

超高压处理对沙棘酒催陈效果的影响

于佳琦, 许晓旭, 郭子楠, 滕飞, 双全, 夏亚男*

(内蒙古农业大学 食品科学与工程学院, 内蒙古 呼和浩特 010018)

摘要: 该研究以超高压方法处理沙棘果酒, 以理化指标、抗氧化性及风味为检测指标, 对其催陈效果进行测定。结果表明, 超高压处理对沙棘酒的pH值作用不明显, 400 MPa处理pH值略高为3.7, 糖度略有下降; 色差变化最大为77.87, 色泽上均出现肉眼可见的变化, 与原酒相比, 向红黄颜色发展, 色泽更加鲜艳。100~400 MPa超高压处理能显著增强沙棘酒的抗氧化性($P<0.05$), DPPH自由基清除能力达85.5%, 羟自由基清除能力达97.43%, 还原能力显著增强为4.07。400 MPa处理使沙棘酒口感协调, 色泽更加鲜艳, 抗氧化能力强且呈味物质相应回升, 能显著增强沙棘酒的香气, 苦味、涩回味等不良风味得到改善, 丰富度增强, 催陈效果最好。

关键词: 沙棘酒; 超高压; 理化性质; 抗氧化性; 风味

中图分类号: TS262.3

文章编号: 0254-5071(2020)03-0131-05

doi:10.11882/j.issn.0254-5071.2020.03.026

引文格式: 于佳琦, 许晓旭, 郭子楠, 等. 超高压处理对沙棘酒催陈效果的影响[J]. 中国酿造, 2020, 39(3): 131-135.

Effect of ultra high pressure on seabuckthorn wine aging

YU Jiaqi, XU Xiaoxu, GUO Zinan, TENG Fei, SHUANG Quan, XIA Yanan*

(College of Food Science and Engineering, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China)

Abstract: The seabuckthorn fruit wine was treated by ultra high pressure, and the aging effect was detected using physicochemical indexes, antioxidant properties and flavor as evaluation indexes. The results showed that the ultra high pressure treatment had no obvious effect on the pH of seabuckthorn wine, the pH of the wine with 400 MPa treatment was slightly higher, which was 3.7, and the sugar content decreased slightly. The color changes were visible, and the maximum variation of color difference was 77.87. Compared with the original wine, it developed to red and yellow color, and the color was brighter. 100~400 MPa Ultra high pressure treatment could significantly enhance the antioxidant capacity of seabuckthorn wine ($P<0.05$). DPPH radical scavenging capacity was up to 85.5%, hydroxyl radical scavenging capacity was up to 97.43%, and reduction capacity was significantly enhanced to 4.07. The seabuckthorn wine with 400 MPa ultra high pressure treatment was harmonious with brighter color and strong antioxidant ability, and the flavoring aroma rose accordingly. The aroma of seabuckthorn wine was enhanced, the bitter taste, astringent aftertaste and other undesirable flavor was improved, and the richness was enhanced, which showed good aging effect on the wine.

Key words: seabuckthorn wine; ultra high pressure; physicochemical property; antioxidant capacity; flavor

沙棘(*Hippophae rhamnoides* Linn.)又名醋柳、酸刺, 属于胡颓子科沙棘属^[1], 含有丰富的营养物质和生物活性物质。沙棘的年产量为80万t左右, 但由于沙棘口味偏酸, 使用量仅有10万t, 使得沙棘市场空缺, 产品利用率低, 进而造成了沙棘资源的极大浪费。沙棘酒是以沙棘为原料, 经过发酵生产的一种新型果酒, 保留了沙棘的强抗氧化性, 但酒香不足。酒的催陈老化能明显提升酒的风味口感。水果酒发酵和陈化香味需要一段时间的陈酿才能体现出来。刚刚发酵完成的沙棘酒质地粗糙, 很难闻, 酒香不是很协调。酒的催陈过程涉及物理、化学和生物化学变化^[2]。陈酿可以减少所需时间强化酒的典型特征^[3], 使酒的香气更加浓郁复杂^[4]。

超高压(ultra-high pressure, UHP)是将液体及气体加热

到100 MPa以上的技术, 在超高压的作用下, 食品中的各种营养物质(如蛋白质、酶、多糖、核酸等相对较大的分子)活性有所改变。它的作用一般是杀灭细菌、对食品进行加工、使酶活性降低或者消失^[5], 可以使食品的保质期延长, 改良风味, 而且不会促使食品的营养物质流失^[6]。目前, 该技术已经应用在果蔬汁^[7]、兔肉^[8]、水产^[9]、乳制品^[10]等领域。作为一种新的酒催陈技术, 超高压处理额外增加了极性分子的亲和力, 不仅增加了酒精和水分子之间的联系, 还可能在其他的极性分子之间产生更广泛、更持久的结合, 一些乙醚和酸也可能参与其中。不同物质的分子的能量增加, 分子间有效碰撞速率提高, 速率加速、使得不利于酒香气的物质逸出^[11]。段旭昌等^[12]研究发现, 随着压力的增大, 酒总体向陈化趋势变化, UHP处理过酒比未加工的新酒

收稿日期: 2019-06-28

修回日期: 2019-11-09

基金项目: 内蒙古农业大学引进优秀博士人才科研启动项目(NDYB2018-45); 内蒙古农业大学院级科创项目

作者简介: 于佳琦(1995-), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品科学。

*通讯作者: 夏亚男(1988-), 女, 讲师, 博士, 研究方向为食品科学。

味道更好,但不如传统的自然陈化的酒好。20 °C、200 MPa 处理2 h,被处理的酒味道最佳。超过400 MPa,被处理的酒失去了原有的风味。

本文考察了超高压处理对沙棘酒的催陈效果,对沙棘酒进行不同程度的超高压处理,通过对比超高压处理前后沙棘酒的理化指标、抗氧化性、风味品质的变化,探究超高压处理对沙棘酒的催陈效果,以期为沙棘酒的品质优化及沙棘产业的发展提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

野生沙棘:山西吕梁;安琪酿酒酵母:安琪酵母股份有限公司;柠檬酸氢二铵、水杨酸:天津市永大化学试剂有限公司;无水乙酸钠、无水乙醇、三氯乙酸:天津市化学试剂三厂;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picryl-hydrayl, DPPH):天津风船化学试剂有限公司;铁氰化钾、硫酸亚铁、磷酸氢二钾、三氯化铁、H₂O₂、FeSO₄:天津市科盟化工工贸有限公司。实验所用试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

SKP-01电热恒温培养箱:湖北省黄石恒丰医疗器械有限公司;HU-700CB多功能榨汁机:韩国HUROM L.S.Co., Ltd;KDC-140HR高速冷冻离心机:安徽中科中佳科学仪器有限公司;U-5100UV/VIS紫外分光光度计:日本东京Hitachi高科技有限公司;MLtraScanXE色度仪:美国Hunterlab公司;LB32T糖度计:广州市速为电子科技有限公司;PHS-3C型数显酸度计:杭州雷磁分析仪器厂;AIRSENSE PEN3电子鼻:德国AIRSENCE公司;SA402B电子舌-味觉分析系统:日本INSENT公司。

1.3 试验方法

1.3.1 沙棘酒加工工艺流程及操作要求

沙棘→筛选→清洗→澄清→榨汁→添加果胶酶→调酸→调糖→接种酵母→发酵→沙棘酒

筛选:去掉破损,霉变浆果。

添加果胶酶:按照1 g/L添加果胶酶,静置3 h。

调酸:用pH试剂确定酸度,添加NaHCO₃粉末至pH为3.7。

调糖:用手持糖度计测定其含糖量,添加白砂糖到糖含量20%。

接种酵母:安琪酿酒酵母0.2%,加入酵母所需的2%的含糖水,37 °C加入水浴锅活化30 min。

发酵:将发酵液置于恒温培养箱中在28 °C条件下恒温发酵一定时间,得到沙棘酒成品。

1.3.2 样品预处理

将发酵后的沙棘酒样品放入耐高压塑料瓶中,每瓶100 mL,密封后放入超高压设备中,用水作为介质,分别在100 MPa, 200 MPa, 300 MPa和400 MPa条件下处理,处理温度20 °C,保压20 min。未经过超高压处理的沙棘酒作为空

白对照组,测定样品的理化性质、抗氧化性及风味指标。

1.3.3 沙棘酒理化指标的测定

pH的测定:参照GB 5009.237—2016《食品安全国家标准食品pH值的测定》;

可溶性固形物的测定:参照NY/T 2637—2014《水果和蔬菜可溶性固形物含量的测定》;

色度的测定:将样品振荡混匀装入色度仪下自带的仪器中后,使用色度仪测定。

1.3.4 沙棘酒抗氧化性的测定

(1) DPPH自由基清除率的测定

参照LIU F^[13]的方法,取1 mL的沙棘酒放入试管中,再加蒸馏水1 mL,然后加入2 mL 0.04 mg/mL DPPH溶液在试管中,摇晃使其变得均匀,等待20 min,在4 000 r/min转速下离心20 min。然后取其上边澄清液体在波长517 nm处测定吸光度值A_i;再重新取沙棘酒1 mL,放入试管中,加入1 mL蒸馏水,再加入纯乙醇溶液,振荡,等待20 min,再在波长517 nm处测量吸光度值A_j,将其中的DPPH溶液和纯乙醇溶液作为空白对照吸光度值A₀。

$$\text{DPPH自由基清除率} = \left(1 - \frac{A_j - A_i}{A_0}\right) \times 100\%$$

(2) 羟自由基清除率的测定

参照徐怀德^[14]的方法,取1 mL的沙棘酒放入试管中,再加蒸馏水1 mL,然后加入2 mL 6 mmol/L FeSO₄溶液在试管中,再取上述沙棘酒2 mL 6 mmol/L H₂O₂溶液2 mL摇晃使其变得均匀,再加入6 mmol/L水杨酸溶液2 mL,等待20 min。然后取其上边澄清液体在波长510 nm处测定吸光度值A_i;再重新取沙棘酒1 mL,用蒸馏水代替H₂O₂时测得吸光度值A_j。空白对照组用蒸馏水代替不同体积沙棘酒,测得吸光度为A₀。

$$\cdot\text{OH清除率} = \left(1 - \frac{A_j - A_i}{A_0}\right) \times 100\%$$

(3) 还原力的测定

参照OYAZU M^[15]的方法,吸取沙棘酒1 mL于试管中,再加入蒸馏水1.5 mL,0.2 mol/L磷酸缓冲液(pH6.6)2.5 mL及1%铁氰化钾溶液2.5 mL,50 °C水浴20 min后急速冷却,加入10%三氯乙酸溶液2.5 mL,于3 000 r/min离心10 min。取上清液5 mL,加蒸馏水4 mL及0.1%三氯化铁溶液1 mL,混匀10 min后于波长700 nm处测定吸光值值。吸光度值越大,说明其还原能力越强。

1.3.5 沙棘酒风味指标的测定

(1) 电子舌的测定:将40 mL沙棘酒加入20 mL蒸馏水,取30 mL于样品容器中用于甜味检测,取60 mL于样品容器中用于其他味检测。电子舌测定参照王玉荣等^[16]的方法进行测定。

(2) 电子鼻的测定:将沙棘酒稀释10倍,取10 mL于试

管中50 °C水浴30 min, 待样品温度为室温后参照折米娜等的方法^[7]进行电子鼻测定。参数设置, 检测时间120 s, 清洗时间80 s, 预进样时间5 s, 进样流量400 mL/min, 载气流速400 mL/min。开始测定时传感器随时间变化开始波动, 到达110 s后开始趋于平缓, 取114 s、115 s、116 s处数据进行分析。每种样平行测定2次。

表1 电子鼻传感器敏感物质

Table 1 Sensitive substances for electronic nose sensors

阵列序号	传感器名称	性能描述
1	W1C	对芳香型化合物敏感
2	W5S	对氮氧化物敏感
3	W3C	对氨类和芳香族化合物敏感
4	W6S	对氯类敏感
5	W5C	对烷烃、芳香族化合物敏感
6	W1S	对甲基类敏感
7	W1W	对无机硫化物和萜烯类敏感
8	W2S	对醇类和部分芳香族化合物敏感
9	W2W	对芳香族化合物和有机硫化物敏感
10	W3S	对烷烃敏感

2 结果与分析

2.1 超高压处理对沙棘酒理化性质的影响

2.1.1 超高压处理对沙棘酒pH的影响

测定未经过超高压处理对照组及不同压力处理后的沙棘酒pH值, 结果见图1。

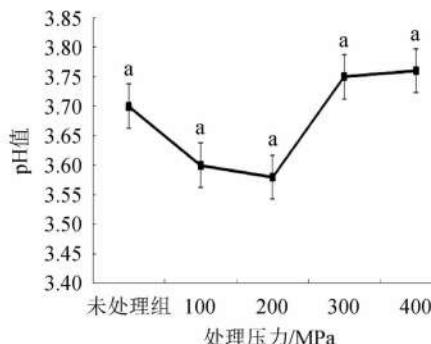


图1 超高压处理对沙棘酒pH的影响

Fig. 1 Effects of ultra high pressure treatment on pH of seabuckthorn wine

由图1可知, 未经过超高压处理的沙棘酒pH值为3.7, 此为空白对照组。随处理压力增大, 沙棘酒pH值呈现先降低后升高的趋势, 此结果与张丽华研究结果一致^[8]。在200 MPa超高压处理时, 沙棘酒pH值降至最低点为3.58, 随后pH值上升, 在400 MPa超高压处理时pH达到最高点3.76。经显著性分析发现, 超高压处理对沙棘酒的pH值作用无显著性差异($P>0.05$)。沙棘本身有较高的有机酸含量, 含糖量较少, 酿造后的沙棘酒容易过酸, 400 MPa处理下使得沙

棘酒较未处理pH略有升高, 口感更为协调。

2.1.2 超高压处理对沙棘酒可溶性固形物的影响

在常温进行不同压力超高压处理, 保压时间20 min, 结果如图2所示。

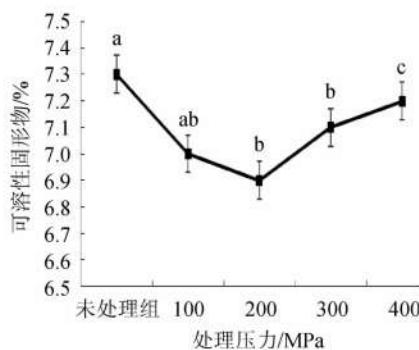


图2 超高压处理对沙棘酒的可溶性固形物含量影响

Fig. 2 Effect of ultra high pressure treatment on soluble solids contents of seabuckthorn wine

由图2可知, 在超高压处理后, 相比未处理组可溶性固形物含量均有下降且差异显著($P<0.05$)。随超高压压力增大, 沙棘酒可溶性固形物呈现先降低后升高的变化, 与pH变化趋势相似。200 MPa压力处理时, 可溶性固形物下降到6.9%, 达到最低点, 之后又显著增加($P<0.05$), 当处理压力为400 MPa时可溶性固形物增加到7.2%, 与未处理组接近。

超高压处理使可溶性固形物下降可能是由于压力较低时对酵母消耗糖产醇有着促进作用, 200 MPa效果最为明显, 超过200 MPa使得酵母基本灭活, 糖度下降趋势并不明显。

2.1.3 超高压处理对沙棘酒色度的影响

在常温, 保压时间20 min条件下进行不同压力超高压处理沙棘酒测定其色度, 得到样品色度变化, 结果见表2。

表2 超高压处理对沙棘酒的色度的影响

Table 2 Effects of ultra high pressure treatment on the chromaticity of seabuckthorn wine

处理方式	处理压力/MPa	L*值	a*值	b*值	色差ΔE
未处理组	0	4.91	26.3	70.9	
	100	35.0	-7.5	13.6	73.01
	200	24.2	-11.5	22.2	19.28
	300	46.2	22.9	11.2	72.67
	400	33.0	-11.7	9.0	77.87

由表2可知, L*值亮度经过超高压处理后明显上升, 在300 MPa压力下达到最高, 可能是由于超高压处理压力大, 内容物发生聚集而沉淀导致。与未处理组相比, 200 MPa超高压处理样品色差变化最小, 400 MPa处理的变化最大。a*值代表红/绿色调, 经超高压处理后, a*值均减小, 表明超高压处理的沙棘酒颜色均变红, 400 MPa时变红程度最强。b*值代表黄/蓝色调, 经超高压处理后, b*值也均减小,

表明超高压处理的沙棘酒颜色有变黄的趋势,也在400 MPa时变黄程度最强。通过公式计算色差 ΔE ,经超高压处理,沙棘酒均出现肉眼可见的变化,色差变化最大的是400 MPa处理的样品,与原酒相比,向红黄颜色发展,色泽更加鲜艳,变化最小的是200 MPa处理的样品。猜测色差 ΔE 值大有可能是由于内容物发生聚集而沉淀导致。色差 ΔE 变化极大,可能是由于超高压处理造成内容物聚集沉淀导致,也有可能是沙棘的残渣造成的误差。

2.2 超高压处理对沙棘酒抗氧化性的影响

2.2.1 不同压力下DPPH自由基清除能力的变化

不同压力下沙棘酒DPPH自由基清除能力的变化见图3。

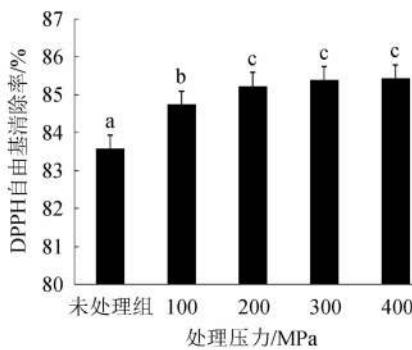


图3 不同超高压下DPPH自由基清除能力的变化

Fig. 3 Changes in DPPH free radical scavenging capacity under different ultra high pressure

由图3可知,沙棘酒进行超高压处理后,超高压组数据与未处理组差异显著($P<0.05$)。原酒的DPPH自由基清除率为83.6%,经超高压处理之后DPPH自由基清除率显著提高($P<0.05$)。当采用100 MPa处理时,DPPH自由基清除率达到84.9%,压力继续增加时,DPPH自由基清除率增强趋势更明显($P<0.05$),达到85.5%左右,表明超高压处理能显著增强沙棘酒的DPPH自由基清除率,300~400 MPa效果较好。

2.2.2 不同压力下羟自由基清除能力的变化

不同压力下羟自由基清除能力的变化见图4。

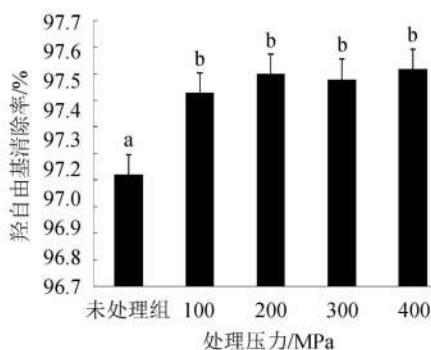


图4 不同超高压下羟自由基清除能力的变化

Fig. 4 Changes in hydroxyl radical scavenging capacity under different ultra high pressure

由图4可知,沙棘酒在进行超高压处理后,羟自由基清除率显著提高($P<0.05$),随着处理压力的升高,羟自由基清除率从97.12%上升至97.43%。而不同压力处理时,羟自由基清除率无明显差异,表明超高压处理能显著增强沙棘酒的羟自由基清除率,而处理压力的大小对羟自由基清除率的影响不大。

2.2.3 不同压力下还原力的变化

不同压力下沙棘酒还原力的变化见图5。

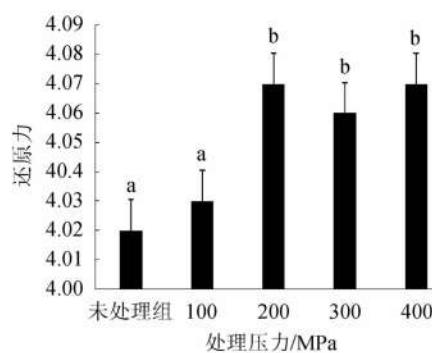


图5 不同超高压下还原力的变化

Fig. 5 Changes of reduction capacity under different under ultra high pressure

由图5可知,超高压处理对沙棘酒的还原力有一定影响。当采用100 MPa处理时,沙棘酒还原力与原酒无明显差异($P>0.05$)。与对照组和100 MPa处理组相比,当处理压力继续增大时,还原力出现显著增加($P<0.05$),表明200 MPa以上的超高压处理能显著提高沙棘酒的还原力。

2.3 超高压处理对沙棘酒风味的影响

2.3.1 超高压处理对沙棘酒滋味的影响

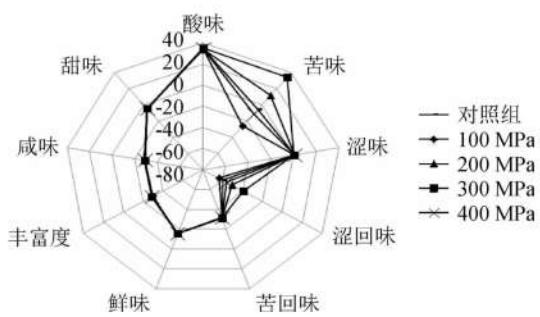


图6 超高压处理对沙棘酒滋味的影响

Fig. 6 Effect of ultra high pressure treatment on the taste of seabuckthorn wine

由图6可知,沙棘酒经过不同压力的超高压处理后,苦味、涩回味出现明显变化,在100 MPa、200 MPa处理下,达到丰富度最高点,涩回味相比新沙棘酒有明显的下降,说明适度超高压处理可以有效降低沙棘酒的涩回味。

酸味变化较低可能是由于维生素C的含量高,不易受超高压处理的影响。沙棘原料含糖量较低,在发酵过程中

酵母又分解糖产酸产气,沙棘皮含苦味物质较多,所以味道偏酸偏苦。沙棘酒未处理组由于本身含糖量较小,发酵过程消耗糖产酸产气,导致前期补糖不足,在口味上呈现酸味较多,基本没有甜味、涩味。

在200 MPa压力下,酸味,苦味,鲜味,咸味,甜味无明显变化,但苦味增加,涩回味减小,丰富度达到最高点。此结果与段旭昌等^[19]超高压技术处理对白酒物理特性和风味的影响结果相似,此时苦味和涩回味均最低,400 MPa处理苦味和涩回味较低,表明超高压处理可丰富沙棘酒滋味,消除不良风味。

2.3.2 超高压处理对沙棘酒气味的影响

由图7可知,在电子鼻检测中,W2S传感器响应值最高,其次为W1W、W1S和W5S。W2S传感器对醇类和部分芳香族化合物敏感,W1W、W1S和W5S分别对应的是对无机硫化物和萜烯类敏感,对甲基类敏感,对氮氧化物敏感。所以醇类和部分芳香族化合物,无机硫化物和萜烯类,甲基类物质以及氮氧化物对沙棘酒气味构成的贡献较大。

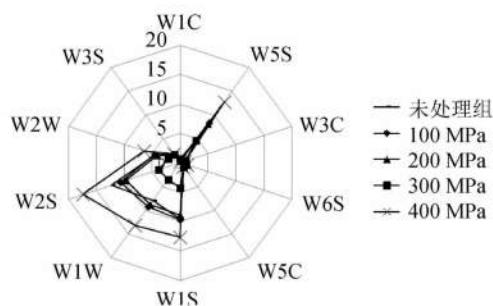


图7 超高压处理对沙棘酒气味的影响

Fig. 7 Effect of ultra high pressure treatment on the odor of seabuckthorn wine

由图7可知,氮氧化物、醇类和部分芳香族化合物、无机硫化物和萜烯类、芳香族化合物和有机硫化物、甲基类呈味物质在300 MPa压力处理下含量大幅下降,在400 MPa压力处理下超过未处理组,到达最高点。其他传感器敏感度未有明显变化。猜测原因是300 MPa是各个呈味物质的临界点,小于300 MPa压力,呈味物质随着压力升高而有所损失,超过临界值后呈味逐渐回升超过未处理组。这与叶庆^[20]的超高压对白酒的催陈实验结果相似。本实验证明超高压处理对沙棘酒气味有影响,具有催陈效果,且400 MPa效果最为明显。

3 结论

超高压处理对沙棘酒pH、可溶性固形物无明显作用,但可增强沙棘酒的色泽,与原酒相比,向红黄颜色发展,色泽更加鲜艳。超高压处理能显著增强沙棘酒的抗氧化

性,400 MPa下DPPH自由基清除能力达85.5%,羟自由基清除能力达97.43%,还原能力显著增强为4.07。因此,超高压处理可适度改善沙棘酒的品质。综合各项试验结果,表明400 MPa条件下沙棘酒抗氧化性最强,风味最佳,口感丰富度、苦味和涩回味得到改善。

参考文献:

- [1] 钟飞,蒋韵.沙棘的医疗保健价值[J].铁道医学,1990(1):51-52.
- [2] 王天将,塞华丽,卫高利,等.荔枝酒陈酿期间的电化学参数和感官品质研究[J].食品工业,2016,37(2):149-152.
- [3] FARIA C M, BAPSTADI D, MARQUES J C, et al. Automatic control of madeira wine aging process[M]. Controlo: Springer International Publishing, 2017.
- [4] DEL FRESNO J M, LOIRA I, MORATA A, et al. Application of ultrasound to improve lees ageing processes in red wines[J]. Food Chem, 2018, 261: 157-163.
- [5] 张晓,王永涛,李仁杰,等.我国食品超高压技术的研究进展[J].中国食品学报,2015,15(5):157-165.
- [6] PEREDA J, FERRAGUT V, QUEVEDO J M, et al. Effects of ultra-high pressure homogenization on microbial and physicochemical shelf life of milk[J]. J Dairy Sci, 2007, 90(3): 1081-1093.
- [7] 贾蒙,成传香,王鹏旭,等.超高压技术在果蔬汁杀菌中的应用[J].食品与发酵工业,2019,45(12):257-264.
- [8] 薛思雯,衣晓坤,于小波,等.超高压处理僵直前兔肉对其斩拌肉糜流变特性及蛋白二级结构的影响[J].食品与发酵工业,2019,45(6):77-82.
- [9] 曾凤仙,周道志.超高压技术在水产加工中的应用探讨[J].食品安全导刊,2018(30):142-143.
- [10] 邓代君.超高压技术在乳品加工中的应用[J].食品安全导刊,2018(21):144.
- [11] 叶庆,马永昆,马辉,等.超高压催陈丹阳封缸酒香气成分变化的GC-MS 分析[J].酿酒科技,2013(7):97-100.
- [12] 段旭昌,李绍峰,张吉焕,等.超高压技术处理对白酒物理特性和风味的影响[J].中国食品学报,2006(6):78-82.
- [13] LIU F. Free radical scavenging activities of mushroom polysaccharide extracts[J]. Life Sci, 1997, 60(10): 763-771.
- [14] 徐怀德,闫宁环,陈伟,等.黑莓原花青素超声波辅助提取优化及抗氧化性研究[J].农业工程学报,2008(2):264-269.
- [15] OYAIZU M. Studies on products of browning reaction: antioxidative activity of products of browning reaction[J]. Jpn J Nutr, 1986, 40: 307-315.
- [16] 王玉荣,张俊英,潘婷,等.籼米米酒和糯米米酒品质的评价[J].食品与发酵工业,2017,43(1):186-191.
- [17] 折米娜,王玉荣,刘康玲,等.毕赤酵母对酸粥风味品质形成的评价[J].食品研究与开发,2019,40(2):1-6.
- [18] 张丽华,李珍珠,王维静,等.不同杀菌方式对低醇枣酒品质的影响[J].中国酿造,2018,37(12):106-111.
- [19] 段旭昌,李绍峰,张吉焕,等.超高压技术处理对白酒物理特性和风味的影响[J].中国食品学报,2006(6):78-82.
- [20] 叶庆.超高压催陈丹阳封缸酒及其品质影响的研究[D].镇江:江苏大学,2013.