

Министерство образования и науки Украины

**Национальный технический университет
«Харьковский политехнический институт»**

**Харьковский государственный университет
питания и торговли**

Национальный университет «Львівська політехніка»

**ХИМИЯ, БИО- И НАНОТЕХНОЛОГИИ,
ЭКОЛОГИЯ И ЭКОНОМИКА В ПИЩЕВОЙ
И КОСМЕТИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ**

**Сборник материалов II
Международной научно-практической
конференции**

8–10 декабря 2014 г.

**Харьков
2014**

УДК 620.3:664(063)

Редакционная коллегия:

Товажнянский Л.Л., д.т.н., проф., ректор Национального технического университета «Харьковский политехнический институт», Украина

Новиков О.О., доктор фарм. н., профессор, академик РАМТН, зав. каф. фармхимии и фармакогнозии НИУ «Белгородский государственный университет», Россия

Ewa Solarska, Prof. dr hab., Department of Biotechnology, Human Nutrition and Science of Food Commodities, University of Life Sciences in Lublin, Польша.

Бобало Ю.Я., д.т.н., проф., ректор Национального университета «Львовская политехника», Украина

Бурмистр М.В., д.х.н., проф., заведующий кафедрой переработки пластмасс и фото-, нано- и полиграфических материалов Украинского гос. Хим.-технол. университета, г. Днепропетровск, Украина

Воронов С.А., д.х.н., проф., зав. кафедрой органической химии Национального университета «Львовская политехника», Украина

Донченко Г.В., д.б.н., проф., член-кор НАНУ, заведующий отделом биохимии коферментов института биохимии им. О.В. Палладина НАН Украины.

Жилякова Е.Т., д.фарм.н., проф. каф. фармацевтических технологий Белгородского гос. национального исследовательского университета г. Белгород, Россия.

Жуков В.И., д.м.н., проф., проф. кафедры биохимии ХМУ, Украина.

Капрельяни Л.Л. проректор ОНАХТ, г. Одесса, Украина

Кричковская Л.В., д.б.н., проф., НТУ «ХПИ» зав. каф. Органического синтеза и нанотехнологий, Украина

Панченко Ю.В., к.х.н., доц., заместитель заведующего кафедрой органической химии Национального университета «Львовская политехника», Украина.

Петрова И.А., д.ю.н., к.т.н., проф., Харьковский национальный университет внутренних дел, г. Харьков, Украина

Ткач В.И., д.х.н., проф., зав. каф. аналитической химии и химической технологии пищевых добавок и косметических средств ДГХТУ, Украина

Панченко Ю.В., к.х.н., доц., заместитель заведующего кафедрой органической химии Национального университета «Львовская политехника», Украина

Швец В.И., академик РАН, зав. каф. бионанотехнологии Московского государственного университета тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия

Шевчук С.В. гл. химик ООО «Аромат»

Химия, био- и нанотехнологии, экология и экономика в пищевой и косметической промышленности: Сборник материалов II Международной научно-практической конференции, 8–10 декабря 2014 г. – X., 2014. – 308 с.

В сборнике отражены публикации и ценные предложения о решении проблем и перспектив развития химии, био- и нанотехнологии, экологии и экономики в пищевой и косметической промышленности. В нем содержатся работы специалистов, как научных работников Национального технического университета «Харьковского политехнического института», так и других ВУЗов Украины, Беларуси, России, Европы. Все работы обладают научной ценностью и практическими рекомендациями. Сборник рекомендован для научных работников, которые исследуют проблемы химии, био- и нанотехнологии, экологии и экономики в пищевой и косметической промышленности, а также для преподавателей, аспирантов и студентов высших учебных заведений Украины и других стран.
НТУ «ХПИ»

Благовещенский И.Г., Еделев Д.А., Благовещенская М.М. ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНАЯ ИНТЕГРИРОВАННАЯ ЭКСПЕРТНАЯ СИСТЕМА МОНИТОРИНГА ПРОЦЕССА ФОРМОВАНИЯ ПОМАДНЫХ КОНФЕТ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СИСТЕМЫ ТЕХНИЧЕСКОГО ЗРЕНИЯ	212
Белкин Д.И., Шабрацкий В.И., Демченко О.А., Шабрацкий С.В. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЦЕНТРОБЕЖНО-ЭЖЕКЦИОННЫХ МЕШАЛОК В РЕАКТОРАХ ОБЪЕМНОГО ТИПА ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ГАЗОЖИДКОСТНЫХ РЕАКЦИЙ	219
Бушуев А.С., Колбасюк А.О., Галстян Г.А. ИССЛЕДОВАНИЕ РЕАКЦИИ ЖИДКОФАЗНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЭТИЛБЕНЗОЛА ОЗОНОМ	221
Литвяк В.В. ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОЦЕССА КАТИОНИЗАЦИИ ГЛЮКОПИРАНОЗЫ КРАХМАЛА	223
Кондратов С.А., Красильникова А.А., Хлякина Т.Н. МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ КАК ПУТЬ РЕШЕНИЯ ПРОБЛЕМ ПРИ СОВЕРШЕНСТВОВАНИИ ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА НИТРОБЕНЗОЛА	231
Павлистова Н.А., Шингарева Т.И. НОВЫЕ ВИДЫ БЕЛКОВЫХ ПРОДУКТОВ	233
Іванісова А.С., Вашкевич О.Ю. ОГЛЯД ЕЛЕКТРОХІМІЧНИХ МЕТОДІВ ДЛЯ ОЦІНКИ АНТИОКСИДНОЇ АКТИВНОСТІ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ СПОЛУК	235
Матвеева Т.В., Філенко Л.М., Белінська А.П., Петров С.О. ОДЕРЖАННЯ ОЛІЙ-СУМІШЕЙ ЗБАЛАНСОВАНОГО ЖИРНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ НА ОСНОВІ ВІТЧИЗНЯНОЇ СИРОВИНИ	237
Бельтюкова С.В., Ливенцова Е.О. ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИОКСИДАНТОВ ФЕНОЛЬНОГО ТИПА МЕТОДОМ ТВЕРДОФАЗНОЙ СПЕКТРОМЕТРИИ	239
Алали Мусанна, Кричковская Л.В. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЫХОДА СОРБЕНТА ИЗ ШЕЛУХИ ПОДСОЛНЕЧНИКА	245
Семешко О.Я., Сарибекова Ю.Г., Сарибекова Д.Г., Салеба Л.В. ПОЛУЧЕНИЕ ЛАНОЛИНА И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ В КАЧЕСТВЕ КОСМЕТИЧЕСКОГО СЫРЬЯ	247
Овсянникова Т.А. ПРИМЕНЕНИЕ МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ В ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА ХЛЕБОПЕКАРНЫХ ДРОЖЖЕЙ, ОБОГАЩЕННЫХ МИКРОЭЛЕМЕНТАМИ	248
Жилякова Е.Т., Новиков О.О., Швоева К.В. РАЗРАБОТКА СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОГО МЕТОДА АНАЛИЗА КАРОТИНОИДОВ В МЯГКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ	250

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИОКСИДАНТОВ ФЕНОЛЬНОГО ТИПА МЕТОДОМ ТВЕРДОФАЗНОЙ СПЕКТРОМЕТРИИ

Бельтюкова С.В., Ливенцова Е.О.

Одесская национальная академия пищевых технологий

г. Одесса, chbpr.onart@mail.ru

Метод твердофазной спектроскопии в настоящее время широко применяется в анализе. Метод предполагает выделение определяемого компонента на твердой фазе сорбента и регистрацию аналитического сигнала непосредственно в фазе сорбента. Это позволяет провести предварительное концентрирование аналита и, соответственно, снизить предел обнаружения. Другим преимуществом этого метода является возможность проводить анализ в тестовом варианте, что значительно упрощает и сокращает время проведения анализа.

Химические тест-методы предусматривают использование аналитических реакций и реагентов для получения визуально наблюдаемого или легко измеряемого эффекта в фазе сорбента. Тест-методы могут быть использованы в аналитической лаборатории для предварительной оценки наличия и содержания компонентов, т.е. для предварительной оценки качества и разбраковки анализируемых проб [1].

Тест-методы основаны главным образом на цветных реакциях, например, реакциях комплексообразования, окисления-восстановления или люминесцентных свойствах. Реакции комплексообразования широко используют для определения ионов металлов, реже – для определения органических веществ. В тест-системах аналитические реагенты могут применяться: 1) в виде заранее приготовленных и фасованных растворов; 2) иммобилизованных на твердую матрицу (носитель); 3) в форме заранее взвешенных и упакованных доз в виде порошков, шариков, таблеток и т.д. В качестве твердых носителей могут быть использованы бумага, ткани, синтетические органические полимеры, силикагели и др. [1]

В сорбционном варианте селективность определения компонентов, как правило, возрастает. Улучшение избирательности обусловлено тем, что при иммобилизации органические реагенты благодаря геометрическим особенностям закрепления реагента на поверхности носителя в ряде случаев изменяют свои комплексообразующие свойства, например дентатность. Модифицированные сорбенты наиболее эффективно извлекают ионы металлов, которые образуют с иммобилизованным реагентом ионные ассоциаты или комплексные соединения.

Достоинства метода связаны не только с совмещением концентрирования и получением пригодной для тестирования аналитической формы концентрата, но и с увеличением кинетической устойчивости соединения в фазе сорбента по

сравнению с их устойчивостью в растворе [1]. Прямым следствием из этого является повышение селективности действия хромогенного реагента, обусловленное увеличением жесткости его молекулы вследствие закрепления на полимерной матрице сорбента.

Тестовые методы нашли более широкое применение для определения ионов металлов, в меньшей степени – органических веществ. Описано определение производных фенола, антиоксидантной активности вин и чая, а также аскорбиновой кислоты. Тест-определение фенолов предложено в [2-4]. Продукты окислительной конденсации фенола, 2-, 3-хлорфенола, 2,6-дихлорфенола, 2,4,6-трихлорфенола, пирокатехина, гидрохинона и резорцина с 4-аминоантипирином хроматографически разделяются на пластинах Силуфол [4]. При визуальной оценке интенсивности окраски зоны предел обнаружения составляет 4 мкг, с использованием рефрактометра – 0,4 мкг.

Проведена тест-оценка антиоксидантной активности растительных препаратов – чая и вин [5,6]. В качестве твердофазного реагента при этом использован иммобилизованный на силикагеле комплекс меди (II) с тетрабензотетраазациклогексадеценом. Разработан тест-метод определения п-оксибензойной и галловой кислот, основанный на их способности вступать в реакцию азосочетания с последующей сорбцией окрашенных продуктов на пенополиуретане (ППУ) [7].

В качестве диазосоставляющей использован катион 4-нитрофенил-диазония. При этом п-оксибензойная кислота окрашивает таблетки ППУ в темно-вишневый цвет, галловая – в коричневый. Содержание кислот определяют, сравнивая интенсивность окраски на ППУ с цветовой шкалой или измеряя светоотражение при помощи портативных минифотометров. Диапазон определяемых концентраций – 1-50 мкг/мл.

Для определения аскорбиновой кислоты предложены ксерогели кремниевой кислоты, модифицированные хромогенными аналитическими реагентами [8]. Диапазон определяемых концентраций 1-50 мг/л. Определение фенилуксусной кислоты, определяющей нарушение фенилаланинового обмена в организме человека, может быть проведено путем сорбции ее на силикагеле, обработанном полиэтиленполиамином. Индикацию кислоты проводят метиловым оранжевым в индикаторной трубке [9].

На кафедре химии, экспертизы и безопасности пищевых продуктов Одесской национальной академии пищевых технологий проведены исследования по использованию метода твердофазной люминесцентной спектроскопии для определения ряда антиоксидантов в пищевых продуктах и растительном сырье.

Использование в качестве аналитического сигнала люминесцентных свойств аналита в фазе сорбента позволяет устранить безызлучательные потери энергии возбуждения за счет увеличения жесткости при закреплении аналита в твердой фазе сорбента и тем самым увеличить интенсивность люминесценции.

Твердофазное определение тех или иных компонентов предполагает использование как собственной люминесценции лигандов, так и сенсibilизированную органическим лигандом люминесценцию ионов европия(III) или тербия(III).

С использованием сенсibilизированной люминесценции иона Tb(III) предложено [10] определение ванилина – маркера качества коньяков. Ванилин имеет в УФ-области спектра полосы поглощения с максимумами при $\lambda = 205, 231, 280$ и 310 нм с молярными коэффициентами поглощения 94100, 94600, 66000 и 67400. Триpletный уровень лиганда составляет 2140 см^{-1} , благодаря чему возможен внутримолекулярный перенос энергии возбуждения на ион Tb(III) ($E_t = 20500 \text{ см}^{-1}$). Интенсивная люминесценция Tb(III) с максимумом при 545 нм регистрируется в слое сорбента на пластинах для тонкослойной хроматографии. Наблюдаемый эффект использован для определения ванилина в коньяках с пределом обнаружения 0,15 мкг/мл.

Сенсibilизированная люминесценция Tb(III) в тонком слое сорбента (пластинки Sorbfil) применена также для определения галловой кислоты – маркера подлинности виноградных вин [11]. В качестве подвижной фазы использовали систему кислотного характера – этилацетат : уксусная кислота (95:5). В качестве проявляющего использованы раствор хлорида Tb(III) и раствор донорно-активного вещества – триоктилфосфиноксида. Интенсивность люминесценции регистрируют при $\lambda_{\text{изл.}} = 545$ нм. Предел обнаружения галловой кислоты – 0,002 мкг/мл.

Предложена [12] методика определения пропилгаллата, который сенсibilизирует люминесценцию ионов Tb(III). Сорбция комплекса осуществляется на сефадексе G-150 при pH раствора 4-5. Показана возможность определения консерванта пропилгаллата в пищевых и косметических маслах с использованием сорбата комплекса пропилгаллат -Tb (III)- β -циклодекстрин в интервале концентраций (0,08–30) мкг/мл с пределом обнаружения 0,02 мкг/мл.

Методика определения кофеина [13] в различных сортах кофе основана на эффекте тушения люминесценции люминесцентного сенсора Tb(III)-1,10-фенантролин- β -циклодекстрин кофеином. Выделение кофеина из анализа проводили методом ТСХ на пластинках марки Merck TLC Aluminium Plates, используя в качестве подвижной фазы смеси растворителей бензол : метанол : уксусная кислота (10:5:1). В качестве проявляющих применены растворы хлорида Tb(III), 1,10-фенантролина, β -циклодекстрина. Тушение люминесценции иона Tb(III) наблюдают в свете ртутно-кварцевой лампы при $\lambda_{\text{возб.}} = 365$ нм и излучения – 545 нм. Предел обнаружения кофеина составляет 0,02 мкг/мл.

Разработана [14] методика тест-определения суммы полифенольных соединений, проявляющих свойства антиоксидантов, содержащихся в растительном сырье, применяющихся при производстве различных

биологически активных добавок и определяющих качество пищевых продуктов. В качестве стандарта предложено использовать галловую кислоту, в качестве люминесцентного сенсора – комплексное соединение Tb(III) – галловая кислота в присутствии донорно-активной добавки – триоктилфосфиноксида. Сорбция полифенольных соединений и стандарта осуществляется на сорбенте Sephadex G-75. Зависимость $I_{\text{люм}}$ сорбата комплекса от концентрации галловой кислоты линейна в диапазоне 0,045–1,7 мкг/мл, предел обнаружения составляет 0,025 мкг/мл.

Собственная люминесценция антиоксидантов в твердой фазе сорбента использована для определения хлорогеновой кислоты (ХК) [15] в зернах кофе и катехинов [16] в чаях. Для усиления собственной люминесценции ХК использовано ее комплексообразование с ионами иттрия в присутствии донорно-активной добавки – триоктилфосфиноксида и неионогенного ПАВ – Тритон X-100. $I_{\text{люм}}$ ХК измеряют при $\lambda_{\text{люм}} = 515$ нм при $\lambda_{\text{возб.}} = 365$ нм. Сорбцию проводят на фосфате алюминия. Линейная область зависимости $I_{\text{люм}}$ сорбатов комплексов от концентрации ХК наблюдается в диапазоне концентраций 0,001–0,07 мкг/мл. Предел обнаружения составляет 0,035 мкг/мл.

Люминесцентный сенсор Sc(III)-катехины предложен в [16] для определения суммы катехинов. Для усиления аналитического сигнала применен лаурилсульфат натрия. Сорбцию осуществляют на сорбенте сефадекс G-75, $\lambda_{\text{возб.}} = 365$ нм, $\lambda_{\text{изл.}} = 507$ нм. Предел обнаружения составляет 0,1 мкг/мл.

Собственная люминесценция лигандов, усиленная при комплексообразовании с ионами иттрия (III) или скандия (III) использована также при определении флавоноидов – кверцетина, рутина и морина в растительном сырье [17-19].

Методика определения кверцетина основана на регистрации $I_{\text{люм}}$ сорбатов его комплекса с Y(III) на фосфате алюминия при $\lambda_{\text{возб.}} = 360$ нм, $\lambda_{\text{изл.}} = 540$ нм. $I_{\text{люм}}$ сорбатов пропорциональна содержанию кверцетина $(0,005–0,015) \cdot 10^{-3}$ моль/л. Предел обнаружения составляет 0,015 мкг/мл.

При определении рутина используют собственную люминесценцию его комплекса с иттрием (III) и бычьим сывороточным альбумином (БСА) на сорбенте Sephadex G-75. В этом случае осуществляется внутримолекулярный перенос энергии, БСА выступает в качестве донора энергии возбуждения, а рутин – в качестве акцептора, в результате чего $I_{\text{люм}}$ возрастает. $I_{\text{люм}}$ сорбатов комплексов пропорциональна в интервале концентраций рутина $(0,005 – 0,01) \cdot 10^{-3}$ моль/л, предел обнаружения 0,06 мкг/мл.

Определение морина основано на регистрации $I_{\text{люм.}}$ сорбата его комплекса со Sc(III) в присутствии БСА на сорбенте Sephadex G-75 при $\lambda_{\text{изл.}} = 521$ нм. $I_{\text{люм.}}$ сорбатов в этом случае пропорциональна содержанию морина в диапазоне концентраций $(0,005 – 0,002) \cdot 10^{-3}$ моль/л, предел обнаружения – 0,06 мкг/мл.

Таким образом, проведенные исследования позволяют заключить, что метод твердофазной люминесцентной спектроскопии с регистрацией аналитического сигнала непосредственно в фазе сорбента, дает возможность провести предварительное выделение и концентрирование определяемого компонента и повысить чувствительность его определения. Кроме того, эти методы позволяют осуществлять с помощью портативных приборов или визуальное определение качества, безопасности или фальсификации пищевых продуктов.

Литература

1. Золотов Ю.А., Иванов В.М., Амелин В.Г. Химические тест-методы анализа. – М.: УРСС. – 2006. – 306 с.
2. Тест-средства на основе полиуретана для анализа объектов окружающей среды / С.Г. Дмитриенко, Л.М. Пляжкова, О.А. Свиридова, Ю.А. Золотов // Тезисы докл. Всероссийского симпозиума «Тест-методы химического анализа». – М. – 2001. – Л. 1.
3. Шеховцова Т.Н. Тест-методы определения биологически активных веществ на основе иммобилизованных ферментов / Т.Н. Шеховцова, И.Ф. Долманова // Тезисы докл. Всероссийского симпозиума «Тест-методы химического анализа». – М. – 2001. – Л. 8.
4. Моросанова Е.И. Тонкослойная хроматография: тест-определение фенолов и папаверина / Е.И. Моросанова, А.А. Собко, Н.В. Яшин // Тезисы докл. Всероссийского симпозиума «Тест-методы химического анализа». – М. – 2001. – с. 34.
5. Крушинська О.А. Тест-оцінка антиоксидантної активності червоних вин / О.А. Крушинська, О.А. Запорожець // Вісник КНУ ім. Т. Шевченка, Сер. Хімія. – 2005. – т. 41. – с.21-23.
6. Тест-визначення антиоксидантної активності чорного та зеленого чаю сорбційно-спектрофотометричним методом / О.А. Крушинська, О.А. Запорожець, Н.О. Ліповська, В.М. Барвінченко // Тези доп. Всеукр. Наук. Конф. «Сучасні проблеми гігієни, токсикології та аналітичної хімії». – Київ. – 2003. – с. 90.
7. Тест-средства на основе пенополиуретанов для определения п-оксибензойной и галловой кислот / О.М. Медведева, С.Г. Дмитриенко, А.А. Иванов, О.А. Шпигун // Тезисы докл. Всероссийского симпозиума «Тест-методы химического анализа». – М. – 2001. – Л. 1.
8. Ксерогели кремниевой кислоты, модифицированные хромогенными аналитическими реагентами, для тест-определения неорганических и органических соединений / Е.И. Моросанова, А.А. Великородный, Ж.М. Азарова, Ю.А. Золотов // Тезисы докл. Всероссийского симпозиума «Тест-методы химического анализа». – М. – 2001. – Л. 18.

9. Милейко В.Е. Анализ воздуха индикаторными трубками и пассивными дозиметрами // Тезисы докл. Всероссийского симпозиума «Тест-методы химического анализа». – М. – 2001. – с. 51.
10. Бельтюкова С.В. Люминесцентное определение маркера качества коньяка – ванилина / С.В. Бельтюкова, О.В. Теслюк, Е.О. Ливенцова // Вісн. Одеськ. нац. ун-ту. – 2006. – т. 11., №4. – с. 35-40.
11. Бельтюкова С.В. Применение метода тонкослойной хроматографии для люминесцентного определения галловой кислоты в винах и зеленом чае / С.В. Бельтюкова, О.В. Теслюк, Е.О. Ливенцова // Вісн. Одеськ. нац. ун-ту. – 2003. – т. 8, №8. – с. 220-225.
12. Бельтюкова С.В. Сорбционно-люминесцентное определение пропи-лгаллата в пищевых и косметических маслах / С.В. Бельтюкова, А.А. Бычкова // Тр. Одес. политехн. ун-та. – 2009. – Вип. 2, №32. – с. 225-229.
13. Теслюк О.И., Бельтюкова С.В., Ливенцова Е.О. Определение кофеина по тушению сенсibiliзированной люминесценции комплексного соединения иона Tb(III). Вісник ОНУ. Сер. Хімія. – 2013, Т. 18, вип. 1(45). – с. 57-62.
14. Бельтюкова С.В. Люмінесцентне визначення суми поліфенольних сполук у лікарських рослинах / С.В. Бельтюкова, Г.О. Бичкова // Фармацевтичний журнал. – 2001. – №5. – с. 82-86.
15. Бельтюкова С.В. Люминесцентное определение хлорогеновой кислоты в зернах кофе / С.В. Бельтюкова, А.А. Бычкова // Вопросы химии и химической технологии. – Днепропетровск. – 2010. – №3. – с. 57-58.
16. Бельтюкова С.В. Определение катехинов методом твердофазной люминесцентной спектроскопии / С.В. Бельтюкова, А.А. Бычкова // Методы и объекты хим. анализа. – 2012. – Т. 7, №2. – с. 76-81.
17. Бельтюкова С.В. Сорбционно-люминесцентное определение квер-цетина в лекарственных растениях / С.В. Бельтюкова, А.А. Бычкова // Труды Одесского национального политехнического университета. – 2008. – Вип. 2, №30. – с. 242-246.
18. Бельтюкова С.В. Сорбционно-люминесцентное определение рутина в фармацевтических препаратах / С.В. Бельтюкова, А.А. Бычкова // Науков. Вісн. Ужг. ун-ту. Хімія. – 2008. – Вип. 19-20. – с. 93-98.
19. Бельтюкова С.В. Сорбционно-люминесцентное определение морина в растительном сырье / С.В. Бельтюкова, А.А. Бычкова // Вісн. Одеськ. нац. ун-ту. Хімія. – 2008. – Т. 13, вип. 12. – с. 91-97.