تحسين الخصائص العلاجية للعسل المنتج بعد تدعيم غذاء النحل بمستخلص العرقسوس

حميد عوده عبد أحمد جاسم الشمري رؤى عبد السادة جبار أحمد صالح ساجت محمد جعفر كاظم
وزارة العلوم والتكنولوجيا– دائرة البحوث الزراعية ، بغداد– العراق ص .ب.2026

الخلاصة

يهدف البحث الى استعمال المستخلص المائي الساخن لجذور العرقسوس في تدعيم الغذاء المعد لتغذية النحل ودراسة تأثيره على نشاط طوائف النحل من خلال انتقال المواد الفعالة الى العسل إضافة الى تحسين قيمته الغذائية. أظهرت نتائج دراسة التركيب الكيميائي لجذور صنفين من العرقسوس (الروسيV1 و الاسيويV2) المزروعة في محافظة واسط ,ان النوع الاسيوي V2 كان الأعلى محتوى من المواد الفينولية الكلية والمكونات التغذوية , كما بينت نتائج معاملات المستخلص المائي الساخن لمسحوق العرقسوس (T2,T1 , T3 , T4, T5 , و T6) المستخدمة في تغذية النحل وأختبار تأثيرها في نوعية وخواص العسل المنتج وبعض الجوانب الحياتية لطوائف النحل, أن المعاملة T4 20% (عرقسوس 2 حجم خ2:1 حجم خ2) أعطت أعلى نشاط لطوائف النحل, وتراوحت نسب قبول التغذية بين 80–100% , أما مساحة العسل كانت أكثر بحوالي 33% مقارنة بمعاملة السيطرة. درست العلاقة بين نسبة مستخلص العرقسوس المضافة بالتغذية الاصطناعية و بين بعض الخواص النوعية للعسل الناتج ووجد انها تتناسب طرديا مع شدة اللون و الرطوبة و الرماد و السكريات المحولة و فعالية انزيم الدایاستیز، وعكسيا مع نسب السكروز واللزوجة .

كما قدر المحتوى الكلي للمركبات الفلافونيدية في العسل المدعم ب 20% عرقسوس, حيث بلغ (8.72 مكافئ كيورستين/كغم عسل) مقارنة بمعاملة السيطرة (3.50 مكافئ كيورستين/ كغم عسل) وتم تشخيص وتقدير مركب Glycyrrhizin ,بالإضافة لستة مركبات فلافونيدية بالعسل المدعم.

الكلمات المفتاحية: تغذية النحل ، عرقسوس ، حامض الكليسيرهيزيك ، خواص العسل

Improving the therapeutic properties of produced honey after supplementing bee food with licorice extract

AL-Saeidi,H.A . AL-Shammary, A. Ruaa, A. Jabbar Sajet, A. S. Khadum, M.J.
Ministry of science and Technology- Agricultural research Directorate
Baghdad – Iraq , P. O. Box: 2026

Abstract

The research aims to use the hot aqueous extract of licorice roots in fortifying the food prepared for feeding bees and studying its effect on the activity of bee colonies through the transfer of active substances to honey in addition to improving its nutritional value. The results of the study of the chemical composition of the roots of two varieties of licorice (Russian V1 and Asian V2) cultivated in Wasit Governorate showed that the Asian type V2 had the highest content of total phenolic substances and nutritional components, as indicated by the results of the hot aqueous extract of licorice powder (T1, T2, T3, T4). , T5, and T6) used in bee feeding and to test their effect on the quality and properties of honey produced and some aspects of life of bee colonies, that the treatment T4 20% (licorice 2, size x 2: 1 size, x2) gave the highest activity for bee colonies, and the feeding acceptance ratios ranged between 80 -100%, and the area of honey was 33% more than the control treatment. The relationship between the percentage of licorice extract added with artificial feeding and between some specific properties of the resulting honey was studied, and it was found that it is directly proportional to the intensity of color, moisture, ash, converted sugars and the activity of the enzyme diastase, and inversely with the proportions of sucrose and viscosity. The total content of flavonoids in fortified honey was estimated at 20% licorice, reaching (8.72 quercetin equivalent / kg honey) compared to the control treatment (3.50 quercetin equivalent / kg honey). Glycyrrhizin was diagnosed and estimated, in addition to six flavonoids in fortified honey.

Keywords : Honey feeding, Licorice, Glycyrrhizic acid, Honey properties.

المقدمة

يعد العسل مادة تحلية طبيعية ومصدرا غنيا بالمركبات الفينوليةوالفلافونيدية[1] وتعتمد الخواص النوعية للعسل على نوع المصدر النباتي والموقع الجغرافي للمناخ و بالإضافة لظروف التصنيع والخزن[2]. يتكون العسل بصورة رئيسية من الكربوهيدرات والماء والمغذيات الدقيقة والحوامض العضوية والانزيمات بالإضافة للفيتامينات والمعادن [3].

يحتاج نحل العسل الى الغذاء لنموه و تكاثره ، والذي يحصل عليه من الرحيق وحبوب اللقاح الموجودة بأزهار النباتات اثناء موسم الازهار.يلجأ النحالون خارج موسم الازهار خصوصا اثناء فصل الشتاء الى التغذية الصناعية البديلة المكونة من محاليل سكرية و بعض المصادر النباتية لسد حاجة النحل مما ينعكس على تدهور نوعية العسل المنتج [4].

ادخلت مستخلصات النباتات والاعشاب الطبية (منها العرقسوس) في تحضير غذاء النحل لأجل تدعيم الخواص العلاجية وتحسين كفاءة طوائف النحل وزيادة كمية العسل المنتج.

استعملت جذور العرقسوس كونها تحتوي على مواد صابونينيه ثلاثية التربنتين وهي عبارة عن كليسرايزين Glycyrrhizin تصل نسبته بالجذور الى 6% كما تحتوي على ايزوفلافوناتمثل ليكيريتينابويساید Liquiritinapioside وفورمونونينيتين Fomononetin كما يحتوي على الكوماتاكينينKumatakenin وغيرها من المواد الفينولية [5].

دأبت الدراسات الطبية والصيدلانية على استعمال مستخلص العرقسوس في الادوية المخصصة لعلاج امراض كثيرة منها التهاب الحنجرة والسعال المصحوب بالبلغم وضعف التنفس ،علاج قرحة المعدة ، الروماتزم والاثني عشري ،التهاب الكبد الفيروسي وغيرها. بينت الأبحاث إن المواد الفعالة في العرقسوس ومنها حامض الكليسيرهيزيكGlycyrrhizic acid الذي له مفعول مضاد للالتهابات شبيه بمفعول الهيدروكورتيزون وغيره من الهورمونات الكورتيكوردية، فهو ينبه إنتاج الغدد الكظرية للهورمونات ومولد للأستروجين، يخفض تفكيك الستروييدات في الكبد والكلى. يقوم عرق السوس على تخفيض افرازات المعدة لكونه ينتج مخاطاً كثيفاً وقائياً لبطانة المعدة مما يجعله علاجاً فعالاً في حالات التهابات المعدة [6,5].

يهدف البحث الى ادخال المستخلص المائي المغلي للعرقسوس في التغذية الاصطناعية لنحل العسل بقصد زيادة نشاط طوائفه وتحسين الخواص العلاجية لعسل المنتج منها.

مواد وطرائق العمل

– **المواد الاولية:** تم الحصول على الجذور لصنفين من العرقسوس المزروعة في محافظة واسط هما الروسيV1والاسيوي V2حيث جرى تقطعها بالمنشار ثم تحويلها الى نشارة بواسطة المجراشة ثم اعدت بهيئة مسحوق بواسطة طاحونة مختبرية ، وقدرت له المكونات التقريبية ومحتوى العناصر المعدنية[AOAC, 1990].

– **تحليل المكونات الرئيسية ،محتوى المواد الفينولية بأصناف العرقسوس.**

* حضر المستخلص المائي الساخن للعرقسوس (20 % مسحوق العرقسوس) حسب ما توصل اليه الشمري وجماعته في دراسة سابقة [14] والشروع بتقسيم خلايا النحل الى مجاميع لتغذيتها بالمستخلص المحضر أعلاه بالإضافة لمعاملة السيطرة التي غذيت على المحلول السكري المضاف له طحين الصويا.

– **مراحل التغذية**

غذيت طوائف النحل *Apis mellifera* بمحلول السكروز ومغلي الصويا بنسبة (1:1) لمدة أسبوعين لتحفيز الطوائف على بناء أقراص الشمع، وأعطي الرمز خ1 لمعاملة السيطرة بدون عرق السوس ، والرمز خ2 لمستخلص عرق السوس 20%مغلي بالاوتوكليف، بعدها قسمت المعاملات الى:

*T1 (معاملة سيطرة بدون عرقسوس) ، T2 (خ2= 100% عرقسوس) ، T3(1 حجم خ1: 3 حجم خ2) ، T4 (2 حجم خ1: 2حجم خ2)، T5(3 حجم خ1:1 حجم خ2)، T6(تغذية النحل تغذية طبيعية) .

قيس محتوى الرطوبة والرماد حسب الطريقة الواردة في [8] ، كما جرى قياس تركيز السكريات المحولة والسكروز في العسل بطريقة لين – أينون [9] و قدرت فعالية انزيم الدياستيز حسب طريقة Phadebas [10] وقدر محتوى مركب Hydroxy methyl furfural (HMF) بالعسل بطريقة كروموتغرافيا السائل المذكورة في [11].

تم متابعة مدى تقبل طوائف النحل لمعاملات العرقسوس ومدى تأثير هذه المستخلصات على بعض الجوانب الحياتية لخلايا النحل (مساحة العسل، مؤشر قبول التغذية ، مؤشر وجود أمراض ومؤشر وجود متطفلات) ولمدة 60 يوما بدءا من يوم 3/1 [4].

– **التحليل الكيمياوي للعسل**

تم قياس محتوى العناصر المعدنية النزرة في نماذج العسل المدعم بالعرقسوس بجهاز المطياف الذري نوع Shimadzu وكما يأتي:

وزن 5 غم من العسل وزنا دقيقا داخل بيكر زجاجي سعة 120 مل واضيف لها خليط من الحوامض المؤكسدة (25 مل حامض النتريك المركز و 10 مل حامض البيركلوريك المركز) وسخنت المحتويات على

سطح ساخن للتخلص من المواد العضوية و لحين تحول محتويات البيكر الى الشكل الرائق. أستمر بالتسخين لحين جفاف محتويات البيكر، تنقل محتوياته كميا الى قنينة حجمية سعة 50 مل ثم أكمل الحجم بالماء المقطر اللايوني لتصبح العينة جاهزة للتحليل بمطياف الامتصاص الذري[12]

* قدر تركيز المواد الفينولية الكلية في العرقسوس بطريقة التفاعل مع كاشف فولن وحسب الطريقة المذكورة في [13]، ولقياس المحتوى الكلي للمركبات الفلافونيدية اتبعت طريقة Dowd الواردة في [14] المعتمدة على التفاعل بين المواد الفلافونيدية بالعسل مع ثلاثي كلورايد الالمنيوم ثم قياس اللون الناتج عند طول موجي 415 نانومتر.

*أجري التحليل النوعي والكمي للمواد الفعالة في نماذج العسل المدعم بالعرقسوس بجهاز كروماتوغرافيا السائل نوع Shimadzu model LC-2010 A ، عمود الفصل C18 والطور المتحرك مكون من Acetonitrile و محلول متدرج التركيز من Formic acid(0-3%) خلال 60 دقيقة. أحتسب التركيز بالاعتماد على زمن الاحتجاز RT ومساحة المنحنى (Peak Area%) للمركبات الفينولية بالعينات المدروسة وبالاستناد للمواد القياسية المحفوظة بذاكرة جهاز كروموتكرافيا السائل.

النتائج والمناقشة

يلاحظ من النتائج المدرجة في جدول 1 أن العرقسوس الاسيوي**V2**كان أغنى بالمادة الفعالة والبروتين لذا أعتمد في تحضير المستخلصات المائية للعرقسوس التي تدخل في تغذية النحل.

جدول1: التركيب الكيمياوي التقريبي لصنفين من جذورالعرقسوس الروسي V1 والاسيوي V2

المكونات%	نماذج العرقسوس	
	V1	V2
الرطوبة	10	3.4
الدهن	1.95	2.45
البروتين	5.3	6.65
سكر قبل التحلل	8.1	9.3
سكر بعد التحلل	11.4	12.4
المواد الفينولية الكلية * (gm. GA eq./gm. Dry solids contents)	6.88	9.20

*مقدرة كمادة Glycyrrhizic acid (GA).

يوضح جدول رقم 2 تأثير معاملات التغذية بالعرقسوس في بعض الجوانب الحياتية بطوائف النحل حيث لوحظ ان أفضل معاملة كانتT4التي تحقق فيها أكبر مساحة للعسل بلغت 2336.2 أنج^2/طائفة بالإضافة لخلوها من الامراض والمتطفلات ومؤشر قبول للعرقسوس بنسبة 100% وهذا يتفق مع وجده [7].

جدول 2: التغذية الاصطناعية بمعاملات مستخلص العرقسوس 20% في خلايا النحل والجوانب الحياتية للنحل.

الصفات المدروسة	معاملات تغذية النحل بالعرقسوس					
	T1	T2	T3	T4	T5	T6
مساحة العسل أنج 2/طائفة	1240.1	1450.0	2076.3	2336.2	1841.5	1641.3
مؤشر قبول التغذية %	100	100	100	100	80	75
مؤشر وجود أمراض	+	−	−	−	−	+
مؤشر وجود متطفلات	+	+	−	−	+	−

يبين جدول 3 احتواء المستخلصات على العناصر المعدنية K ,Ca ,Na, Mg,Fe,Zn,Pوأن تركيز هذه العناصر ولون العسل الناتج يزداد بزيادة تركيز مستخلص العرقسوس بينما خلت معاملة السيطرة من Na . أن ارتفاع محتوى العناصر المعدنية يضفي قيمة تغذوية لغذاء النحل والعسل المنتج بواسطتها مع التحفظ على محتوى الصوديوم العالي بالعرقسوس وما يسببه من مشاكل صحية للإنسان. ذكر [2] أن مزايا العسل تعتمد على مصدر التغذية النباتي والموقع الجغرافي بالإضافة للمناخ أولا يليه ظروف التصنيع والخزن ثانيا ، وتوصل [12] الى ان وجود الفلافونيدات والمواد الفينولية في مصدر التغذية للنحل تعد من العوامل المؤثرة بشكل رئيسي في تحديد نوعية العسل من ناحية الطعم والنكهة واللون .

جدول 3: التغذية الاصطناعية للنحل بمعاملات مستخلص العرقسوس20% في محتوى العناصرالمعدنية ولون العسل.

معاملات العسل المدعم بالعرقسوس	العناصر المعدنية (ملغم / كغم)							لون العسل
	K	Ca	Na	Mg	Fe	Zn	P	
T1	11.9	9.3	Nil	2.8	2.2	4.2	8.2	أصفر فاتح
T2	15.0	14.2	4.5	5.8	5.1	6.7	12.4	بني غامق
T3	12.7	12.5	2.6	3.8	3.6	4.9	10.5	كستنائي
T4	13.7	13.4	3.4	4.6	4.5	5.9	11.2	بني فاتح
T5	14.9	13.9	4.1	5.6	4.9	6.4	12.0	بني غامق
T6			Nil					كستنائي
كميات العناصر المعدنية الموصي بها يوميا للبالغين *	3500	1000	2400	350	15	15	800	-

*حسب توصيات منظمة الصحة العالميةWHO للإنسان البالغ.

درست الخواص النوعية لمعاملات العسل المدعم بمستخلص العرقسوس ، وتبين النتائج المتحصل عليها في جدول 4 ان النسب المضافة من مستخلص 20% عرقسوس كانت تتناسب طرديا مع خواص شدة اللون والرطوبة والرماد والسكريات المحولة وفعالية انزيم الدایاستیز، وعكسيا مع نسب السكروز واللزوجة ولكنها على العموم كانت ضمن الحدود المقبولة بمواصفة دستور الاغذية العالمي للعسل [9].
وقد ذكر [15] أن الاهتمام بتغذية النحل وتوفير الظروف المناخية المناسبة لتربيته والخزن السليم للعسل يسهم في زيادة انتاج العسل وبنوعية مطابقة للمعايير الدولية.

جدول 4: الخواص النوعية لنماذج العسل لمعاملات التغذية الاصطناعية بمستخلص العرقسوس 20%.

الخواص النوعية	معاملات العسل المدعم بالعرقسوس				الاشتراطات حسب مواصفة الكودكس*
	سيطرة T1	T3	T4	T5	
الرطوبة (%)	14.5	15.3	15.6	15.2	لا تزيد عن 21%
الرماد (%)	0.23	0.45	0.37	0.27	لا تزيد عن 0.60
التوصيل الكهربائي EC (mS/cm)	0.23	0.82	0.67	0.46	لايقل عن 0.8
الرقم الهيدروجينيpH	3.68	4.10	3.85	4.00	3.91
السكريات المحولة (Invert sugar %)	67.29	78.32	73.65	75.06	لاتقل عن 60% (بالمواصفة العراقية)#
السكروز (%)	5.60	3.70	3.92	4.06	لاتزيد عن 8% (بالمواصفة العراقية) #
انزيم (الدياستيز) Unit	6.11	10.40	9.12	8.30	تتراوح بين 3-8 Unit
هيدروكسي مثيل فورفرال (HMF mg/Kg)	3.0	3.38	3.27	3.20	لا تزيد عن 40 بالعسل
اللزوجة (Poise)	73.44	64.11	66.80	68.31	-

*According to Codex Standards (12-1981) ,Rev. 2 (2001).

According to Iraqi Standard 1061(1984)

أوضحت نتائج تحليل محتوى المركبات الفلافونيدية بالعسل المدعم بالعرقسوس في جدول 5 عن تواجد المركبات التالية: Sophoraflavone ، Liquiritinapioside، Liquiritin ، Liquritigenin ، IsoLiquiritignen، Glycyrrhizin ، Isoglycyrol ضمن مناطق طيف الاشعة فوق البنفسجية وتم

تشخيصها طبقا لخواص وقت الاحتجاز(RT) ومساحة المنحنى (Peak Area%) والمعلومات في مكتبة جهاز كروموتغرافيا السائل ، وتتفق النتائج مع كل من [5] و[16].

جدول 5: محتوى المركبات الفلافونيدية في العسل المدعم بمستخلص 20% العرقسوس

ت	اسم المركب *	RT (Min.)	الطول الموجي Nm	Peak Area %	
				معاملة سيطرة بدون عرقسوس	%20 عرقسوس
1	Unknown	1.437	253-250	0.37	-
2	=	3.245	255-253	21.42	-
3	=	3.872	260-250	23.20	-
4	=	4.643	300-290	1.05	-
5	=	5.023	305-300	0.78	0.25
6	=	6.656	310-305	11.38	0.27
7	=	7.331		18.86	-
8	=	8.415		20.15	17.10
9	=	11.426		0.94	1.23
10	Sophoraflavone	14.391	360-340	0.52	19.61
11	Liquiritinapioside	15.327	340-320	-	10.22
12	Liquiritin	16.220	340-320	-	35.30
13	Liquritigenin	24.405	350-340	-	8.72
14	IsoLiquiritignen	30.138	370-360	-	6.52
15	Glycyrrhizin	32.367	260-255	-	0.87
16	Isoglycyrol	45.201	380-370	0.17	0.36
	المحتوىالكليللمركباتالفلافونيدية * mg QE/ 1Kg Honey			3.50	8.72

- QE= mg quercetin equivalent

كما يبين جدول 5 أثر تدعيم غذاء النحل بمستخلص العرقسوس من خلال مطالعة عدد المركبات الفلافونيدية المشخصة وكذلك ارتفاع المحتوى الكلي لها من 3.50 الى 8.72 mg QE/ 1Kg Honey.
وقد أوضح

[Asi and Hosseinzadeh, 2008] أن المادة الفعالة للعرقسوس وهو Glycyrrhezic acidعادة يتم تقديرها بصيغة مركب Glycyrrhizin بسبب إن الأخير اذا ما اخذ عن طريق الفم كما في العسل فأنه سيتمثل الى Glycyrrhetinic acid بواسطة البكتريا المتوطنة بالأمعاء والتي تفرز إنزيم β-D-glucuronidase،أما أذا اعطي Glycyrrhizinعن طريق الوريد فأن تمثيله بالكبد بواسطة اللايسوزايمglycyrrhetinic acid 3-mono-glucuronide الذي سيطرح مع أملاح الصفراء إلى الأمعاء وعندها ستقوم البكتيريا المتوطنة بالأمعاء بتحويله الى Glycyrrhetinic acid .

الاستنتاجات

وجد إدخال المستخلص المائي الساخن 20 % عرقسوس وتحديدا المعاملة T4 في التغذية الاصطناعية لنحل العسل أدى الى تحسن السلوك الحياتي لطوائف نحل العسل من ناحية سعة مساحة العسل ومؤشر قبول التغذية، وتطور الخواص النوعية للعسل الناتج وغناه بالمركبات الفلافونيدية.

المصادر

1-Cantelli- Forti; Raggi, M.A.; Bugamelli, F.; Maffei, A. and Trieff, N.(1997)." Toxicological assessment of licorice biliary excretion in rats".Pharmacological Research , 35 (5) : 463-470

2-Adrian, A.M.; Ligia, D.M.; Maria,T.S. and Ana, P.M.(2017). "Composition and properties of *Apismellieferа*honey: A review. J. of Agricultural Research .ISSN:0021-8839. Online J.317835980.

3-صالح ، جميل ابراهيم (2015). "مناحل سامراء.المؤتمر الدولي الثامن لاتحاد النحالين العرب-العراق. مجلة نحل العسل ، الصفحات: 68-70.

4-عكيلي، رياض علي (1999)." تأثير التغذية الصناعية لنحل العسل *Apismelliefera* في انتاج وسلوك الملكات". رسالة ماجستير ، قسم علوم الحياة- كلية التربية للبنات- جامعة بغداد.

5- May.-Zhang, Y.; Jin, C.; Ying ping, W. and Shenyang, X.(2013)." Simutance determination of Glycyrrhizinn and 15 flavonoids in licorice and blood by HPLC with ultraviolet detector'. Hindawi publishing corporation. ISRN Analytical Chemistry , vol.2013, Article ID 786151, 7 pages.

6-Asi, N. and Hosseinzadeh, H. (2008). " Review of pharmacological effects of glycyrrhiza sp. and its bioactive compounds". J. Phototherapy Research, 22 : 709-724.

7-الشمري،أحمد جاسم ؛ ساجت، أحمد صالح ؛ الفياض، مصطفى جواد والحسناوي، علي مردان (2019) ." تأثير التغذية بتراكيز مختلفة من مستخلص العرقسوس في العمر الانتاجي وبعض الصفات المهمة لملكات نحل العسل *Apismelliefera* الملقحة أصطناعيا". مجلة جامعة ذي قار للبحوث الزراعية، مجلد 8 (1): 1-10.

8-AOAC (1990). Official methods of analysis of the association of official analytical chemists ". ^{15}ed Arliton, Virginia, USA.

9-CODEX Alimentarius Commission (2005)."Analysis of sugars in honey using HPLC, code: G 318796-2005.

10-Bogdanov, S.; Martin, P. and Lullmann, C.(1997)." Harmonized method of the European Honey Commission".Cited from (Ahmed ,et al., 2013) published in Clin. Microbial. Dol.10.417212327- 5073.

11-Pasias, I.N.; Kiriakou, I.K. and Proestos, C.(2017)."HMF and diastase activity in honeys: Afully validated approach and chemo metric analysis for identification of honey freshness and adulteration". J. Food Chemistry, 229: 425-431.

12-Akharaiyi,F.C. and Adetoun, L.H.(2016)."Physiochemical analysis and Minerals content of honey from farmers in western states of Nigeria".J. of National Sciences Research, 6 (19): 2-7.

13-Parda, J.; Santos, J.L.; Canoles, P. and Manquian, N.(2015)." Phenolic content of honey reduces in Vitro starch digestibility ".Czech. J. Food Sci., doi. 10.17221/304/2015-CJES.

14-Meda, A.; Lamien, C.; Romioto, M.; Millogo, J. and Nacoulma, O. (2004). " Determination of the total phenolic , flavonoid and proline contents in Burkina Fusan honey as well as their radical scavenging activity". J. Food Chemistry , 91: 571-577.

15-Da Silva , P.M.; Cony, G.; Valdemiro, L. and Ana, C.G. (2016)."Honey: Chemical composition , stability and authenticity".J. Food Chemistry, 169: 309-315.

16-Boqiang, F.; Huan, L.; Xiao, W. ; Frank, L. and Shufen, C.(2005)."Isolation and identification of flavonoids in licorice and study their inhibitory effects on tyrosinase".J. Agricultural and Food chemistry , 53 (19) : 7408-7414.