**Impacto de los distintos procesos industriales en los polifenoles presentes en frutas**

Concellón A, Vicente AR, Viña SZ, Lemoine ML, Rodoni L, Zaro MJ, Hasperué J, Massolo JF, Ortiz CM, González Forte L, Quinteros Natalia, Valerga L, Darré M, Ortiz Araque LC, Pintos F

GITeP, *Grupo de Investigación en Tecnología Poscosecha.* CIDCA, *Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos* (CONICET-UNLP-CICPBA). Calles 47 y 116 s/n, (1900) La Plata, Buenos Aires, Argentina. E-mail: [analia.concellon@gmail.com](mailto:analia.concellon@gmail.com)

La OMS recomienda como objetivo poblacional la ingesta de un mínimo de 400 g diarios de FyH (excluidas las patatas y otros tubérculos), sin embargo en general, la ingesta de la población está por debajo de ese valor. Esta recomendación considera a las FyH frescas, por lo que desde hace ya algunas décadas se ofrecen FyH frescas cortadas o listas para usar con el fin de que el consumo se incremente dada la practicidad y gran facilidad de uso. Sin embargo, debido a la limitada vida útil poscosecha de las FyH frescas y saturación del mercado en época de plena producción, se efectúan diversos procesamientos tratando de emplear las FyH o subproductos como alimentos o ingredientes nutracéuticos en alimentos y bebidas funcionales. Esta también es una alternativa viable para incrementar la ingesta de los mismos y con ello incorporar a la dieta sus propiedades benéficas. Los diferentes procesamientos pueden afectar notablemente la retención de PFs en el producto final. Se debe tener presente que en muchos casos, dependiendo del polifenol estudiado, las pérdidas varían más con el tipo de FyH que con el proceso en sí. Existen bases de datos que agrupan los resultados de numerosas investigaciones al respecto. Algunas de ellas son: a) Phenol-Explorer (<http://phenol-explorer.eu/>) contiene composición detallada de PFs de más de 450 productos frescos y procesados; b) USDA National Nutrient Database (<https://ndb.nal.usda.gov/ndb/nutrients/index>) contiene la tabla nutricional de cada producto fresco o procesado; c) EUROFIR (<http://www.eurofir.org/>) contiene la tabla nutricional de cada producto fresco o procesado.

**Estabilidad:** El contenido de PFs suelen disminuir significativamente con el aumento de la temperatura, ya que se catalizan las reacciones de oxidación e hidrólisis. Sin embargo, en la bibliografía el grado de alteración de los PFs debido al procesamiento que implique un tratamiento térmico varía ampliamente. Esta disparidad tiene su base en que por un lado los PFs son parte de una gran matriz vegetal que puede protegerlos o no y por otro que los procesamientos involucran pasos y condiciones diferentes. Se postula que el incremento de PFs luego del procesamiento con calor estaría relacionado con: 1-una mejora de la capacidad de extracción de los PFs tanto aquellos que previamente hayan formado complejos o polimerizado como aquellos que estuvieran ligados a pared celular (Peleg et al., 1991); 2-la retención de PFs debido a la inactivación de enzimas involucradas en su catabolismo (Scalzo et al., 2004).

Los PFs son sensibles a cambios en pH, estudios han demostrado que existe una degradación oxidativa de dichos compuestos en medios alcalinos, demostrado una mejor estabilidad en pH por debajo de 5.0.

Los PFs suelen presentarse formando O-glicósidos ya que les confiere mayor estabilidad.

**TIPOS DE PROCESAMIENTO**

Algunos de los tipos de procesamiento a los cuales pueden ser sometidos las frutas son: fresco cortado, tratamiento con agua o vapor (escaldado, hervido, al vapor), deshidratado (secado con aire caliente, secado en spray, liofilización), encapsulado, congelado, enlatado, bebidas, dulces, chocolates.

**1- FRUTAS FRESCAS CORTADAS** **(PROCESAMIENTO MÍNIMO)**: El cortado involucra destrucción de las células de la línea de corte y con ello la descompartamentalización de enzimas y sustratos que llevan al consumo y oxidación de PFs; y por otro lado el incremento del estrés oxidativo que consume PFs como antioxidantes. Muchos PFs se encuentran en mayor concentración en la piel de las frutas (manzana, pera, ciruelas, duraznos, etc), por lo que se pierden en el proceso de pelado y con ello una gran fuente de capacidad antioxidante. Así, en duraznos pelados, se pierde entre un 13-48% de PFs dependiendo del estado de madurez (Asami et al., 2002). En manzanas Red Delicious peladas se pierde cerca de un 42% del valor de ORAC. También el trozado de la fruta involucra cambios en el nivel de PFs, ya que puede incrementarse debido probablemente a una síntesis de los compuestos en respuesta al estrés por corte (Abdallah et al., 1997)

**2-TRATAMIENTOS CON AGUA O VAPOR**

2.1. Escaldado: es el tratamiento con agua o vapor a altas temperaturas por un período muy corto de tiempo. En general se emplea para inactivar enzimas oxidativas como PPO y POD presentes en FyH, en las etapas iniciales de procesamiento. Estas enzimas emplean PFs como sustrato y deterioran el producto final formando productos poliméricos, conocido como pardeamiento enzimático (Smith et al., 2005). Por lo tanto, no sólo afectan la concentración de PFs en el producto final, sino también provocan una alteración visualmente con el consecuente rechazo por parte del consumidor. Dependiendo del producto, este tratamiento se efectúa en el producto fresco previo al procesado; mientras que en otros casos, se preserva congelado el fruto y se escalda directamente sin ser descongelado, lo que permite una mejor retención de PFs (Brownmiller et al. 2008). Además del escaldado también se han ensayado alternativas como radiación UV-C, pulsos eléctricos, microondas, altas presiones hidrostáticas y ultrasonido.

2.2. Hervido: Los PFs son solubles en agua, por lo que resultan susceptibles de lixiviar ante el proceso de hervido. La base de datos Phenol-Explorer reporta un factor de retención de 0.59 y con muy alta dispersión de los resultados (Rothwell et al., 2014). Producto del hervido, el fruto se ablanda y presenta disrupción celular, con la consecuente liberación de compuestos. Sin embargo, estos compuestos pueden lixiviar al agua disminuyendo la retención de PFs o bien quedar disponibles en la matriz, facilitando su extracción y aumentando la retención de PFs y capacidad antioxidante del fruto hervido. Esto contribuye a la gran dispersión de datos en bibliografía y muestra que la matriz de la fruta es determinante en el resultado obtenido.

2.3. Al vapor: Generalmente, el proceso de cocción al vapor provoca una pérdida de los PFs, pero en algunos casos un aumento. Aquí también los reportes son muy variables, ya que puede presentarse degradación de PFs por la temperatura y tiempo de exposición, pero también un efecto similar al mencionado anteriormente en hervido (ablandamiento, disrupción celular, mayor disponibilidad de PFs).

**3. DESHIDRATADO**

3.1. Secado por aire caliente: Permite eliminar el agua del fruto entero o trazado exponiéndolo a una fuente de calor (sol, horno, túnel de aire caliente, etc). El producto seco puede quedar con una textura blanda o flexible. En general, se observa un marcado descenso en la retención (5-70%) de PFs y ello depende del tipo de secado y condiciones empleadas, lo cual confiere una gran variabilidad de reportes en bibliografía. La temperatura y tiempo de exposición son determinantes en ello. Así los tratamientos con altas temperaturas afectan notablemente la retención de flavonoides (Kamiloglu et al., 2015). En rodajas de manzana secada con aire caliente a 47 ºC-7h se retuvo un 73% de quercetina-3-O-galactósido mientras que secada en horno a 70 ºC-10h se retuvo un 57% (Joshi et al. 2011).

3.2. Secado en spray: Esta metodología permite la eliminación del agua de líquidos o jugos y otorga un polvo de muy buena calidad, utilizado para la obtención de jugos en polvo. Se suelen agregar maltodextrinas u otros componentes de alto peso molecular, que ayudan a una exitosa obtención del polvo, mejorando las propiedades físicas y conservando en mayor o menor medida los componentes de interés, entre ellos los antioxidantes del producto a deshidratar. Así en jugos de granada y manzana en proporción 75/25, se retuvo en general un 60% de PFs, y en particular el empleo de goma arábiga:maltodextrina (80:20) fue la mejor combinación como material de ayuda para el secado (Ochoa-Martinez et al., 2011). A su vez, los polvos poseen una mejor capacidad de rehidratación que los secados por aire caliente.

3.3. Liofilizado: permite eliminar el agua por sublimación desde el producto congelado y aplicando vacío. La fruta se conserva con una apariencia parecida al estado natural, pero libre de agua y con aspecto ligero y crujiente. Si bien es un proceso caro, otorga un producto de muy buena calidad y en el cual se logra una muy buena retención de nutrientes, entre ellos los PFs, al no emplear calor en el proceso. La retención de PFs luego de la liofilización fue de: 90% para melón, 76% para carambola y mango, 60% para papaya y 52% para sandía (Shofian et al., 2011), indicando que la matriz de la fruta es de suma importancia. Sin embargo, permiten concentrar los PFs, ya que podría estimarse que dos cucharadas de frambuesas liofilizadas contienen los antioxidantes de una taza completa de la fruta fresca.

**4. ENCAPSULADO**: Dada la gran labilidad de los PFs, se ha incursionado en la encapsulación de los mismos por distintas metodologías: secado en spray, liofilización, inclusión, emulsión, nanopartículas, etc. La encapsulación confiere una mayor estabilidad a los PFs y permite su uso en bebidas no alcohólicas, lácteos, rellenos, productos cosméticos, etc. En los últimos años se ha avanzado en lograr la encapsulación del vino tinto por liofilización en presencia de maltodrextina obteniendo un polvo libre de alcohol y aromas, y en el cual quedan retenido los PFs (3.6 veces más concentrado) y demás componentes del vino (Galmarini et al., 2013).

**5. RADIACIÓN**: La aplicación de radiación UV genera in marcado incremento de radicales libres (estrés oxidativo) en el fruto, y los sistemas de defensa antioxidante enzimáticos y químicos responden secuestrándolos. Así, los PFs actúan como antioxidantes químicos y disminuyen su contenido en el fruto. Sin embargo, la biosíntesis de PFs puede exaltarse a tiempos muy cortos permitiendo recuperar el nivel inicial y hasta lograr niveles superiores. Así, esta tecnología puede combinarse con un posterior procesamiento (congelado) y disponer de productos con mayor contenido de PFs inicial (Darré et al., 2017).

**6. CONGELADO**: Generalmente, el proceso de congelado provoca una pérdida muy leve de los PFs y en algunos casos un aumento. La base de datos Phenol-Explorer reporta un factor de retención del 0.88 y con baja dispersión de los resultados (Rothwell et al., 2014). Gonzalez et al., (2003) reportó en mora congelada una pérdida del 8 y 15% en fenólicos totales y antocianinas, respectivamente. Mientras que, trabajando con frambuesa congelada, hallaron un aumento de más del 40% de antocianinas para los cultivares de cosecha temprano y una pérdida del 17% en los cultivares de cosecha tardía. Asami et al., (2002) hallaron un aumento del 30% en duraznos pelados. El proceso de descongelado posterior es crucial ya que se restablecen reacciones que estaban lentificadas o inhibidas en el producto congelado y que pueden conducir a la disminución de PFs. Así, en muchos casos se suelen agregar ácido ascórbico o SO2 como antioxidantes durante el descongelado para preservar los PFs. A su vez, en otros casos, se evita el descongelado y la fruta o puré congelado se introduce directamente en el tratamiento posterior.

**7. ENLATADO**: Se ha reportado un marcado descenso de PFs ante los tratamientos térmicos del enlatado. En algunos casos, los PFs se pierden en la fruta pero son retenidos en el líquido (salmuera o jarabe) (Hong *et al*. 2004). Los berries enlatados retienen un 72% de antocianinas y cerca del 10-17% difunde al almíbar (Howard et al., 2012). El escaldado con vapor de los berries previo al enlatado reduce el nivel de antocianinas en los frutos e incrementa el nivel en el almíbar como consecuencia del ablandamiento de los frutos (Howard et al., 2012). Por otro lado, cuando las frutas son envasadas al vacío o enlatadas sin medio líquido pueden hallarse menores pérdidas de PFs (Asami et al., 2002).

**8. BEBIDAS:** Diversas frutas son destinadas a la elaboración de jugos y bebidas alcohólicas (vino, espumante, sidra, etc). En particular, la uva y el vino, su principal subproducto poseen diversos PFs: flavonoides (antocianinas, flavonoles), estilbenos (resveratrol), fenoles simples y taninos. La capacidad antioxidante ORAC difiere según la variedad de uva, siendo en orden creciente: Merlot, Cavernet Franc, Cavernet Sauvignon y Malbec (Fontana et al., 2017). La dieta Mediterránea contempla el consumo moderado de vino y ello explica la menor incidencia de eventos cardiovasculares en Francia (“paradoja francesa”) respecto de otros países industrializados, siendo los PFs del vino los responsables de este efecto benéfico.

La preparación de jugos involucra varios pasos, algunos de ellos se describen a continuación:

*Tratamiento térmico:* Como ya se mencionó, las enzimas oxidativas (PPO, POD) suelen ser inactivadas en las etapas iniciales de procesamiento mediante un escaldado del producto fresco o congelado.

*Triturado***:** Este paso puede involucrar una disminución de PFs, pero también un mayor contenido de compuestos fenólicos simples producto de la hidrólisis de PFs más complejos. Asi, cuando las frutillas son trituradas a puré se halla una mayor contenido de ácido elágico y menor de elagiotaninos (Truchado et al., 2012). En otros casos, durante el triturado se suele agregar ácido ascórbico o SO2 para que ejerza su efecto antioxidante protector y más eficiente que los PFs y así preservar estos últimos (Oszmianski et al., 2009).

*Prensado*: En la torta de prensado hay una gran cantidad de PFs, por lo que es positivo su empleo en el posterior jugo o bebida (ej. berries), mientras que se pierden sus propiedades cuando éste es un residuo (ej. pomáceas).

*Tratamiento enzimático*: Se suelen agregar enzimas pectolíticas que digieren la pared celular, disminuyen la viscosidad y reducen la capacidad de ligar agua de los purés. También aumentan la liberación de los PFs de las partes sólidas, lo que incrementa la densidad del color, el contenido de antocianinas y fenólicos totales cuando se agregan a mosto de uvas rojas. Otras enzimas liberan las agliconas de los glicósidos de flavonoles, incrementando los niveles de PFs diferentes en el producto final. En grosella negra, el tratamiento enzimático del puré incrementa la producción de PFs totales, antocianinas, derivados de ácido hidroxicinámico y glicósidos de flavonol en el producto final (Laaksonen et al., 2012).

*Fermentación*: es la producción de etanol y CO2 como resultado del metabolismo de azúcares por parte de levaduras. Se observan diferencias en el perfil de PFs dependiente de la cepa de levaduras usadas(Kammerer et al., 2009).

*Clarificado*: Este paso involucra la separación de los sólidos (ej. proteínas, pectinas y algunos PFs) del jugo. Tanto el método de separación como la fruta en cuestión afectan la retención de PFs en el jugo, ya que en muchos casos los PFs quedan en el pellet y en especial cuando se hallan en la piel (berries, uvas). En los jugos de berries se observa una retención de antocianinas del 41% cuando son clarificados, mientras que asciende a 72% en jugos no clarificados (Howard et al., 2012).

Pasteurizado: La base de datos Phenol-Explorer reporta un factor de retención de 1 y con una dispersión intermedia de los resultados (Rothwell et al., 2014). En este proceso no suelen haber pérdidas significativas de PFs y contribuye a disminuir notablemente la carga microbiana e inactivación de enzimas aún activas.

**9. DULCES:** La generación de dulces implica la exposición al calor y esto puede reducir el nivel de PFs como ya se mencionó. La base de datos Phenol-Explorer reporta un factor de retención de 0.73, pero con gran dispersión de los resultados (Rothwell et al., 2014). La cocción de frutillas enteras con azúcar para hacer dulces resulta en una pérdida de PFs (15% quercetina, 18% kaemferol) (Hakkinene at al., 2000); mientras que en otros berries la cocción con azúcar y agua provoca una reducción del 40% de quercetina. La temperatura de trabajo es de suma importancia, así el contenido de antocianinas en purés de frambuesa disminuye notablemente ante tratamientos de 100-140 °C y en mucha menor medida a 20-100 °C (Verberyst, et al., 2012). En estos procesos pueden generarse reacciones de Maillard (entre azúcares y proteínas, principalmente) generando productos que poseen capacidad antioxidante, lo que justifica en muchos casos que ante una disminución de los PFs se observe un incremento de la capacidad antioxidante. En dulces sin azúcar se observa una mayor concentración de dímeros de procianidinas (tanino condensado). Cuando los dulces se efectúan solo con la pulpa, se está eliminando la piel y semillas (ej: membrillo, manzana, pera, durazno) y con ello una gran proporción de PFs.

**10. CHOCOLATES:** El cacao posee un alto contenido de flavanoles y se emplea para la obtención de chocolates con leche, chocolate amargo o cacao en polco. La capacidad antioxidante varía entre 0.23 en chocolate blanco hasta 14.98 mmol/100 g en chocolate amargo denotando el incremento del contenido de cacao en el producto final (Carlsen et al., 2010). Se ha reportado que el chocolate deberá tener no menos de 60-70% de cacao para que ejerza un efecto benéfico sobre la salud humana (hipertensión, enfermedades cardiovasculares, etc), lo cual elimina de este segmento a aquellos chocolates consumidos habitualmente como golosinas.

**REFERENCIAS**

Abdallah, A.Y., Gil, M.I., Biasi, W., Mitcham, E.J. 1997. Inhibition of superficial scald in apples by wounding: Changes in lipids and phenolics. *Postharv.t Biol. Technol.* 12: 203–212.

Asami DK, Hong YJ, Barrett D, Mand Mitchell AE, 2002. Processing induced changes in total phenolics and procyanidins in clingstone peaches. *J Sci Food Agric* 83:56–63.

Brownmiller, C.; Howard, L. R.; Prior, R. L. Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric color, and antioxidant capacity of processed blueberry products. *J. Food Sci*. 2008, 73, H72−H79.

Carlsen MH, Halvorsen BL, Holte K, Bohn, SK; Dragland, S; Sampson, L. et al.., R. 2010. The total antioxidant content of more than 3100 foods, beverages, spices, herbs and supplements used worldwide. *Nutr J*.;9-3.

Darré, M., Valerga, L., Ortiz-Araque, L.C., Lemoine, M.L. Demkura, P.V. Vicente A.R., Concellón. A. 2017. Role of UV-B radiation dose and intensity on color retention and antioxidant elicitation in broccoli florets (*Brassica oleracea* var. Italica). *Postharv Biol Technol*. 128, 76-82

Fontana, A.; Antoniolli, A.; Damario Fernández, A.; Bottini, R. 2017 Phenolics profiling of pomace extracts from different grape varieties cultivated in Argentina. *RSC Advances*; 7, 29446 – 29457

Galmarini, M. V, Maury, C., Mehinagic, E., Sanchez, V., Baeza, R. I, Mignot, S., Zamora, M. C, Chirife, J. 2013. Stability of individual phenolic compounds and antioxidant activity during storage of a red wine powder. *Food Biop Technol, 6*(12), 3585-3595.

González EM, de Ancos B, Cano MP, 2003. Relation between bioactive compounds and free radical-scavenging capacity in berry fruits during frozen storage. *J Sci Food Agric* 83:722–726.

Häkkinen SH1, Kärenlampi SO, Mykkänen HM, Törrönen AR. 2000. Influence of domestic processing and storage on flavonol contents in berries. *J. Agric. Food Chem*. 48, 2960-2965

Hong YJ, Barrett DM, Mitchell AE, 2004. Liquid chromatography/ mass spectrometry investigation of the impact of thermal processing and storage on peach procyanidins. *J Agric Food Chem* 52:2366–2371.

Howard L., Prior R., Liyanage R., Lay, J. 2012. Processing and storage effect on berry polyphenols: challenges and implications for bioactive properties. Review. *J. Agric. Food Chem*.

Joshi, A.P.K., Rupasinghe, H.P.V., Khanizadeh, S. 2011. Impact of drying processes on bioactıve phenolics, vitamin C and antioxidant capacity of red-fleshed apple slices. *J. Food Process. Preserv*. 35: 453-457.

Kamiloglu, S., Toydemir,G., Boyacioglu, D., Beekwilder, J., Hall, R.D, Capanoglu, E. 2015. Review on the effect of drying on antioxidant potential of fruits and vegetables. *Critical Rev Food Sci Nut*. 56, S110-S129.

Kammerer, DR., Carle, R. 2009. Evolution of polyphenols during vinification and wine storage. *Func Plant Sci Biotechnol*. 3, 46-59.

Laaksonen, O.; Sandell, M.; Nordlund, E.; Heiniö, R.; Malinen, H.; Jaakkola, M.; Kallio, H. 2012. The effect of enzymatic treatment on blackcurrant (*Ribes nigrum*) juice flavour and its stability. *Food Chem.*, *130*, 31–41.

Ochoa-Martinez, L. A., González-Herrera, S. M., Morales-Castro, J., Rocha-Guzmán, N. E., Trancoso-Reyes, N., Urbina-Martinez, M. J. 2011. Propiedades de rehidratación y funcionales de un producto en polvo a base de jugo de granada y manzana. *Ciencia@UAQ*, 4(2), 19-25.

Oszmianski, J.; Wojdylo, A.; Kolniak, J. 2009. Effect of enzymatic mash treatment and storage on phenolic composition, antioxidant activity, and turbidity of cloudy apple juice. *J. Agric. Food Chem.*, *57*, 7078–7085.

Peleg, H., Naim, M., Rouseff, R.L., Zehavi, U. 1991. Distribution of bound and free polyphenolic acids in oranges (*Citrus sinensis*) and grapefruit (*Citrus paradise*). *J Sci Food Agric.* 57: 417–426.

Rothwel JA., Medina-Remón A., Perez-Jimenez J., Neveu V., Knaze V., Slimani N., Scalbert A.2014. Effects of food processing on polyphenol contents: A systematic analysis using Phenol-Explorer data *Mol. Nutr. Food Res.* 2014, *00*, 1–11

Scalzo, R.L., Iannoccari, T., Summa, C., Morelli, R., Rapisarda, P. 2004. Effect of thermal treatments on antioxidant and antiradical activity of blood orange juice. *Food Chem.* 85: 41–47.

[Shofian NM](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Shofian%20NM%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=21845104), [Hamid AA](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Hamid%20AA%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=21845104), [Osman A](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Osman%20A%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=21845104), [Saari N](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Saari%20N%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=21845104), [Anwar F](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Anwar%20F%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=21845104), [Dek MS](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Dek%20MS%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=21845104), [Hairuddin MR](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Hairuddin%20MR%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=21845104). 2011. Effect of freeze-drying on the antioxidant compounds and antioxidant activity of selected tropical fruits. [*Int J Mol Sci.*](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21845104) ;12(7), 4678-92.

Smith JP, Zagory D, Ramaswamy HS, 2005. Packaging of fruits and vegetables, in *Processing Fruits*, ed. by Barrett DM, Somogyi L and Ramaswamy HS. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 355–395.

Truchado, P.; Larrosa, M.; García-Conesa, M.T.; Cerd , B.; Vidal-Guevara, M.L.; Tomás-Barberán, F.A.; Espín, J.C. 2012. Strawberry processing does not affect the production and urinary excretion of urolithins, ellagic acid metabolites, in humans. *J. Agric. Food Chem. 60*, 5749–5754.

Verberyst, L.; Hendrickx, M.; van Loey, A. 2012. Characterisation and screening of the process stability of bioactive compounds in red fruit paste and red fruit juice. *Eur. Food Res. Technol. 234*, 593–605.