

酚、氰在凤眼莲-水体系统中的迁移、积累及净化*

吴玉树 鲍奕佳

(杭州大学生物系)

摘 要

利用高等水生植物净化污水具有成本低、花工少、简单易行等特点,便于在工厂中应用和推广。国内,在实验条件下,利用高等水生植物净化污水已见有报道,但具体应用于生产条件下尚少见有关报道。

本研究着重于在工厂生产条件下,了解高等水生植物凤眼莲(*Eichhornia crassipes*)对钢铁厂焦化车间直接排放出的含酚、氰污水的净化效应,以及酚、氰在植物——水体系统中的吸收、运转和积累情况。

一、材 料 和 方 法

(一) 实验用植物

凤眼莲,属雨久花科,多年生浮水草本,生长繁殖迅速,由于工厂污水温度较高(18℃左右),冬季可以在塑料薄膜棚内越冬。

(二) 实验用水池

水池面积1320米²(长×宽=30×44米),深3米,水深2.5米,分隔为9个互相串联的小池(图1)。

(三) 污 水 来 源

绍兴钢铁厂焦化车间生产中排出的污水,经生化处理后引入放养凤眼莲的水池。在正常生产情况下,生化处理出水中的酚、氰含量一般分别为0.5—1ppm及1—3ppm,酚基本上接近排放标准,氰则高于排放标准¹⁾。因该厂排出厂外的废水直接流入附近放养鱼、鸭的河道和鱼塘并进入农田水网,因而必须进一步降低水体中的酚、

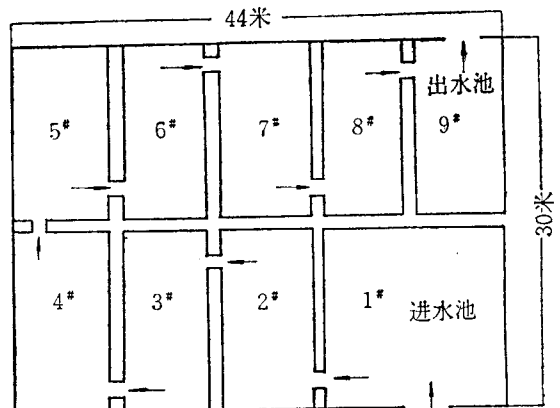


图1 植物放养池平面图

* 杜近仪、戴莲娜同志参加试验分析工作。

1) 工业废水最高容许排放浓度: 挥发酚 0.5毫克/升, 氰化物 0.5毫克/升。

氰含量以达到渔业用水的水质标准¹⁾。

工厂平均排放污水量为 792.28 吨/天, 另有一股生产用的冷却水也流经该水池, 冷却水量平均为 13198.42 吨/天, 冷却水量为污水量的 16.7 倍, 在不同季节冷却水量相差很大。池内总进水量为 554.2 米³/小时。

(四) 测定项目和方法

1. 水体中酚、氰、油含量的测定

分别在水池的进、出水口采水样, 取水的蒸馏液分别以 4-氨基安替比林-氯仿萃取比色法和盐酸-联苯胺比色法测定水体中的酚、氰含量。油中烃类物质在波长 225 毫微米处有一吸收峰。以石油醚为萃取剂, 用紫外分光光度法测定水中含油量。

2. 植物体中的酚、氰含量测定

在水池的进、出口处随机取植株样, 洗净后, 称取 10 克样品, 蒸馏。蒸馏液同样以上法进行测定酚、氰含量。

3. 植物根系吸附污泥中的酚、氰含量测定

分离根系和污泥, 将污泥滤干, 称取 10 克样品, 测定酚、氰含量。方法与植物体测定相同。同时另取一部分样品, 烘干后测定含水量。

4. 池底沉积物(淤泥)中酚、氰含量的测定

分别取 2*、3*、6*、7*、8* 池底的淤泥, 测定其酚、氰含量。方法与植物根系吸附污泥测定相同。

5. 植物某些生理、生化指标(细胞膜透性、氧化酶活性、叶绿素含量)的测定

(1) 细胞膜透性 在水池进、出水口处分别取根系及第二展开叶的叶片, 洗净, 再经去离子水冲洗、吸干, 称取 5 克剪成同样大小的小段(根)和小片(叶), 分别置烧杯中, 加入去离子水 50 毫升, 置 30℃ 恒温下保持 6 小时, 用 DS-11A 型电导仪分别测定根、叶浸出液的电导率。

(2) 氧化酶活性 样品处理同上。称取 1 克, 剪碎, 置研钵中, 加 5 毫升 0.1M Tris-HCl 缓冲液(pH8.5)研成匀浆, 并以 4000 rpm 离心 15 分钟, 取该清液 1 毫升, 加入反应混合液²⁾ 3 毫升(立即记录时间), 在 470μm 波长下测得反应 5 分钟时间的光密度值, 以每分钟光密度变化值($\Delta D/\text{分} \cdot \text{克蛋白}$)表示过氧化物酶活性。

(3) 叶绿素含量 样品处理同上。称取第二展开叶的叶片 0.5 克, 置研钵中加丙酮少许研成匀浆, 过滤, 过滤时用丙酮反复冲洗漏斗中残渣使成白色为止(所用丙酮总量不得超过 50 毫升)。将滤液加丙酮, 定容至 50 毫升, 滤液以比色法测定, 并与预先制备的标准曲线比较。再按下式计算:

$$\text{叶绿素含量(毫克/克鲜重)} = \frac{\text{提取液浓度(毫克/毫升)} \times \text{提取液毫升数}}{\text{材料鲜重(克)}}$$

上述植物体的各项测定均有对照样。

试验进行时间为 1981 年 12 月—1982 年 6 月。每月进行一次测定(其中 2 月未测), 先

1) 渔业用水排放标准: 酚 0.005 毫克/升, 氰化物 0.02 毫克/升。

2) 反应混合液: 0.2M 磷酸缓冲液(pH6.0) 50 毫升; H₂O₂ 0.028 毫升; 愈创木酚 0.019 毫升混合。

后共分析样品570个,有重复。

二、结 果

(一) 水体中酚、氰油含量降低,水质明显改善

生化处理后的污水,仍带大量油膜,水质呈深褐色。流经放养凤眼莲的水池(在水池中约停留6小时)后,在水池出口处的水质清澈见底,无油膜,浊度明显降低(从超过可检度降低到10—14),pH值降低(从>8到7—8),COD降低(从>100降到30—50),水质得到极大改善,肉眼直观效应十分明显。

测定各月水体中的酚、氰含量,结果表明,水池出口处比进口处都有不同程度的降低(表1)。水体中酚的去除率平均为56.7%,最高达85.1%,氰的去除率平均为34.1%,最高为52.2%。

测定水池进口处水体中含油量为2.93ppm,出口处为0.019mg/L,去除率达99.4%,去油效果十分显著(表1)。

表1 水池进、出水口水体中酚、氰、油含量*(单位ppm)

测定时间	测定项目	水池进口处	水池出口处	去除率(%)
1981. 12. 14	酚	0.1330	0.0220	83.5
	氰	0.0488	0.0376	22.95
1982. 1. 19	酚	0.1540	0.0230	85.1
	氰	0.0976	0.0723	25.9
1982. 3. 15	酚	0.0220	0.0108	50.9
	氰	0.0406	0.0293	27.8
1982. 4. 24	酚	0.0440	0.0174	60.5
	氰	0.0429	0.0296	31.0
1982. 5. 23	酚	0.0450	0.0288	36.0
	氰	0.0202	0.0112	44.6
1982. 6. 10	酚	0.0074	0.0056	24.3
	氰	0.0251	0.0120	52.2
平均值	酚	0.0677	0.017	56.7
	氰	0.0459	0.0320	34.1
	油	2.93	0.019	99.4

* 水池进、出口处水中酚、氰含量为我们日间三次采样测定的平均值。

(二) 植物对酚、氰的吸收和吸附

污染物酚、氰在水体中经植物的迁移、转化途径主要是三条:植物体内的吸收、积累;根系的吸附;植物残体碎屑沉积物中的吸附。对这三方面我们测定结果如下:

1. 植物体对酚、氰的吸收和积累

测定植物体内污染物含量是指示环境污染程度和确定植物净化能力大小的主要指标之一。测定结果表明对照植物的酚含量为 0.296ppm, 氰含量为 0.148ppm, 从各月测定数据的平均值来看, 植物体内的酚、氰含量都明显高于对照, 分别是对照的 7.1 倍和 7.9 倍, 最高可达 16.7 倍和 12.7 倍(参见表 2、图 2—4), 说明植物可以从含酚、氰的水中吸收外源酚、氰。

植物对酚、氰的吸收和积累量与水体中污染物浓度以及植物放养的时间长短有关。

(1) 植物吸收, 积累量与水体中污染物浓度的关系(富集系数)

在同一时间测定水体和植物体中的酚、氰含量表明植物体中的都远高于水体中的含量(表 2)。如果以富集系数(植物体酚 < 氰 > 含量/水体酚 < 氰 > 含量)表示两者的关系, 则酚的富集系数最高值为 516.4, 氰最高值为 55.26, 其最低值分别为 9.24 和 9.01, 平均值分别为 135.6 和 31.92。富集系数的大小是受植物体和水体中酚、氰含量的大小所制约的。

表 2 植物体和水质酚、氰含量及富集系数*

测定日期 (年、月、日)	植物体含量平均值ppm		各池水体含量平均值ppm		富集系数	
	酚	氰	酚	氰	酚	氰
1981. 12. 14	0.769	0.401	0.0832	0.0445	9.24	9.01
1982. 1. 19	0.876	1.671	0.0963	0.0863	9.10	19.36
1982. 3. 15	1.031	1.818	0.0146	0.0329	70.62	55.26
1982. 4. 26	4.942	1.747	—	—	—	—
1982. 5. 23	2.245	0.724	0.0309	0.0187	72.65	38.72
1982. 6. 10	2.804	0.642	0.00543	0.0172	516.39	37.26
平均值	2.111	1.167	0.0461	0.0399	135.6	31.92

* 对照植物的氰含量为 0.148ppm, 酚含量为 0.296ppm。

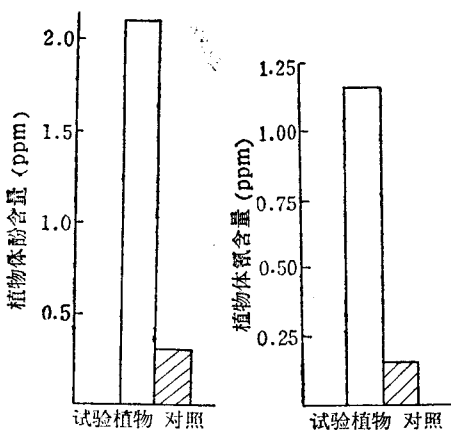


图 2 植物体酚、氰含量比较

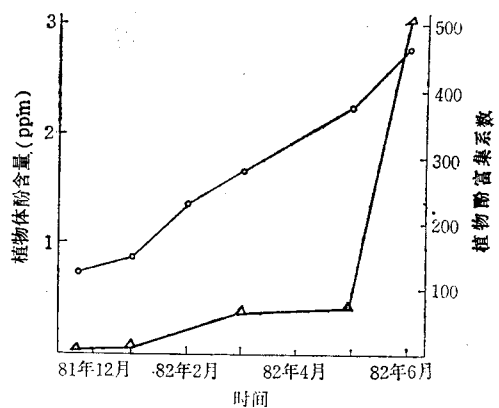


图 3 植物体酚含量与富集系数

注: ○—○酚含量; △—△酚富集系数
1982年4月酚含量未列入

从表2还可看到,4月份植物体内酚含量较高,明显高出其它各月,平均值竟达4.942ppm,这是因为在工厂生产条件下,排出废水的量及水中酚、氰浓度经常处在变动之中;4月份工厂蒸氨车间停产,因而使工厂排出废水中的酚含量大增。据4月22日昼夜4次测定生化处理出水中酚含量为2.35,2.63,2.30,1.25ppm,平均值为2.133ppm,大大高出其它各月,(为其它各月的5—10倍)。相应地,植物体含酚量也高于其它月份,为其它各月的1—5倍(表3)。但4月份植株仍生长良好,这说明凤眼莲不仅在较高浓度的水体中

表3 各月植物体酚含量及进水中酚含量*(ppm)

样品	测定日期 (年·月·日)					
	1981.12.14	1982.1.19	1982.3.15	1982.4.22*	1982.5.23	1982.6.10
进水口水样*	0.40	0.435	0.27	2.133	0.15	0.10
进水池植物体	0.642	0.761	1.116	4.684	1.968	3.420
出水池植物体	0.896	0.990	0.746	5.200	2.384	2.188
植物体平均值	0.769	0.876	1.031	4.942	2.245	2.804

* 进水口水样中酚含量为工厂早、中、夜三班常规测定的平均值。由于各班操作的不稳定,所以进水口水样中酚含量高于表1,但更接近实际情况。

还能吸收、积累较多的酚,而且对于工厂生产条件下,水体中酚浓度经常发生大幅度变动的情况具有较强的生态适应性。

植物对氰的吸收、积累与水体中氰浓度之间的关系不表现明显规律性。

(2) 植物吸收、积累量与时间的关系

植物吸收、积累酚量与时间也有一定相关性。从图4可以明显看出,随时间的推移,植物体内酚含量(4月份除外)和植物的富集系数都相应增加。

植物体内含酚量随时间推移而增加,这主要是由于植物体的积累、富集作用。还因为测定是从12月到6月进行的,随着气温的逐渐上升,植物生命活动加速,蒸腾加强,由于蒸腾拉力,加速了吸水过程;同时,随着气温升高,植物生长旺盛,代谢加快,也加速根系的吸水过程,而酚是和水一起被根系吸入体内的。从表2可见,6月份酚在植物体内的富集系数最高,这是因为6月份水中酚浓度由于稀释而降低之故:6月份天气炎热,生产用冷却水比平时增加2—3倍,进入水池的冷却水大为增加,使得水中酚浓度相对降低。而植物体内含酚量仍随时间推移而增加,所以6月份植物体内酚富集系数出现高值。

植物体中氰含量与时间的关系规律不明显。氰与酚在植物体中可能有不同的积累、分解规律,有待进一步研究。

2. 根系的吸附量

废水中部分酚、氰能被水中的微生物的残体及其它有机、无机胶体颗粒吸附。而凤眼莲发达的须根系对水体中的这些含酚、氰颗粒有栅栏和吸附作用。这些胶体颗粒在凤眼莲根系有机分泌物的作用下发生凝聚,积聚在根系表面成为根系污泥。测定根系吸附的污泥量,结果表明,每公斤植物体(鲜重)其根系吸附的污泥量为0.687公斤(水分滤干后称重污泥)。污泥中酚、氰含量分别是0.941和3.693ppm(进、出口水池样品1982年4—6月和1983年1月测定的平均值)。还测得此污泥样品的含水率平均为81%,所以污泥中(烘干

重)含酚、氰量分别是 4.9 和 19.4 ppm, 各自是水体酚、氰含量的 114.5 倍和 498.7 倍(表 4)。

表 4 污泥和水体中的酚、氰含量及比值

测 定 项 目	污 泥 (烘干重ppm)	水 (ppm)	污泥/水
酚	4.9	0.0428	114.5
氰	19.4	0.0389	498.7

污泥和水体氰含量的比值大于酚, 这说明胶体物质与氰的结合力大于酚。通过植物根系的吸附, 也部分降低了水体中的酚、氰含量。

3. 池底沉积物(淤泥)中酚、氰含量

池底沉积物(淤泥)来源于凤眼莲的残体碎屑、根系吸附的污泥以及水体中胶体颗粒的沉降, 因此池底沉积物中的酚、氰含量都很高。据测定, 沉积物中酚含量为 7.55 ppm, 氰含量为 11.95 ppm, 分别是水体中酚、氰含量的 176.4 和 307.2 倍。从 1973 年建池到 1982 年, 池底形成淤泥层, 厚度平均为 70 厘米。由于上述物质的沉降作用也大大减少了水中的酚、氰含量。

(三) 酚、氰在植物体内的分布情况

凤眼莲吸收酚、氰以后, 在植物体各器官的分布是不均匀的。

从根系与叶片中酚、氰含量的对比来看, 酚在叶片中的含量远高于根部; 而氰在根中的含量则高于叶片。这是因为氰较稳定, 在植物体内转移较慢, 从根部吸收后多停留在根部; 酚则较活跃, 流动性大, 由根部吸收后能迅速向上转移到叶部。表 5 列举了 3, 5 两个月

表 5 酚、氰在叶片和根系中的含量及比值

时 间 (年·月·日)	项 目	叶(ppm)	根(ppm)	叶/根比值
1982. 3. 15	酚	1.031	0.69	1.49
	氰	0.308	1.818	0.17
1982. 5. 23	酚	2.245	0.761	2.95
	氰	0.141	0.724	0.19

测定的酚、氰在叶片和根系的含量。从表中还可看出, 酚在 5 月份叶/根比值较 3 月份为高, 这主要是由于 5 月份气温升高、叶片蒸腾强烈, 酚在植物体内运转加速, 更多积累于叶部; 氰则不明显, 凤眼莲茎节极短, 从茎节的测定数据得知, 茎节内酚、氰含量远比叶、根低。

(四) 某些生理指标的测定

为了初步探讨凤眼莲对酚、氰污水的抗性, 测定了植物体的细胞膜透性、叶绿素含量和过氧化物酶等几项生理、生化指标。

1. 细胞膜透性

细胞膜起着调节、控制细胞内外物质交流的屏障作用。在不利环境条件下,刺激因子首先作用于细胞膜,使膜受损或破坏,从而使膜透性发生变化,导致细胞内 K^+ 、 Na^+ 等离子渗出量的变化,当细胞外渗液中含有的离子增多时,其电导率就提高,因而可用细胞外渗液的电导率大小来说明细胞膜透性的变化。

我们测定了水池内凤眼莲叶、根组织细胞液的电导率,并与对照植物进行比较,结果表明,生长在含酚、氰浓度不同的各小池中的凤眼莲,其叶片电导率比对照都有不同程度的增高,平均为对照的 1.3 倍(表 6)。说明叶细胞由于受到酚、氰废水污染,其细胞膜都受

表 6 叶细胞外渗液电导率 $\times 10^2(mv/cm)$

测 定 日 期 (年、月、日)	废 水 池 植 物 样	对 照 植 物 样	废 水 池 植 物 样/ 对 照 植 物 样
1982. 5. 7	6.59	4.25	1.6
1982. 5. 20	3.32	2.86	1.2
1982. 6. 15	1.75	1.68	1.1
平 均 值	3.89	2.73	1.3

到一定程度的损伤。因为酚、氰类物质能使蛋白质变性,对细胞膜有破坏作用。而且叶片细胞外渗液的电导率还随水体中酚、氰含量的增加而增高,具有正相关性表明随着水体酚、氰浓度的增高,叶组织细胞膜受损伤程度也增大。

放养水池中的植物根系细胞电导率比对照植物均有一定程度的降低,平均比对照低 0.62 倍(表 7)。实验表明,植物根系受酚、氰毒害作用的影响严重,部分组织坏死成干枯状,细胞发生质壁分离,细胞膜受损严重,原生质由溶胶状变成凝胶状,以致在取样分析时出现电导率比对照低的现象。从植株根系的外部形态特征看,对照植物的根系发达,一般可长达 20—35 厘米,新生细根极多,外观有光泽,呈蓝紫色;而受污染的植株根系不发达,

表 7 根细胞外渗液电导率 $(\times 10^2 mv/cm)$

测 定 日 期 (年、月、日)	水 池 样 品 平 均 值	对 照 样 品 平 均 值	水 池 样 品/对 照 样 品
1982. 5. 7	3.313	4.18	0.79
1982. 5. 20	2.445	6.12	0.40
1982. 6. 15	3.36	5.00	0.67
平 均 值	2.95	5.10	0.62

一般长 10—15 厘米,新生根很少,褪色,无光泽,呈灰白色干枯状,有的根尖呈溃烂状。

此外,由于氰在根部积累量高,对细胞膜的损害更大,可能使根细胞膜蛋白质变性,而造成细胞内含物的流失。

2. 叶绿素含量

水池中植物体的叶绿素含量都低于对照植物,试验植物的叶绿素含量平均值为 1496 毫克/克鲜重,对照植物平均值为 1805 毫克/克鲜重,这说明酚、氰对叶绿素有一定的破坏

作用,但植物体外观上没有明显的失绿现象。

3. 过氧化物酶活性

过氧化物酶是植物体内常见的一种氧化酶。植物对污染物的抗性是与体内过氧化物酶的活性有关。对水池内植物体过氧化物酶活性测定,结果表明,其活性均比对照植物有不同程度的增高,平均高 6.8 倍(表 8),为植物体过氧化物酶活性。

表 8 植物体过氧化物酶活性 (Δ 光密度/分·克(蛋白))

测 定 时 间 (年、月、日)	废水池植物样品平均值	对 照 平 均 值	水池样品/对照样品
1982. 5. 27	0.094	0.0128	7.34
1982. 6. 10	0.124	0.0199	6.23
平 均 值	0.109	0.0163	6.79

植物体内过氧化物酶活性还与水体酚、氰含量相关,水体酚、氰浓度高,植物体内过氧化物酶活性也增加。测定结果进水池水中酚、氰含量分别是 0.0677 和 0.0170ppm(见表 1),植物体内过氧化物酶活性为 0.121 Δ 光密度/分·克(蛋白),出水池水中酚含量 0.0459ppm,氰含量为 0.0320ppm(见表 1),植物体内过氧化物酶活性也较低为 0.097 Δ 光密度/分·克(蛋白)。

上面谈到,植物根、叶细胞膜在这种含酚、氰浓度的污水中都已受到了不同程度的损伤,但尽管如此,植物仍生长茂盛、良好,表现出具有较强的抗性。我们分析,植物抗性的增强是与过氧化物酶活性的提高有关的。酶活性的增强可认为是植物在不利环境条件下取得维持生命活动所必需能量的一种适应途径,也是对外界毒物的一种保护性反应。据国外资料报道,氧化酶类能起氧化活化剂作用以及在呼吸最后阶段使电子恢复,起调节代谢的作用,使植物能很快地适应变化了的环境条件^[1]。

三、小 结

1. 含酚、氰、油废水流经放养凤眼莲的水池后,水体中酚、氰、油含量降低,浊度, COD、pH 值等也都有不同程度的降低,水质明显改善,符合渔业用水排放标准。

2. 进入植物放养池的水体中的酚、氰,部分为凤眼莲所吸收、积累;部分为植物根系所吸附;部分通过各种途径沉降到池底,一部分排出等,这是在植物放养池中酚、氰的迁移、运转、积累和富集概况。植物体对油的吸附以及在池底污泥中的吸附量因实验条件所限,未进行测定。图 4 为植物放养池中酚、氰在凤眼莲-水体系统中

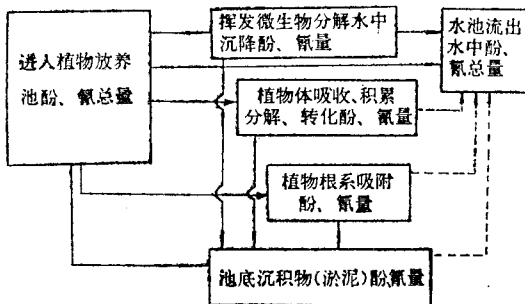


图 4 酚、氰在植物-水体系统中的迁移运转简图

的迁移、运转简图。

计算结果表明,若以植物体吸收、积累的酚、氰量与根系吸附污泥中的酚、氰量之和为100%,则植物体吸收、积累的酚量占77%,根系吸附只占23%,而植物体吸收积累的氰量只占32%,根系吸附占68%。在对水体酚的净化作用中,植物体内的吸收、分解与积累占主要地位。

3. 植物体所吸收的那一部分外源酚、氰并不是全部积聚在体内,而是通过酶系的作用和一系列生化过程,同时进行着分解和转化作用。据报道^[1, 2],酚在植物体内很少以游离状态存在,大多与其它物质形成复杂的化合物,最常见的是酚糖甙。当酚转化为糖甙后,酚类物质的解偶联作用和对细胞膜的损害作用被消除,从而解除酚对植物的毒性。植物也能吸收苯酚,并在黑暗条件下将其转化,分解为CO₂,这些都是在酚类化合物浓度较低的情况下进行的。氰化物进入植物体后也发生类似的转化,在低浓度情况下,植物体中的氰能与丝氨酸结合形成晴丙氨酸,继而又转化为天冬酰胺和天冬氨酸而失去毒性。

这是在低浓度条件下,酚、氰在植物体内代谢、转化的机制,也就是植物对含酚、氰废水的净化机制。但究竟有多少酚、氰被转化、分解,由于实验条件所限还不清楚,有待进一步研究。

4. 被根系所吸附和在池底沉积物中的那部分酚、氰、油,由于微生物的作用而逐渐被分解转化。

5. 据上述二点,凤眼莲起了一定净化水体中酚、氰的作用,因而在工厂建立植物净化池,放养凤眼莲来净化含较低浓度的酚、氰、油废水,具有良好的效应并有实际价值,值得推广。

凤眼莲还能降低水体中的生化耗氧量,对酸、碱废水有一定的忍受性,由于污水温度较高,凤眼莲在塑料薄膜棚内可越冬,因而冬季仍可发挥其净化效应。

6. 进行细胞膜透性和氧化酶活性测定,可以了解植物对酚、氰污染物的抗性强弱和适应性大小。

参 考 文 献

- (1) В. С. Николаевский, Газоустойчивость Растений, 1980.
- (2) 云南大学生物系编, 1980: 植物生态学, 人民教育出版社。
- (3) H. D. Scott ed., 1983: Adsorption and Degradation of phenol at low Concentration in Soil Journal of Environmental Quality, Vol. 12, №1.

STUDIES ON THE TRANSFER, ACCUMULATION AND
PURIFICATION OF PHENOL, CYANOGEN IN THE
COMMON WATERHYACINTH (*EICHHORNIA
CRASSIPES*)-WATER SYSTEM

Wu Yushu Bao Yijia

(Department of Biology, Hangzhou University)

Abstract

In this paper, the absorption, transfer and accumulation law of phenol and cyanogen in the water-plant system polluted by phenol and cyanogen and the plant *Eichhornia crassipes* that can be used for purifying water have been studied.

Eichhornia crassipes can absorb and accumulate phenol and cyanogen in the water. By the analysis of phenol and cyanogen concentrations in water, it showed that the mean removal rates of phenol and cyanogen in water were 56.7% and 34.1% respectively, the highest were 85.1% and 52.2% respectively. Therefore the water quality is improved markedly. The content of phenol in different organs of *Eichhornia crassipes* is leaves>roots>stems, but the content of cyanogen is roots>leaves>stems.

It is positive correlation between phenol and cyanogen contents in water and the permeability of the leave cell membrane. It shows that the degree of damage of the leave cell membrane increases correlatively. It is also positive correlation between the phenol and cyanogen contents in water and the activity of peroxidase of the plant. It shows the resistance of plant to phenol and cyanogen pollutant in water is related to the activity of peroxidase of plant.

The phenol and cyanogen pollutant in water partly is absorbed and accumulated by *Eichhornia crassipes*, partly is adsorbed by roots of *Eichhornia crassipes*, partly is deposited onto the bottom of water.