Schisandra chinensis*. *Res Prac Chin Med*(现代中药研究与实践), 2010, 24(2):47-50.