

# 茶叶籽成分综合提取工艺研究

袁宏莉, 杨雨荣, 潘柔柔, 杨再琴, 陈康, 曹剑锋\*, 孟泽彬

贵州师范学院药用植物生物技术研究所, 贵州 贵阳

收稿日期: 2022年3月21日; 录用日期: 2022年5月20日; 发布日期: 2022年5月31日

## 摘要

本研究以茶叶籽为试验材料, 采用乙醇水溶剂与盐互作法, 利用超声波辅助提取, 探讨茶叶籽中多种成分绿色提取制备的综合利用工艺。选择提取温度、提取时间和乙醇浓度等为自变量进行单因素试验, 在单因素结果基础上进行正交试验, 通过响应面法优化超声波辅助提取茶叶籽有效成分工艺。结果表明: 茶叶籽粉以15%乙醇溶液为提取溶剂, 料液比1:7 g/mL, 提取温度60°C, 提取时间50 min, 提取时加入氯化钠浓度为0.2 mol/L, 此条件下的得油率为20.567%, 能有效将茶叶籽多糖、茶叶籽油、淀粉等提取。

## 关键词

茶叶籽, 超声波, 乙醇提取, 响应面法

# Study on Comprehensive Extraction Process of Various Compositions in Tea Seed

Hongli Yuan, Yurong Yang, Rourou Pan, Zaiqin Yang, Kang Chen, Jianfeng Cao\*, Zebin Meng

Institute of Medicinal Plant Biotechnology, Guizhou Education University, Guiyang Guizhou

Received: Mar. 21<sup>st</sup>, 2022; accepted: May 20<sup>th</sup>, 2022; published: May 31<sup>st</sup>, 2022

## Abstract

In this study, tea seeds were used as experimental materials, and the comprehensive utilization technology of green extraction and preparation of various components in tea seeds was discussed by using the interaction method of ethanol, water solvent and salt and ultrasonic-assisted extraction. The extraction temperature, extraction time and ethanol concentration were selected as independent variables to carry out single factor experiments. Based on the single factor results, orthogonal experiments were conducted to optimize the ultrasonic-assisted extraction process of effective components from tea seeds by response surface methodology. The results showed that

\*通讯作者。

the optimal extraction conditions were found to be extraction at 60°C for 50 min with 15% ethanol and 0.2 mol/L sodium chloride solution as the extraction solvent, and a material to liquid ratio of 1:7 g/mL. Under the optimal conditions, the oil yield of tea seed powder was 20.567%, tea seed polysaccharide, tea seed oil and starch could be effectively extracted.

## Keywords

Tea Seed, Ultrasonic Wave, Ethanol Extraction Method, Response Surface Methodology

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

近年来,随着我国茶产业的大力发展和茶树种植面积越来越大,茶树资源成为一个巨大产业资源,茶叶籽作为副产物,其产量和资源总量也十分可观。对于茶树资源的利用,主要集中在“茶叶”部分。由于茶叶籽含有茶叶籽油[1]、多糖[2]、淀粉以及茶皂素[3]等多种有价值经济成分,所以对茶叶籽资源的开发利用具有巨大的经济价值。目前对茶叶籽成分开发利用方面主要集中在单一成分提取利用上,茶叶籽内含各成分在生产、分离、提纯及综合利用等技术还在探索和完善中。在实际生产中,提取茶叶籽油时受到淀粉与蛋白的影响乳化严重,导致清油难以提取[4],在提取多糖时常有蛋白质和淀粉混入其中影响多糖的应用与性能[5],故尚未见到采用综合利用工艺同时生产茶叶籽油、茶叶籽多糖等成分的报道。本研究以贵州铜仁茶叶籽为原料,参考前人茶叶籽资源开发利用的技术工艺,在水溶剂法提取茶油的基础上[6] [7],依据低浓度乙醇使得可溶性淀粉沉淀[8] [9]促进茶皂素的溶解;盐可以促使蛋白质沉降,减轻其对油的乳化[10],油水分离时使油可以充分暴露出来;进一步调节水溶液 pH 使得蛋白沉降,同时带走水溶液中残余的可溶性淀粉,解决水溶剂法直接提取用茶叶籽多糖时淀粉难以除去的问题;通过醇沉的方式分离茶叶籽多糖与茶皂素。最终使茶叶籽各成分得到较好的分离提取,实现综合提取制备目的。所以本试验研究采用乙醇水溶剂与盐互作法,充分考虑茶叶籽中各主要成分的性质和提取过程中的影响因素,使茶叶籽的经济价值得到充分实现,为茶叶籽的资源利用和工业化生产提供参考依据。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 化学试剂

无水乙醇(天津市富宇精细化工有限公司),苯酚(天津市永大化学试剂有限公司),硫酸(国药集团化学试剂有限公司),氯化钠(国药集团化学试剂有限公司),冰乙酸(天津市富宇精细化工有限公司)。

### 2.2. 试验材料

茶叶籽,于 2019 年 12 月采自贵州省铜仁市某标准化茶园,其质地脆硬,无霉变及虫蛀,洁净光亮,呈棕褐色。将茶叶籽置于 50°C 烘箱中,使其中水分降到 10% 以下后用剥壳机剥壳。茶叶籽仁粉碎后,储存于干燥环境下,备用。

### 2.3. 试验仪器与设备

101-3A 型电热鼓风干燥箱(天津市泰斯特仪器有限公司),旋转蒸发器 RE-52AA (上海雅荣生化仪器设备有限公司),SHB-(III)循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司),KQ5200DE 型数控超声波清

洗器(昆山市超声仪器有限公司), 万分电子天平(上海精密科学仪器有限公司), L-550 台式低速大容量离心机(长沙市湘仪离心机仪器有限公司), FW-100 高速万能粉碎机(黄骅市振兴机械仪器厂)。

## 2.4. 试验方法

茶叶籽中多种成分提取工艺流程如图 1 所示。

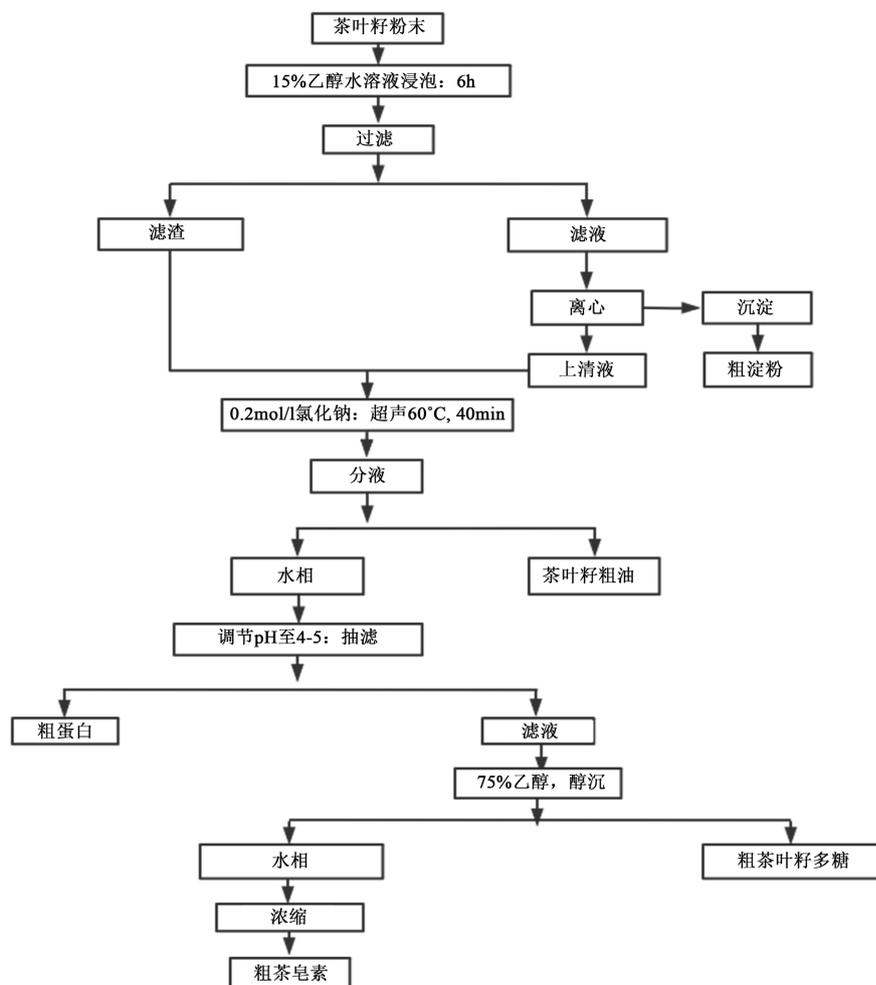


Figure 1. Test flow chart

图 1. 试验流程图

### 2.4.1. 淀粉浸提

在室温条件下, 在 10 g 茶叶籽粉(含水率在 10% 以下)中加入 70 mL 15% 乙醇溶液搅拌 10 分钟后进行浸泡。以浸泡时间设置单因素试验, 过滤, 将滤液进行离心, 4000 r/min 离心 5 min。将上清液与过滤后得到的残渣混合, 收集用于后续提取。收集离心得到的沉淀, 用 100 mL 蒸馏水进行洗涤, 每次洗涤静置 10 min, 共洗涤三次。弃洗液, 洗涤完后将淀粉沉淀置于 50℃ 烘箱中, 干燥即得茶叶籽淀粉。

### 2.4.2. 单因素试验

固定超声波功率 200 W, 提取时间 40 min, 料液比 1:7 g/mL [11], 探究提取温度 40℃, 50℃, 60℃, 70℃ 中的最佳温度; 固定超声波功率 200 W, 提取温度 60℃, 料液比 1:7 g/mL, 探究提取时间 30, 40, 50, 60, 70 min 中的最佳提取时间, 以得油率为考察指标, 重复三次。

### 2.4.3. 响应面试验

在单因素试验基础上,选取提取时间、提取温度、乙醇浓度和盐浓度为自变量,以得油率为响应值,按 Box-behnken Design (BBD)原理设计响应面试验。根据试验结果进行优化分析,再进行验证试验,以得到最优提取工艺。

### 2.4.4. 茶叶籽油和粗蛋白质的提取

超声波提取后将残渣过滤出来,滤液用分液漏斗静置 30 min 后,上层得到茶叶籽油。下层溶液调节 pH 后进行抽滤,即得粗蛋白质。

### 2.4.5. 茶叶籽多糖的提取

前述 2.4.4 步试验抽滤后水相用 75%乙醇醇沉 8 h。醇沉后离心,4000 r/min 离心 10 min。离心得到的固体真空冷冻干燥后即得茶叶籽多糖。

### 2.4.6. 茶皂素的提取

前述 2.4.5 步试验离心后的上清液进行浓缩精炼,即得茶皂素。

## 2.5. 数据处理

试验重复 3 次,试验结果取 3 次平均值±标准差,数据处理采用 SPSS 及 Design-Expert.V 8.0.6.1.软件设计响应面试验。

### 2.5.1. 计算清油得率

计算公式如下:得油率 = 得油重量 ÷ (总重量 - 除杂重量) × 100%。

### 2.5.2. 计算多糖得率

计算公式如下:多糖得率 = 多糖质量 ÷ (总重量 - 除杂重量) × 100%。

## 3. 结果与分析

### 3.1. 淀粉的提取

茶叶籽材料起始用低浓度乙醇浸泡的时间试验结果如图 2 和图 3,浸泡时长为 6 h 时效果最好,淀粉得率为 19.37%,浸泡处理后茶叶籽油得率为 20%。

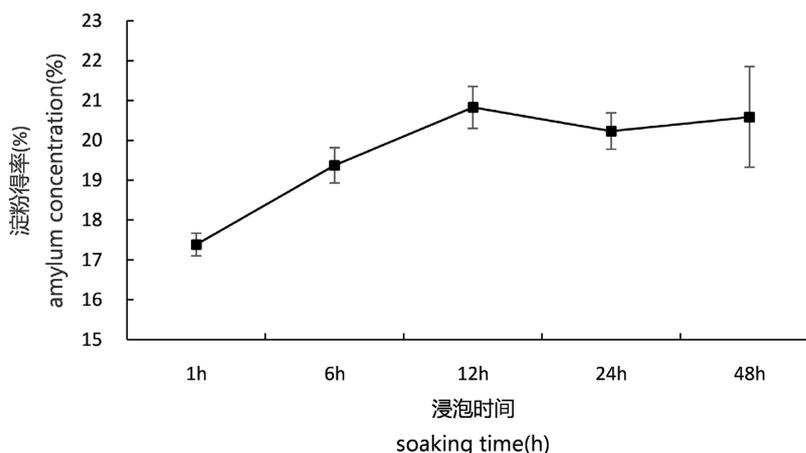


Figure 2. Effect of soaking time on starch yield

图 2. 浸泡时间对淀粉得率的影响

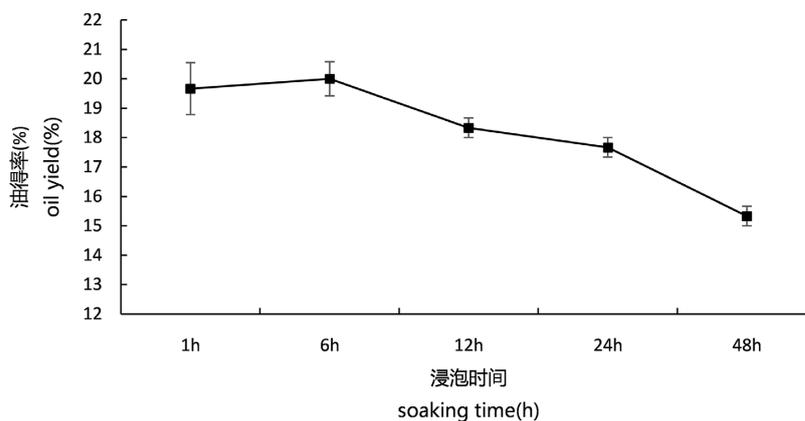


Figure 3. Effect of soaking time on oil yield

图 3. 浸泡时间对得油率的影响

## 3.2. 单因素试验结果

### 3.2.1. 提取温度对得油率的影响

不同温度对得油率的影响如图 4 所示。随着提取温度的升高，茶叶籽油得油率先升高后下降。可能由于提取温度升高，反应体系中油脂分子和溶剂分子获得的动能变大，从而有利于油脂的浸出。当温度达到 60℃时，得油率达到最大值，为 21.33%，当温度超过 60℃得油率反而下降，原因可能是温度过高，使油脂中的部分活性成分挥发，导致得油率降低。因此在试验选定的范围内，确定最佳温度为 60℃。

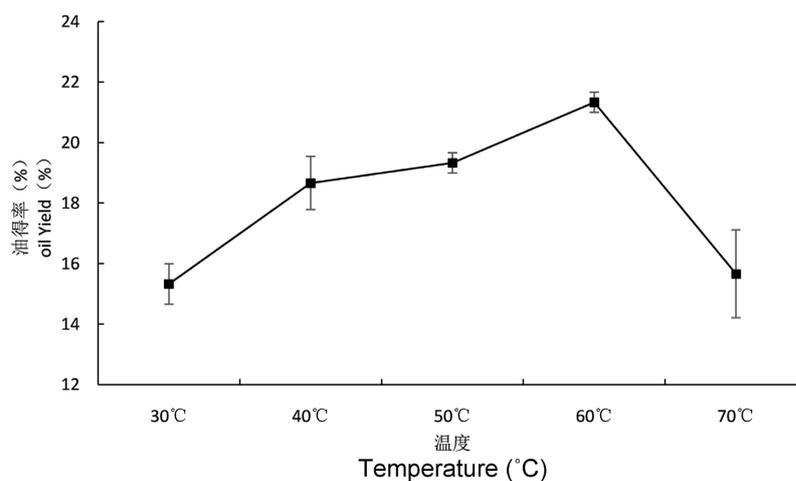


Figure 4. Effect of extraction temperature on oil yield

图 4. 提取温度对得油率的影响

### 3.2.2. 提取时间对得油率的影响

不同提取时间对得油率的影响如图 5 所示。由图可知，随着提取时间的延长，得油率逐渐增加，40 min 时得油率为 20.83%，随着提取时间延长，油的得率增加趋势并不明显，因此在试验选定的范围内，确定最佳提取时间为 40 min。

### 3.2.3. 盐浓度对得油率的影响

不同盐浓度对得油率的影响如图 6 所示。

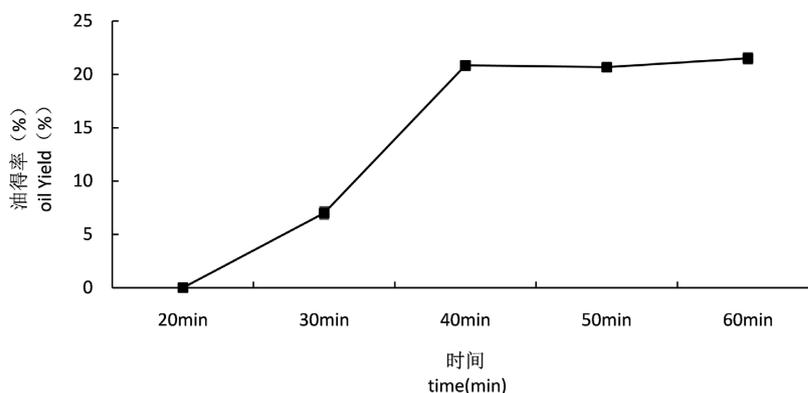


Figure 5. Effect of extraction time on oil yield

图 5. 提取时间对得油率的影响

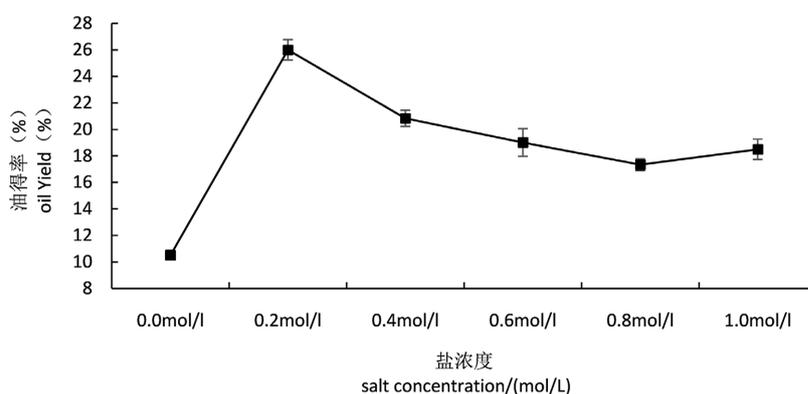


Figure 6. Effect of salt concentration on oil yield

图 6. 盐浓度对得油率的影响

不同盐浓度对得油率的影响如图 6 所示, 当盐浓度为 0.2 mol/L 时, 得油率达到最大值 26.00%。随着盐浓度的增大, 得油率逐渐减小, 当盐浓度为 1.0 mol/L 时, 得油率有所提高, 但不是最优值, 因此在试验选定的范围内, 确定最佳盐浓度为 0.2 mol/L。

### 3.2.4. 乙醇浓度对得油率的影响

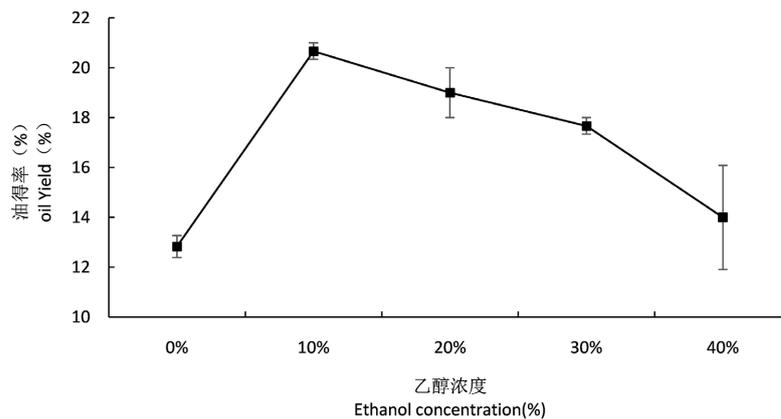
不同乙醇浓度对得油率的影响如图 7 所示, 当乙醇浓度在 10% 时, 得油率达到最大值为 20.67%。当乙醇浓度继续增大时, 得油率反而下降, 原因可能是乙醇浓度过高使得蛋白变性包裹着油沉淀。因此在试验选定的范围内, 确定最佳乙醇浓度为 10%。

### 3.2.5. 提取温度对多糖得率的影响

不同提取温度对多糖得率的影响如图 8 所示, 随着提取温度的升高, 多糖得率先升高后下降。当温度达到 60℃ 时, 多糖得率达到最大值为 3.97%, 当温度超过 60℃ 多糖得率反而下降, 原因有可能是温度过高破坏了茶叶籽多糖的结构。因此在试验选定的范围内, 确定最佳温度为 60℃。

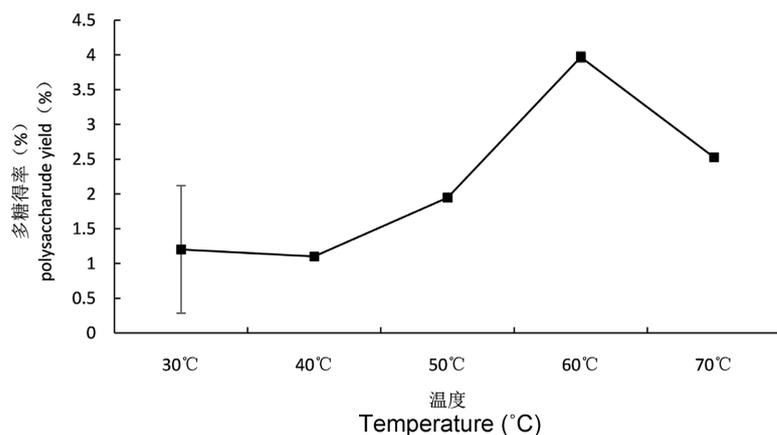
### 3.2.6. 盐浓度对多糖得率的影响

不同盐浓度对多糖得率的影响如图 9 所示, 随着盐浓度的升高, 多糖得率先增加后减少。当盐浓度为 0.8 mol/L 时, 多糖得率达到最大值 3.96%。当盐浓度为 1.0 mol/L 时, 多糖得率反而下降。原因可能是盐浓度为 0.8 mol/L 时正好为蛋白等电点, 此时继续调节 pH 沉降蛋白时, 不带走茶叶籽多糖。因此在试验选定的范围内, 确定最佳盐浓度为 0.8 mol/L。



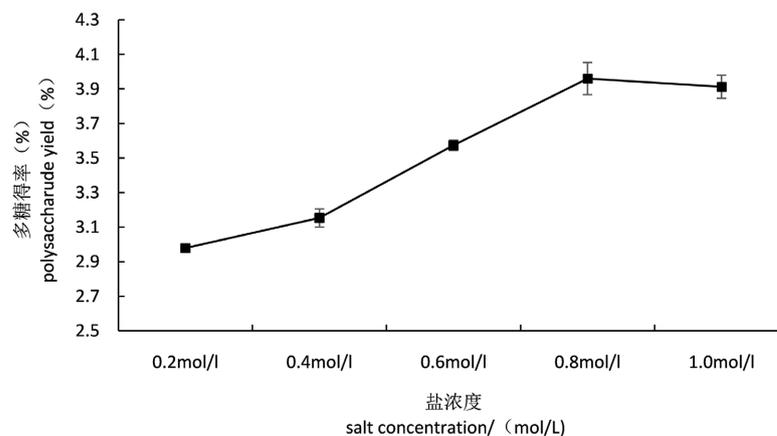
**Figure 7.** Effect of different ethanol concentrations on oil yield

**图 7.** 不同乙醇浓度对得油率的影响



**Figure 8.** Effect of different extraction temperatures on polysaccharide yield

**图 8.** 不同提取温度对多糖得率的影响



**Figure 9.** Effect of different salt concentrations on polysaccharide yield

**图 9.** 不同盐浓度对多糖得率的影响

### 3.2.7. 盐浓度对蛋白质得率的影响

不同盐浓度对蛋白质得率的影响如图 10 所示, 当盐浓度为 0.8 mol/L, 蛋白质得率达到最大值为 28.75%。因此在试验选定的范围内, 确定最佳盐浓度为 0.8 mol/L。

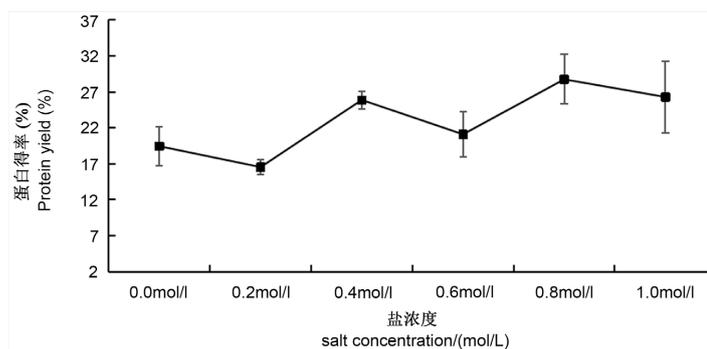


Figure 10. Effect of different salt concentrations on protein yield

图 10. 不同盐浓度对蛋白质得率的影响

### 3.2.8. 提取时间对蛋白质得率的影响

不同提取时间对蛋白质得率的影响如图 11 所示，当提取时间为 30 min 时，蛋白质得率达到最大值为 25.08%。随着提取时间的延长，蛋白质得率有点波动，但是总体呈逐渐减小趋势，因此在试验选定的范围内，确定最佳提取时间为 30 min。

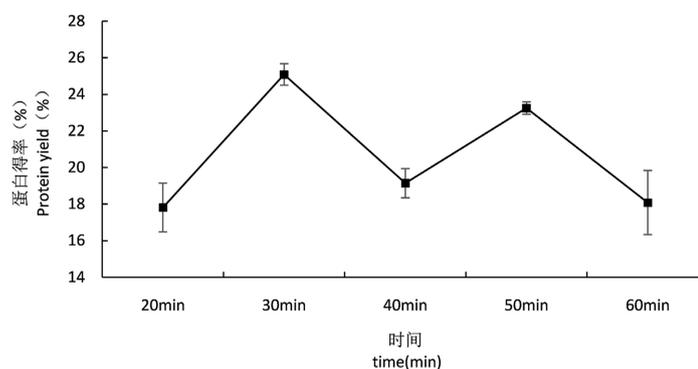


Figure 11. Effects of different extraction times on protein yield

图 11. 不同提取时间对蛋白质得率的影响

### 3.2.9. 提取温度对皂素得率的影响

不同提取温度对皂素得率的影响如图 12 所示，随着提取温度的升高，皂素得率先升高后下降，温度

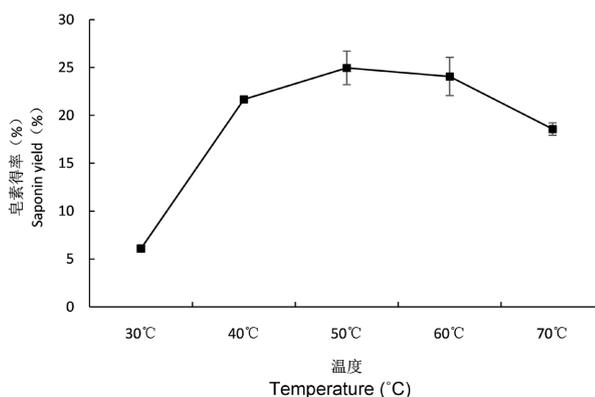


Figure 12. Effect of different extraction temperatures on saponin yield

图 12. 不同提取温度对皂素得率的影响

达到 50℃时, 皂素得率达到最大值为 24.95%, 当温度低于 50℃时, 由于温度不够高、时间不够长, 茶皂素在水中未能充分溶解, 提取率较低, 但超过 50℃皂素得率反而下降, 原因可能是温度过高使得溶液中的乙醇挥发, 导致茶皂素在溶液中的溶解度下降; 因此在试验选定的范围内, 确定最佳温度为 50℃。

### 3.3. 茶叶籽油提取率优化

#### 3.3.1. 响应面模型的建立

根据单因素试验结果, 选取提取温度(A)、乙醇浓度(B)、盐浓度(C)、提取时间(D)为自变量, 以得油得率为 Y 值, 采用 Box-behnken Desig 原理进行试验设计。试验的因素和水平表如表 1 所示。

**Table 1.** Level coding values of response surface test factors

**表 1.** 响应面试验因素水平编码值表

水平	因素			
	A 提取温度(℃)	B 乙醇浓度(%)	C 盐浓度(mol/l)	D 提取时间(min)
-1	50	0	0	30
0	60	10	0.2	40
1	70	20	0.4	50

#### 3.3.2. 响应面模型的显著性检验

由表 2、表 3 得回归方程为:

$$y = 20.57 + 2.67A - 0.58B + 0.94C + 1.39D - 0.37AB + 2.75AC - 0.13AD + 2.325BC - 2.05BD - 0.75CD - 4.61A^2 - 0.394B^2 - 3.4C^2 - 2.025D^2$$

回归方程  $R^2$  和  $R^2_{Adj}$  值分别为 0.87810.7359, 说明该回归方程可以分别解释响应值变化的 87.81% 和模型经校正以后 73.59% 的响应值变化。AP (信噪比) = 8.280 > 4, 表明该回归方程的拟合度和可信度均较高。由表 3 可知, 在影响茶叶籽油提取率的各因素中, A、D、 $A^2$ 、 $B^2$ 、 $C^2$  项表现出显著性影响; 由于 AC 和 BC 项对提取率有显著性影响, 表明影响茶叶籽油提取率的因素间也有交互作用。

**Table 2.** Response surface test methods and results

**表 2.** 响应面试验方法及结果

试验号	A	B	C	D	Y 得率(%)
1	0	0	1	-1	17.5
2	-1	0	1	0	8.5
3	0	-1	1	0	9
4	0	0	0	0	21.2
5	0	0	-1	-1	11.5
6	0	1	1	0	15.5
7	0	1	0	-1	13
8	-1	-1	0	0	10

Continued

9	1	1	0	0	14
10	1	-1	0	0	17
11	-1	0	0	1	13.5
12	0	0	0	0	19.5
13	0	-1	0	1	19.2
14	0	1	-1	0	13.2
15	0	0	-1	1	15
16	1	0	-1	0	10
17	1	0	0	1	18
18	-1	1	0	0	8.5
19	-1	0	-1	0	10.5
20	-1	0	0	-1	10
21	0	0	1	1	18
22	1	0	0	-1	15
23	1	0	1	0	19
24	0	1	0	1	12
25	0	-1	0	-1	12
26	0	0	0	0	21
27	0	-1	-1	0	16

Table 3. Response surface analysis of variance results

表 3. 响应面方差分析结果

变异原因	平方和	自由度	均方	F 值	Prob > F	显著性
模型	353.97	14	25.28	6.18	0.0016	*
A	85.33	1	85.33	20.84	0.0006	**
B	4.08	1	4.08	1.00	0.3377	
C	10.64	1	10.64	2.60	0.1329	
D	23.24	1	23.24	5.68	0.0346	*
AB	0.56	1	0.56	0.14	0.7174	
AC	30.25	1	30.25	7.39	0.0187	*
AD	0.063	1	0.063	0.015	0.9037	
BC	21.62	1	21.62	5.28	0.0403	*
BD	16.81	1	16.81	4.11	0.0656	
CD	2.25	1	2.25	0.55	0.4728	

Continued

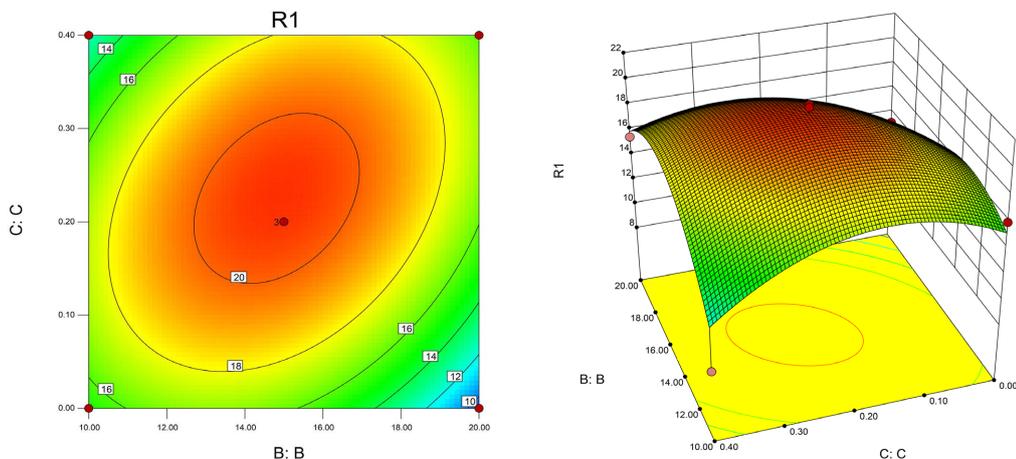
$A^2$	113.47	1	113.47	27.71	0.0002	**
$B^2$	82.69	1	82.69	20.19	0.0007	**
$C^2$	61.65	1	61.65	15.06	0.0022	**
$D^2$	21.87	1	21.87	5.34	0.0394	*
剩余	49.13	12	4.09			
失拟项	47.41	10	4.74	5.49	0.1638	不显著
纯误差	1.73	2	0.86			
总误差	403.11	26				

### 3.3.3. 两因子交互作用的响应面分析

根据试验回归分析结果作响应曲面图, 得到开口向下的响应面曲面的图, 说明因素间交互作用影响提油率存在最大值。模型中各因素之间交互作用如图 13~18 所示。响应曲面的坡度越陡说明影响因素的变化对提取率影响越大, 试验结果变化越显著。交互效应的强弱可以用等高线的形状进行确定。由图 13 和图 14 可知, 等高线呈椭圆形, 说明盐浓度和提取温度、盐浓度和酒精浓度的交互作用对提油率的影响具有显著性; 由图 15 和图 18 可知, 提取温度和时间、酒精浓度和提取时间之间的无显著交互作用。而图 16 和图 17 的等高线为椭圆形, 说明两者有交互作用, 但其曲线坡度较小, 两者之间交互作用不显著。根据等高线的疏密程度可确定试验选定的各因素对提油率影响大小顺序为: 提取温度 > 盐浓度 > 提取时间 = 酒精浓度。当在提取温度 60℃、乙醇浓度为 15%、氯化钠浓度为 0.2 mol/L、提取时间 50 min 时达到最优值, 为 20.567%。在前述优化得到的最佳提取工艺条件下进行 3 次重复试验, 结果 20.15% 与预期值 20.567% 偏差小于 5%, 说明结果可靠试验工艺可行。

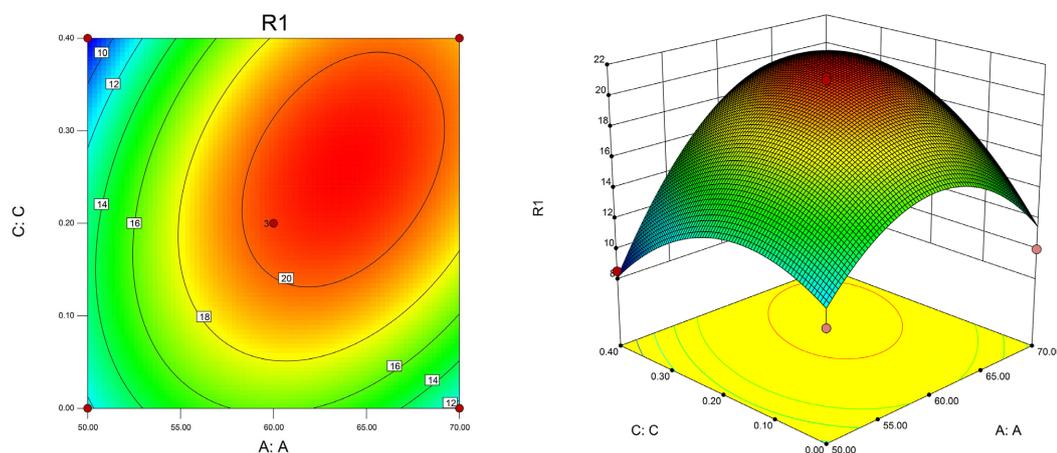
### 3.4. 茶叶籽油检测分析

皂化值、酸价、碘价是反映油脂质量的重要指标, 以本试验方法提取制备的茶叶籽清油按照国家标准方法进行检测分析, 结果如表 4 所示。3 项指标均符合国家标准要求。所以, 用此法提取茶叶籽油在获得较高得率的同时, 所得油脂品质达标。



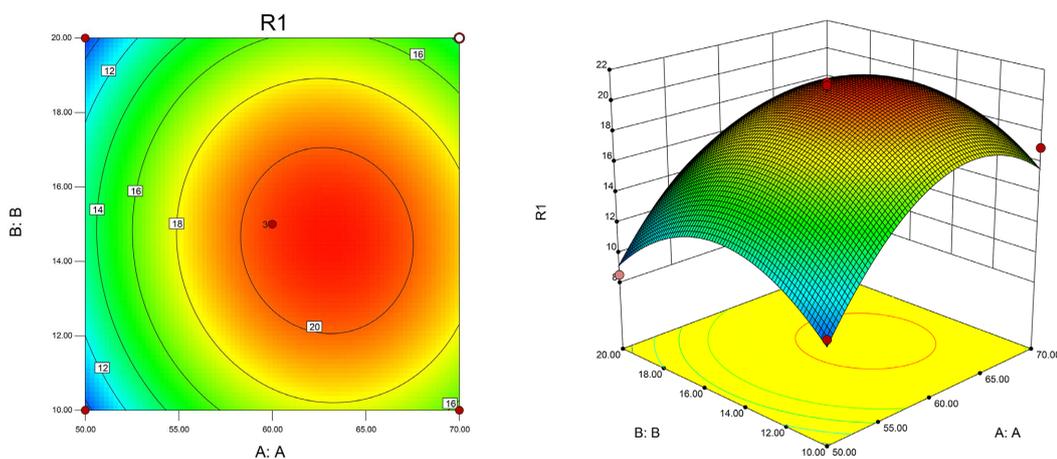
**Figure 13.** Interaction of extracted salt concentration and ethanol concentration on tea seed oil yield contour plot and response surface plot

**图 13.** 提取盐浓度和乙醇浓度对茶叶籽油得率交互作用等高线图和响应面图



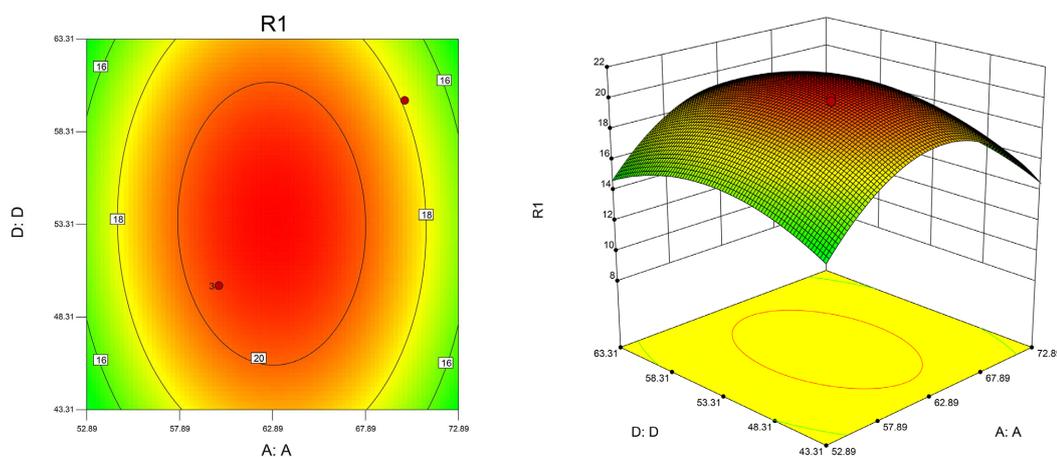
**Figure 14.** Interaction of extraction temperature and salt concentration on tea seed oil yield contour plot and response surface plot

**图 14.** 提取温度和盐浓度对茶叶籽油得率交互作用等高线图和响应面图



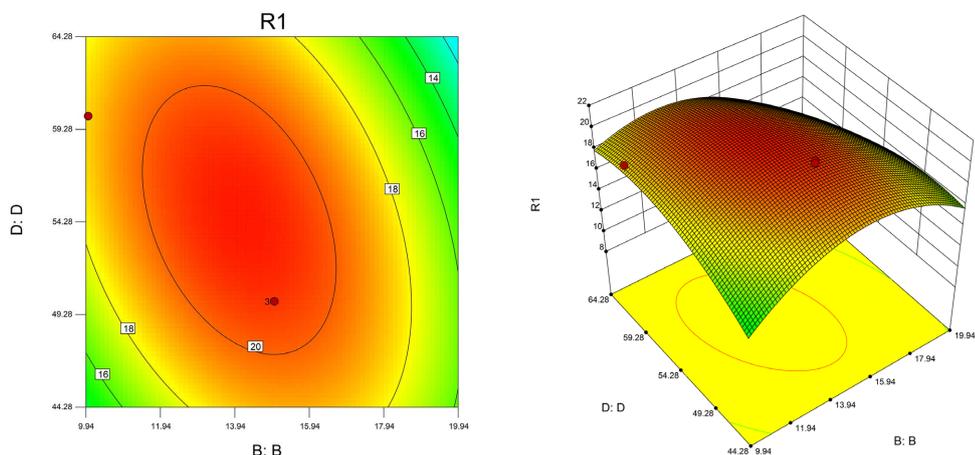
**Figure 15.** Contour plot and response surface plot of the interaction between extraction temperature and ethanol concentration on tea seed oil yield

**图 15.** 提取温度和乙醇浓度对茶叶籽油得率交互作用等高线图和响应面图

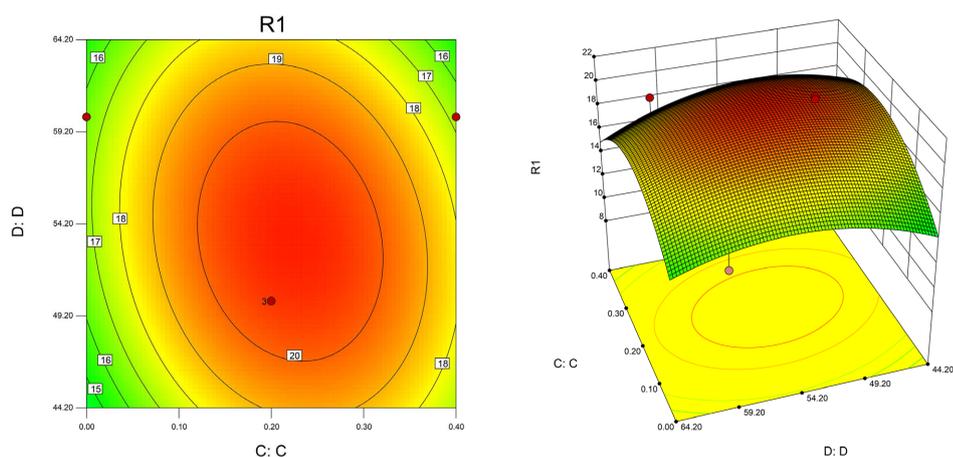


**Figure 16.** Interaction of extraction temperature and extraction time on tea seed oil yield contour plot and response surface plot

**图 16.** 提取温度和提取时间对茶叶籽油得率交互作用等高线图和响应面图



**Figure 17.** Interaction of extraction time and ethanol concentration on tea seed oil yield contour plot and response surface plot  
**图 17.** 提取时间和乙醇浓度对茶叶籽油得率交互作用等高线图和响应面图



**Figure 18.** Interaction of extraction time and salt concentration on tea seed oil yield contour plot and response surface plot  
**图 18.** 提取时间和盐浓度对茶叶籽油得率交互作用等高线图和响应面图

**Table 4.** Tea seed oil quality values

**表 4.** 茶籽油品质数值

茶叶籽油	酸价/(mg/g)	碘价	皂化值(KOHmg/g)
数值	3.46	87	185.4

## 4. 结论

本研究采用乙醇水溶剂与盐互作法，在单因素试验基础上采用响应面法优化进行正交分析，得到茶叶籽综合利用优化工艺。结果表明：在提取温度 60℃、乙醇浓度为 15%、氯化钠浓度为 0.2 mol/L、提取时间 50 min 时，茶叶籽多糖、茶叶籽油、淀粉等物质综合提取率达到最优。油得率达 20%、茶叶籽多糖得率达 3.9%、淀粉得率达 10%、蛋白得率达 15%。试验证明，本提取工艺具有实际可操作性和较强的实际应用价值。

## 基金项目

本项目由国家级大学生创新创业训练项目“茶叶籽多糖绿色提取工艺研究”(202014223032)；贵州省

科技厅奖励基金项目(黔教合 KY 字(2017) 5790-06); 贵州省茶籽资源综合利用工程研究中心(黔教合 ([2017]020)共同资助。

## 参考文献

- [1] 周倩. 茶油提取工艺及其品质研究[D]: [硕士学位论文]. 合肥: 安徽农业大学, 2011.
- [2] 陈桂冰, 孙培冬, 季晓彤, 等. 茶籽多糖的提取及脱蛋白工艺研究[J]. 中国油脂, 2016, 41(8): 74-77.
- [3] 孙万里. 乙醇提取茶皂素的研究[J]. 粮食与油脂, 2019, 32(3): 22-24.
- [4] 陈煜超. 油茶饼提取残油、皂素和饲料[J]. 农村实用工程技术, 1987(2): 7+31.
- [5] 杨丽华, 林楚慧, 黄佳鑫, 等. 天然活性多糖提取及分离纯化技术研究进展[J]. 湖北农业科学, 2014, 52(23): 5624-5627. <https://doi.org/10.14088/j.cnki.issn0439-8114.2014.23.002>
- [6] 黄闪闪, 吴苏喜, 聂楷峰. 水代法提取鲜果茶籽油的工艺优化及其品质分析[J]. 食品与机械, 2014, 30(3): 185-189+193.
- [7] 郭玉宝, 汤斌, 裘爱泳, 等. 水代法从油茶籽中提取茶油的工艺[J]. 农业工程学报, 2008(9): 249-252.
- [8] 段思凡, 唐飞, 杨慧芹, 等. 乙醇沉淀法提取二倍体马铃薯淀粉[J]. 云南师范大学学报(自然科学版), 2020, 40(3): 68-73.
- [9] 范聪聪, 周洵, 张国权. 乙醇碱法处理对荞麦颗粒状冷水可溶淀粉溶解度的影响[J]. 粮食加工, 2011, 36(5): 40-43.
- [10] 杨辉. 茶油提取新工艺及其品质的研究[D]: [硕士学位论文]. 南昌: 南昌大学, 2012.
- [11] 陈慧玲, 刘芳, 苏张蕾, 等. 超声波辅助乙醇提取茶皂素工艺研究[J]. 宁德师范学院学报(自然科学版), 2019, 31(2): 187-191. <https://doi.org/10.15911/j.cnki.35-1311/n.2019.02.016>