

ABACAXI IAC GOMO-DE-MEL (*Ananas comosus* (L.) *Merrill*): CARACTERÍSTICAS DA POLPA E DA PEROXIDASE DO SUCO

CARLOS ALEXANDRE KOGUISHI DE BRITO*

HÉLIA HARUMI SATO**

ADEMAR SPIRONELLO***

WALTER JOSÉ SIQUEIRA****

O objetivo deste estudo foi avaliar as características da polpa e da peroxidase do suco de abacaxi gomo-de-mel. A polpa apresentou 21,4 mg de ácido ascórbico/100 g e teor de sólidos solúveis em °Brix igual a 15,7. A peroxidase do suco de abacaxi apresentou atividade ótima na faixa de 45°C a 50°C e pH 4,5. A enzima mostrou-se estável na faixa de pH 4,0 a 9,0, retendo mais de 80% da atividade após 24h de tratamento a 50°C. A peroxidase permaneceu estável após 30 minutos de tratamento em temperaturas inferiores a 50°C retendo mais de 90% de atividade, sendo que após 30 minutos a 70°C a atividade residual foi cerca de 15%. A peroxidase foi inativada após 120 segundos de tratamento a 90°C, não sendo observada regeneração após 3 e 24 horas de incubação em temperaturas de 5°C e 25°C.

PALAVRAS-CHAVE: PEROXIDASE; ABACAXI, IAC GOMO-DE-MEL; TERMOESTABILIDADE.

* Mestre em Ciência de Alimentos, Universidade de Campinas (Unicamp), Campinas, SP (e-mail: brito@fea.unicamp.br).

** Professora Assistente, Doutora, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Unicamp, Campinas, SP (e-mail: heliah@fea.unicamp.br).

*** Pesquisador Científico Voluntário (Aposentado), Instituto Agrônomo de Campinas, SP (e-mail: adespiro@iac.sp.gov.br).

**** Pesquisador Científico VI, Instituto Agrônomo de Campinas, SP (walter@ital.sp.gov.br).

1 INTRODUÇÃO

A peroxidase tem sido considerada uma das principais enzimas responsáveis pela deterioração da qualidade de muitos frutos congelados (CANO, ANCOS e LOBO, 1995). O escurecimento dos tecidos dos frutos ocorre principalmente pela oxidação enzimática dos compostos fenólicos, reação essa catalisada por duas enzimas: a polifenoloxidase e a peroxidase (BRAVERMAN, 1967). A peroxidase pode participar de várias reações oxidativas e de biodegradação. Algumas dessas reações causam mudanças indesejáveis no gosto e aroma dos frutos, perda de nutrientes e escurecimento. A acumulação dos produtos das reações das peroxidases pode ocorrer durante a senescência dos frutos.

O controle da atividade das peroxidases assume grande importância uma vez que essas enzimas estão envolvidas em reações deteriorativas de frutas e vegetais, podendo interferir na qualidade de produtos industrializados e *in natura* (CLEMENTE e PASTORE, 1998; PRABHA e PATWARDHAN, 1986). Os tratamentos térmicos comercialmente usados no processo de extração de frutas e vegetais como, por exemplo, temperatura elevada por curto tempo (HTST-high temperature short time) são pouco efetivos para inativação irreversível da peroxidase (KHAN e ROBINSON, 1993). A produção de sucos, muitas vezes, inclui a casca da fruta, o que contribui geralmente para o aumento da atividade da peroxidase no meio (CLEMENTE, 1996).

O Brasil constitui um dos principais centros de diversidade de abacaxi, cujos recursos genéticos tem sido utilizados para intercâmbio de germoplasma. Como o sucesso dos programas de melhoramento genético depende de ampla variabilidade é imprescindível a coleta, preservação e avaliação de germoplasma de abacaxi. A Embrapa conta com Banco Ativo de Germoplasma de abacaxi que reúne ampla variabilidade genética, constituído de 678 acessos pertencentes a espécies de interesse imediato e/ou potencial para o melhoramento genético do abacaxizeiro (TODAFRUTA, 2005).

O Instituto Agrônomo de Campinas vem desenvolvendo programa de melhoramento genético de abacaxi, desde 1991, visando a resistência à doença fusariose e obtenção de características agrícolas e organolépticas mais desejáveis (SPIRONELLO *et al.*, 1994). O abacaxi IAC Gomo-de-mel apresenta menor tamanho em relação a outros cultivares e reúne vários fatores desejáveis: elevado °Brix (doçura), baixa a moderada acidez, consistência tenra, suculência e coloração atraente - amarelo ouro (USBERTI FILHO *et al.*, 1999). Quando maduro, sua vida-de-prateleira alcança até 12 dias em condições ambientais em virtude de sua provável maior resistência ao transporte. O fruto pode ser conservado até seis dias em geladeira, enquanto outras espécies não passam de três ou quatro dias. O novo abacaxi é especialmente recomendado para mesa e as técnicas de plantio, manutenção e colheita são idênticas às empregadas para os demais cultivares disponíveis no mercado (RADIOBRÁS, 2005).

Introduzido da China em 1991, juntamente com outros tipos de material genético, o novo cultivar de abacaxi (IAC Gomo-de-mel ou abacaxi-de-gomo) resulta de cruzamento natural. O nome deve-se ao fato dos frutinhos “olhos” serem soldados menos fortemente entre si, ao contrário do que ocorre com outros cultivares e introduções, podendo ser facilmente destacáveis no fruto maduro (USBERTI FILHO *et al.*, 1999; IAC, 2005).

Devido à importância do novo cultivar de abacaxi, que segue a tendência do mercado consumidor na busca por alimentos práticos e saudáveis, este trabalho teve por objetivo avaliar as características de polpa e da peroxidase do suco de abacaxi Gomo-de-mel.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

As amostras do abacaxi IAC Gomo-de-mel, em estágio de maturação de 1/4 a 1/2 de casca amarela, foram coletadas na Estação Experimental de Agronomia de Pindorama-SP, pertencente

ao Instituto Agronômico de Campinas. Para a extração do suco enzimático, três amostras de polpa foram homogeneizadas em liquidificador e centrifugadas a 11.000 g por 10 minutos a 5°C.

2.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As análises físico químicas da polpa foram determinadas na porção inferior, média e superior do fruto do abacaxi, já que seu desenvolvimento (maturação) ocorre da base para o ápice.

2.2.1 Textura e sólidos solúveis (°Brix)

Para a análise da textura empregou-se texturômetro especial para frutas, o Penetrômetro EFFEGI modelo FT 327, com ponteira média de 5/16 polegadas, pertencente ao Centro Frutotec do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL). A determinação ocorreu em três pontos equidistantes (regiões basal, equatorial e apical) dos frutos de acordo com a técnica descrita por SPIRONELLO *et al.* (1997). O °Brix foi determinado por refratometria, segundo técnica descrita por CARVALHO *et al.* (1990), utilizando-se refratômetro manual ATAGO modelo nº 1, com escala de 0 a 32%. Os frutos foram descascados em três pontos equidistantes, nas regiões superior, mediana e inferior, efetuando-se três leituras em cada ponto para as determinações de textura e °Brix.

2.2.2 Determinação de ácido ascórbico

Determinou-se o teor de ácido ascórbico (vitamina C) da polpa pelo método titulométrico, conforme CARVALHO *et al.* (1990), utilizando 2,6 diclorofenol indofenol - sódio. As análises foram efetuadas em triplicata e os valores expressos em mg ácido ascórbico/100 g amostra.

2.2.3 Determinação de pH

Na determinação do pH do suco obtido da polpa de abacaxi, em triplicata, utilizou-se pHmetro ORION / Isometer (modelo 710^a com eletrodo de vidro) e a técnica descrita por CARVALHO *et al.* (1990).

2.2.4 Acidez total

Para a determinação da acidez usou-se o método titulométrico, preconizado por CARVALHO *et al.* (1990), sendo o resultado das análises em triplicata expresso em % de ácido cítrico.

2.3 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA

2.3.1 Determinação da atividade de bromelina

A atividade de bromelina do suco foi determinada pelo método descrito por IADEROZA e BALDINI (1991), utilizando-se caseína como substrato. As análises foram feitas em triplicata.

2.3.2 Determinação da atividade de peroxidase

Determinou-se a atividade de peroxidase no suco de abacaxi pelo método de KHAN e ROBINSON (1994). Cubeta contendo 1,5 mL da solução 1% de guaiacol em tampão fosfato a 0,05 M e pH 6,0 e 1,2 mL desse mesmo tampão foi colocada em espectrofotômetro, Beckman DU® 70, com controle de temperatura. Em seguida adicionou-se 0,1 mL do suco de abacaxi diluído e 0,4 mL de solução de H₂O₂ (0,33 mL de H₂O₂ a 30% em 100 mL de tampão fosfato a 0,05 M e pH 6,0). Monitorou-se o aumento da absorvância a 470 nm durante 5 minutos de reação a 25°C,

contra um branco, no qual a solução de H_2O_2 foi substituída pelo tampão. As análises foram efetuadas com três repetições, utilizando-se amostras do suco diluído. Uma unidade (U) foi definida como a quantidade de enzima que causa aumento de absorvância de 0,001 por minuto a 470 nm, tendo o guaiacol como doador de H^+ .

2.4 DETERMINAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DA PEROXIDASE DO SUCO DE ABACAXI

As características bioquímicas da peroxidase foram testadas conforme metodologia descrita por HOLSCHUH (2000), sendo os ensaios em triplicata realizados com amostras do suco diluídas.

2.4.1 pH ótimo de atividade

Testou-se a atividade da peroxidase a 50°C na faixa de pH 2,6 a 9,0, utilizando tampão citrato-fosfato (pH 2,6 a 7,0), acetato de sódio/ácido acético (pH 3,6 a 5,5), fosfato de sódio (pH 6,0 a 8,0) e borato/ácido bórico (pH 8,0 a 9,0) na concentração 0,2 M enquadrada na faixa de capacidade tamponante, com intervalos de 0,5 unidades de pH.

2.4.2 Temperatura ótima de atividade

A atividade da peroxidase foi determinada na faixa de temperatura de 10°C a 70°C, com intervalos de 10°C, estreitados para 5°C na zona de atividade ótima.

2.4.3 pH de estabilidade

A influência do pH na estabilidade da peroxidase foi testada na faixa de pH 3,0 a 9,0, utilizando-se tampão citrato-fosfato (pH 6,0 a 8,0) e borato/ácido bórico (8,0 a 9,0). As amostras de suco ajustadas para diferentes valores de pH foram incubadas durante 24h a 50°C. Após incubação adicionou-se tampão citrato 0,05M pH 4,5, sendo a atividade residual determinada a 50°C como descrito anteriormente.

2.4.4 Termoestabilidade

A estabilidade térmica da peroxidase foi testada no primeiro estudo, incubando-se as amostras de suco a 30°C, 40°C, 50°C, 60°C, 70°C, 80°C, 90°C e temperatura de ebulição (97°C) por 30 minutos. A atividade residual foi determinada nas condições ótimas de pH e temperatura para a atividade da peroxidase do abacaxi. No segundo estudo, as amostras de suco foram tratadas a 85°C, 90°C e 95°C por 30, 60, 120 e 180 segundos.

2.4.5 Regeneração da atividade da peroxidase após o tratamento térmico

Amostras de suco de abacaxi foram aquecidas a 75°C por 10 minutos e a 90°C por 2 minutos, sendo em seguida armazenadas a 5°C e 25°C. Determinou-se a atividade residual da enzima após 3 e 24 horas de incubação nas condições ótimas de atividade da peroxidase - pH 4,5 e 50°C (MC LELLAN e ROBINSON, 1984).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 ilustra as características da polpa do abacaxi cultivar IAC Gomo-de-mel. A polpa apresentou coloração amarelo-ouro e textura macia. A porcentagem de sólidos solúveis (°Brix) da

polpa foi de 15,7 e a acidez titulável mostrou-se muito baixa (0,67 g de ácido cítrico/100 g). O teor de ácido ascórbico (21,4 mg /100 g) aproximou-se do valor descrito para a cultivar comercial de abacaxi '*Smooth Cayenne*' (20,0 mg /100 g) (IAC, 2005).

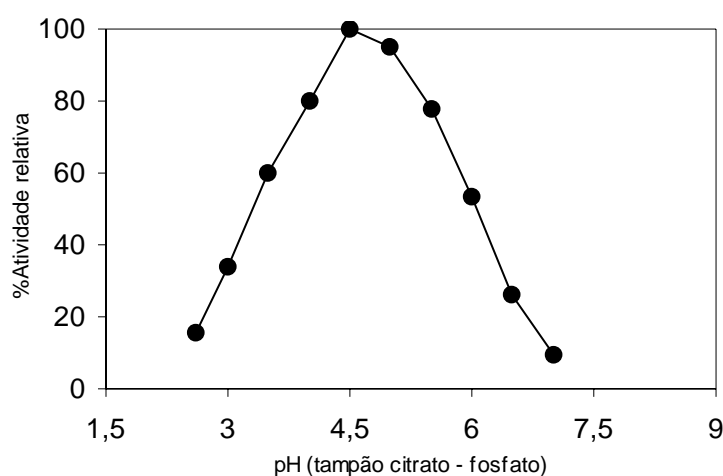
TABELA 1 - CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DA POLPA DE ABACAXI DA CULTIVAR IAC GOMO-DE-MEL

Características Físico Químicas	Cultivar IAC Gomo-de-mel
textura da polpa (Kgf)	0,6*
sólidos solúveis em °Brix	15,7*
pH da polpa	3,83*
acidez da polpa (g de ácido cítrico/100 g)	0,67 *
teor de ácido ascórbico (mg de ácido ascórbico/100g)	21,4 *
teor de bromelina (U/g)	0,87*

* Resultado referente à média de ápice, meio e base, com três repetições para cada fração.

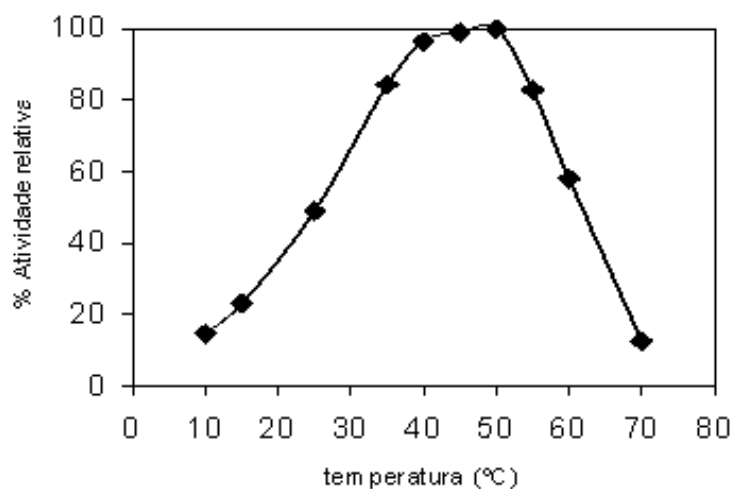
A peroxidase do abacaxi IAC Gomo-de-mel mostrou atividade ótima em pH 4,5 (Figura 1). A peroxidase de abacaxi pérola, obtida por fracionamento com sulfato de amônio, apresentou atividade ótima em pH 5,0 (FERREIRA e CABRAL, 1998). SUNG, YU e CHANG (1993), estudando o pH ótimo de atividade e isoenzimas de peroxidase extraídas do caule do abacaxi obtiveram faixa ótima entre pH 5,5 a 6,0 em tampão ácido cítrico/fosfato. Já BEAUDRAU e YASUNOBU (1966) verificaram que a peroxidase B do caule do abacaxi apresentou atividade ótima em pH 4,2.

FIGURA 1 - pH ÓTIMO DE ATIVIDADE DA PEROXIDASE DO ABACAXI CULTIVAR IAC GOMO-DE-MEL



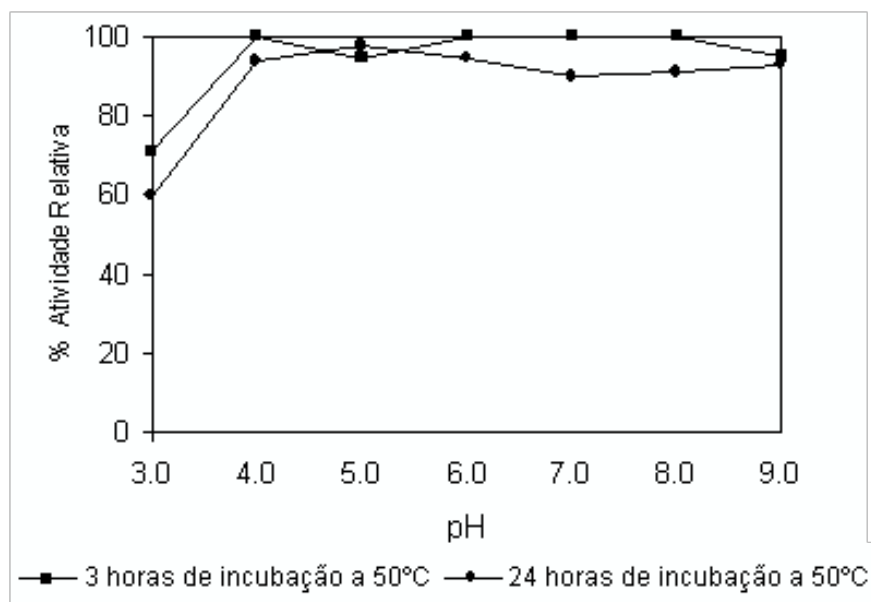
A peroxidase do abacaxi IAC Gomo-de-mel apresentou temperatura ótima de atividade na faixa de 45°C a 50°C (Figura 2).

FIGURA 2 - TEMPERATURA ÓTIMA DE ATIVIDADE DA PEROXIDASE DO ABACAXI CULTIVAR IAC GOMO-DE-MEL



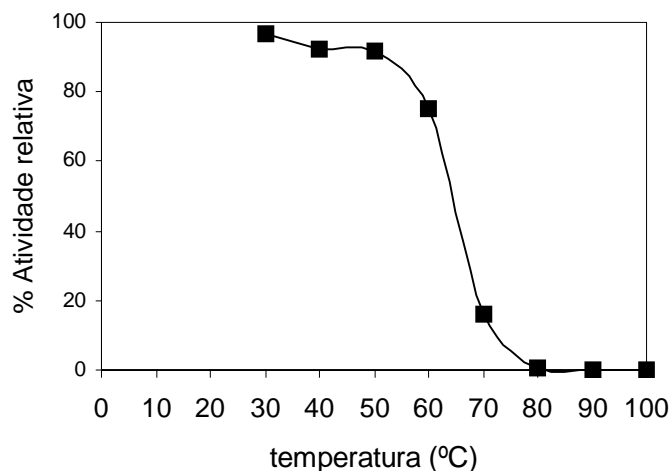
A peroxidase de abacaxi cultivar IAC Gomo-de-Mel apresentou estabilidade na faixa de pH 4,0 a 9,0 após 24 horas de incubação a 50°C (Figura 3).

FIGURA 3 - pH DE ESTABILIDADE DA PEROXIDASE DO ABACAXI CULTIVAR IAC GOMO-DE-MEL



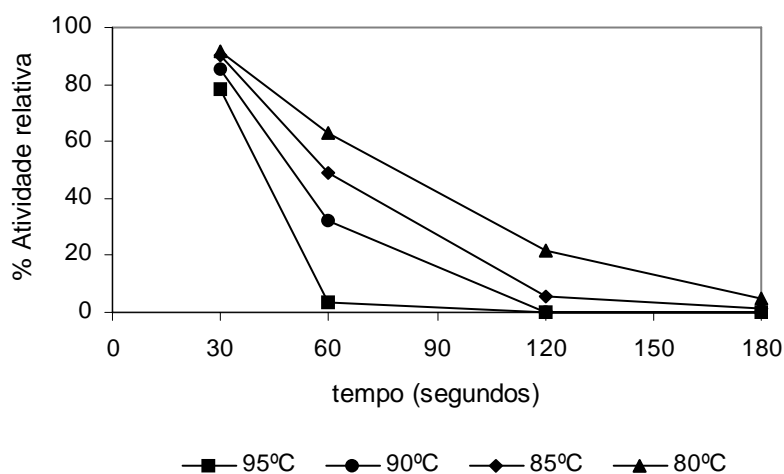
A Figura 4 ilustra que a peroxidase de abacaxi cultivar IAC Gomo-de-Mel mostrou-se estável após tratamento em temperaturas inferiores a 50°C, durante 30 minutos, retendo mais de 90% da atividade inicial. Após 30 minutos a 70°C a atividade residual foi cerca de 15%.

FIGURA 4 - EFEITO DA TEMPERATURA NA ESTABILIDADE DA PEROXIDASE DO ABACAXI CULTIVAR IAC GOMO-DE-MEL



A Figura 5 mostra que a peroxidase foi inativada após 120 segundos de tratamento a 90°C.

FIGURA 5 - ESTABILIDADE DA PEROXIDASE DO ABACAXI CULTIVAR IAC GOMO-DE-MEL A 80°C, 85°C, 90°C E 95°C



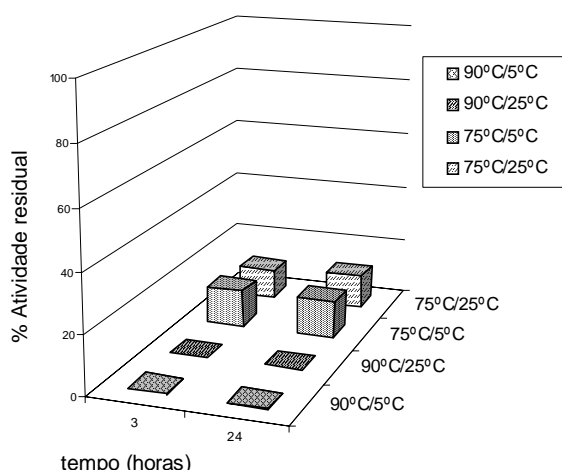
LIMA (1998) relatou que no processamento de suco de abacaxi utilizando evaporadores, o suco foi aquecido a 90 e 95°C durante 30 e 40 segundos. Seus resultados indicaram que a peroxidase de suco de abacaxi é termooestável, sendo necessário altas temperaturas para a inativação da enzima.

LOURENÇO E NEVES (1997) observaram que a peroxidase de pêssgo apresentou rápida inativação acima de 70°C, com perda praticamente total após tratamento a 80°C durante 30 segundos. A peroxidase de melão mostrou-se estável em temperaturas inferiores a 40°C e perdeu 90% da atividade após tratamento a 80°C durante 20 minutos (KHAN e ROBINSON, 1994). A peroxidase de açaí mostrou-se termooestável, retendo cerca de 70% da atividade inicial após 10 minutos de tratamento a 70°C e cerca de 20% da atividade após 5 minutos a 90°C (SANTOS, 2001).

A inativação das peroxidases mostrou comportamento não-linear, o que também ocorreu no extrato bruto de peroxidase solúvel e peroxidase iônica de abacaxi submetidos a tratamento térmico a 60°C e 75°C por período máximo de 10 minutos (MELLO e CLEMENTE, 1996).

A Figura 6 ilustra a regeneração de 10% da atividade peroxidase após tratamento do abacaxi por 10 minutos a 75°C e incubação durante 3 e 24 horas a 5°C e 25°C. No entanto, após 2 minutos de aquecimento a 90°C não foi observada regeneração da peroxidase.

FIGURA 6 - REGENERAÇÃO DA ATIVIDADE DA PEROXIDASE DE ABACAXI IAC GOMO-DE-MEL



4 CONCLUSÃO

A polpa do abacaxi IAC Gomo-de-mel apresentou 21,4 mg de ácido ascórbico/100 g e porcentagem de sólidos solúveis em ° Brix igual a 15,7.

A peroxidase do abacaxi IAC Gomo-de-mel apresentou atividade ótima em pH 4,5 e na faixa de 40°C a 50°C. Mostrou-se estável após 30 minutos em temperaturas inferiores a 50°C e foi inativada após 120 segundos de tratamento a 90°C.

Constatou-se 10% de regeneração da atividade da peroxidase após aquecimento durante 10 minutos a 75°C, seguido de incubação a 5°C ou a 25°C. Não foi observada regeneração da enzima na temperatura de inativação de 90°C por 120 segundos.

ABSTRACT

IAC GOMO-DE-MEL PINEAPPLE (*Ananas comosus* (L.) Merrill): CHARACTERISTICS OF PULP AND PEROXIDASE OF JUICE

The objective of this study was to evaluate the characteristics of pineapple IAC Gomo - de - mel pulp and juice peroxidase. The pulp presented 21.4 mg ascorbic acid / 100 g and 15.7 °Brix of soluble solids. The pineapple juice peroxidase presented optimum activity at 45 to 50 °C and pH 4.5. The enzyme remained stable at pH 4.0 to 9.0 and retained more than 80% of its activity after 24 hours of heat treatment at 50 °C. The enzyme remained stable after 30 minutes of treatment at temperatures below 50°C, retaining more than 90% of its activity and after 30 minutes at 70°C the residual activity was of 15%. The peroxidase was inactivated after treatment at 90°C for 120 seconds and no regeneration was observed after incubation at 5°C and 25°C for 3 and 24 hours.

KEY-WORDS: PEROXIDASE; PINEAPPLE; IAC GOMO-DE-MEL; THERMOSTABILITY.

REFERÊNCIAS

- 1 BEAUDREAU, C.; YASUNOBU, K.T. Heme Proteins. VI Crystalline pineapple peroxidase B. **Biochemistry**, Washington DC., v.5, n.4, p.1404-1412, 1966.
- 2 BRAVERMAN, J.B.S. Vitaminas. In: _____. **Introduction a la bioquímica de los alimentos**. Barcelona: Omega, 1967. cap. 14, p. 206-239.
- 3 CANO, M.P.; ANCOS, B.; LOBO, G. Peroxidase and polyphenoloxidase activities in papaya during postharvest ripening and after freezing/thawing. **Journal of Food Science**, v. 60, p. 815-820, 1995.
- 4 CARVALHO, R.L.C.; MANTOVANI, D.M.B.; CARVALHO, P.R.N.; MORAES, R.M.de **Análises químicas de alimentos**. Campinas: ITAL,1990. 121 p. (Manual Técnico).
- 5 CLEMENTE, E.; PASTORE, G. M. Peroxidase and polyphenoloxidase, the importance for food technology. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 32, p.167-171, 1998.
- 6 CLEMENTE, E. Isolamento, purificação e termoestabilidade da isoperoxidase do suco de laranja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 16, p.1-5 1996.
- 7 FERREIRA, F. R.; CABRAL, J.R.S. Melhoramento genético. Abacaxi: tecnologia de produção e comercialização. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.19,n.195, p.24-28, 1998.
- 8 HOLSCHUH H.J. **Isolamento, purificação e caracterização bioquímica da peroxidase de carambola (Averrhoa carambola, L.)** Campinas, 2000, 159 p Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- 9 IAC. Instituto Agrônomo de Campinas. **IAC Gomo-de-Mel**. Disponível em: <<http://www.iac.sp.gov.br/cultivares/folders/abacaxi/iacgomo-de-mel.htm>> Acesso em: 10 de ago.2005.
- 10 IADEROZA, M; BALDINI, V.L.S. **Enzimas e a qualidade de vegetais processados**. Campinas: ITAL, 1991. p.44-45 (Manual Técnico).
- 11 KHAN, A. A.; ROBINSON, D.S. Hydrogen donor specificity of mango isoperoxidases. **Food Chemistry**, Londres, v. 49, n. 4, p. 407-410, 1994.
- 12 KHAN, A.A.; ROBINSON, D.S. The thermostability of purified mango isoperoxidases. **Food Chem.**, Barking/UK, v. 47, p. 53-59, 1993.
- 13 LIMA, U. A. **Agroindustrialização de frutas**. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, 1998. v.5, p.151.
- 14 LOURENÇO, E.J.; NEVES, V.A., Peroxidase solúvel de pêssgo: purificação parcial e propriedades. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.17, n.1, p.42-48,1997.
- 15 MC LELLAN, K. M.; ROBINSON, D.S. Heat stability of peroxidases from orange. **Food Chemistry**, Londres, v. 13, p. 139-147, 1984.
- 16 MELLO, E.T.; CLEMENTE, E. Thermostability of crude extract of peroxidase from pineapple. **Revista Unimar**, Marília, v. 18, n. 4, p. 757-763, 1996.
- 17 PRABHA, T.N.; PATWARDHAN, M.V. Polyphenoloxidase (PPO) and peroxidase (POD) enzyme activities and their isoenzyme patterns in ripening fruits. **Acta Alimentaria**, v. 15, p. 199-207, 1986
- 18 RADIOBRÁS. Ciência, Tecnologia & Meio Ambiente - Agência Brasil. **Gomo-de-mel é a mais nova cultivar de abacaxi no mercado**. Disponível em:< http://www.radiobras.gov.br/ct/1999/materia_190399_6.htm> Acesso em: 14 de dez. 2005.
- 19 SANTOS, E. R. **Caracterização bioquímica de peroxidase e polifenoloxidase de açaí (Euterpe oleracea)**, Campinas, 2001. 109 p Tese (Mestrado em Ciência de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP.
- 20 SPIRONELLO, A.; BORTOLETTO, N.; SIGRIST, J.M.M.; NAGAI, V. Avaliação agrotecnológica e do ciclo de variedades de abacaxizeiro, em duas densidades, em Votuporanga (SP). **Bragantia**, Campinas, v.56, n. 2, p. 343 -355, 1997.
- 21 SPIRONELLO, A.; BORTOLETTO, N.; SIGRIST, J.M.M. ; NAGAI, V. Potencial de produção de sementes de cultivares e clones de abacaxi visando ao melhoramento genético. **Bragantia**, Campinas, v. 53, n.2, p. 177-184, 1994.
- 22 SUNG, H.Y.; YU, R.H.; CHANG, C.T. Purification and some properties of peroxidase isozymes from pineapple stem. **Biochemistry Molecular Biology International**, v.29, n.1, p.185-95, 1993.

- 23 TODAFRUTA. **Recursos genéticos de abacaxi**. Disponível em: <http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp?conteudo=10786> Acesso em: 12 de dez. 2005.
- 24 USBERTI FILHO, J. A.; SIQUEIRA, W. J.; SPIRONELLO, A.; TANAKA, M.A.S.; SIGRIST, J.M.M.; MARTINS, A.L.M.; BORTOLETTO, N.; TSUHAKE AT.; GUSHIKEN, A. **IAC Gomo-de-mel**. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 1999. (Folder)