

## 复合果蔬汁的发酵工艺及风味品质研究

张路遥, 张洁玮, 李梦迪, 楚玉柔, 施泽轩, 韩梅\*

(上海商学院酒店管理学院, 上海 200235)

**摘要:** 为开发高品质的益生菌发酵复合果蔬汁, 对果蔬汁的发酵工艺及风味品质进行研究。通过观测发酵前后的 pH 值变化、滴定酸度、糖度和活菌数等因素, 研究不同的发酵微生物、不同的果蔬种类和不同发酵时间对发酵结果的影响, 结合感官评价和气相色谱-质谱联用法 (GC-MS) 对风味品质进行评价分析。果蔬种类和发酵菌种单因素试验结果表明, 选择芒果、圣女果和胡萝卜为复合果蔬汁原料, 以植物乳杆菌、副干酪乳杆菌和瑞士乳杆菌复配发酵 48 h 的制品 pH 低、酸度较高、活菌数高、感官评价结果质量最优; GC-MS 风味分析表明, 发酵过程中酯类、醇类和酸类的挥发性风味物质相对增加, 风味较好。说明以优化的发酵工艺制备的复合果蔬汁具有感官风味较好、活菌数含量高等特点, 可为发酵制品的研制及发酵果蔬汁的市场开拓提供参考。

**关键词:** 发酵; 复合果蔬汁; 乳酸菌; 风味品质

中图分类号: TS255.36

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2021)04-0688-06

### Research of fermentation technology and flavor quality of compounded fruit and vegetable juice

ZHANG Luyao, ZHANG Jiewei, LI Mengdi, CHU Yurou, SHI Zhexuan, HAN Mei

(School of Hotel Management, Shanghai Business School, Shanghai 200235)

**Abstract:** To produce high-quality fermented fruit and vegetable juice, the effects of time and different fermentation strains on several fruits and vegetables were studied. Fermentation outcomes, including changes in pH, titratable acidity, sugar levels, and bacterial abundance were determined. Moreover, GC-MS and sensory evaluation techniques were used to evaluate the flavor of the fermented product. The results of the single factor experiment performed in our study by using fruits, vegetables and the fermentation strains indicated that mango, cherry tomato and carrot could be used as ideal raw materials to prepare fruit/vegetable juice. It was found that the fermentation products obtained by the action of *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei* and *Lactobacillus helveticus* for 48 h had low pH value, high acidity, a large number of viable bacteria and the optimal sensory quality. The results of GC-MS analysis suggested that volatile compounds, including alcohols, esters, and acids increased after fermentation and imparted a better sensory and flavor profile to the resultant juice. Compound fruit and vegetable juice prepared using this optimized fermentation process resulted in an improvement in the overall quality of the product, enhanced the flavor profile, and led to an increase in the levels of live bacteria. Therefore, our findings can serve as a reference for the production of fermented preparations, especially in the commercial development of fermented fruit and vegetable juice.

**Key words:** fermentation; compounded fruit/vegetable juice; *lactobacillus*; flavor quality

水果和蔬菜被认为是理想的益生菌天然培养基, 不仅感官上很受欢迎, 还含有丰富的营养物质, 如矿物质、维生素、膳食纤维和抗氧化物质等<sup>[1]</sup>。在经过益生菌发酵后, 会有一些风味、色泽、营养成分等品质的变化, 赋予产品新的发酵风味<sup>[2-5]</sup>, 如

降低产品的 pH 而使一些如花青素等在酸性环境较稳定的营养物质能够更好地保存<sup>[6-8]</sup>, 提高产品贮藏性的同时, 增加了其营养价值。简而言之, 益生菌能够利用水果和蔬菜中丰富的碳水化合物、蛋白质、维生素等, 将这些营养成分代谢转换为小分子活性

收稿日期: 2020-11-16

基金项目: 上海市属高校应用型本科试点专业建设项目 (第六批), 上海高校教师产学研践习计划 (2019—2020 年), 贵州省科技计划项目 (黔科合支撑[2019]2328 号) 和 2020 年度上海市自然科学基金 (20ZR1440200) 共同资助。

作者简介: 张路遥, 博士。E-mail: zhangluyao@yeah.net

\* 通信作者: 韩梅, 博士。E-mail: hanmei.918521@163.com

物质, 如氨基酸、酶类、有机酸等。这样不仅保留了天然果香, 还增加了营养密度<sup>[9]</sup>。

发酵果蔬汁饮料丰富了果蔬制品的营养性及功能性, 与当代人们的绿色、天然、健康和营养饮食消费习惯相吻合, 而复合型果蔬汁更符合消费者的喜好和现代饮料的发展趋势<sup>[10-11]</sup>, 具有广阔的市场前景。美国、德国、日本等国家已经研发了一些发酵果蔬饮料, 如日本的一种新型发酵蔬菜饮料——“蔬菜战士”, 颇受市场欢迎<sup>[12]</sup>。近年来, 国内的研究人员一直在尝试利用益生菌发酵果蔬汁。众多研究者通过氨基酸分析仪、GC-MS 等方法分析各果蔬汁发酵前后挥发性风味物质、氨基酸和糖等成分的变化, 探讨了乳酸菌发酵对果蔬汁感官品质及适配性问题的影响, 如使用植物乳杆菌发酵单一的果蔬汁(橙汁、青瓜汁、苹果汁、葡萄汁和梨汁), 发现乳酸菌发酵代谢对不同果蔬汁风味影响差异较大<sup>[13-14]</sup>, 植物乳杆菌发酵胡萝卜原浆后提升了质构和抑菌性<sup>[15-16]</sup>, 还可以提升铁的溶解性<sup>[6]</sup>, 石榴汁中使用乳酪杆菌和植物乳杆菌单一菌株发酵后品质提升<sup>[17]</sup>。

近年来多数研究是利用酸奶中常用的益生菌对单一果蔬汁进行发酵工艺的优化, 但对复合果蔬汁的不同菌种发酵工艺的研究较少<sup>[14]</sup>。鉴于此, 作者采用单因素试验对发酵复合果蔬汁的发酵时间、果蔬种类、发酵菌种进行研究, 优化最适的果蔬种类、菌种及发酵工艺参数, 探讨影响发酵果蔬汁风味物

质的变化规律, 以期为提高果蔬汁的营养价值、满足消费者的需求以及解决果蔬利用率等问题提供思路, 同时期望能为生产高品质的益生菌发酵果蔬汁、开发更多发酵制品的研究提供较为系统研究基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 原料与试剂** 脐橙、水晶梨、苹果、黄瓜、芒果、圣女果、胡萝卜和紫甘蓝, 市售; 植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*, Vege-Start2.0 CN)和副干酪乳杆菌(*Lactobacillus paracasei* L. casei 431), 丹麦科汉森公司; SY 葡萄酒·果酒专用酵母, 安琪酵母股份有限公司; 马克思克鲁维酵母菌和瑞士乳杆菌, 上海商学院实验室; MRS 固体培养基。

**1.1.2 仪器与设备** LDZX-50FBS 立式压力蒸汽灭菌锅, 上海申安医疗器械厂; GXM-0258A 智能光照培养箱, 宁波江南仪器厂; AL204 电子天平, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司; B79 多功能高速破壁料理机, 上海恒联厨具有限有限公司; HWS-26 电热恒温水浴锅, 上海一恒科学仪器有限公司; FG2 便携式 pH 计, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司; PAL-1 手持折光仪, 日本爱拓公司; XW-80A 微型漩涡混合仪, 上海沪西分析仪器厂有限公司; GC2010-QP2010 Ultra 气相色谱质谱联用仪, 日本岛津公司。

表 1 发酵果蔬汁的感官评分标准

Table 1 Sensory evaluation of the fermented fruit and vegetable juice

指标	标准	得分
外观	色泽均匀, 颜色合适, 无分层, 细腻滑润	7~10
	色泽较均匀, 颜色较淡或较浓, 轻微分层	4~7
	色泽不均匀, 组织不均匀, 有分层, 粘稠	1~4
香气	具有原水果固有香气和适当的发酵香气	7~10
	具有淡淡的原水果固有香气, 发酵气味较浓烈	4~7
	发酵过酸, 掩盖了原水果固有香气	1~4
酸度	酸甜适口	7~10
	酸甜一般	4~7
	酸甜不适口, 过酸或过甜	1~4
滋味	具有浓郁的原果蔬风味和发酵风味	7~10
	原果蔬风味或发酵风味不明显或较浓烈	4~7
	原果蔬风味或发酵风味非常强烈	1~4
总体接受度	让人愉悦的感官体验	7~10
	感官体验一般	4~7
	不愉悦、不能接受的感官体验	1~4

## 1.2 方法

**1.2.1 果蔬汁前处理** 将脐橙、芒果洗净并去皮, 苹果、水晶梨、胡萝卜、圣女果、紫甘蓝、黄瓜洗

净, 取可食用的果肉, 全部切成小块, 随后用榨汁机分别榨汁, 按 2:1 的料液比加水、过滤, 获得澄清果蔬汁。每 200 mL 分装于容量为 250 mL 的洁净

灭菌玻璃瓶中，密封。

**1.2.2 接种前灭菌** 用水浴锅将果蔬汁加热至 90 °C，保持 10 min，然后冷却至室温，准备接种。

**1.2.3 接种与发酵** 植物乳杆菌与副干酪乳杆菌的接种量为每 100 g 果蔬汁接种 0.004 g 菌粉。果酒酵母和马克思克鲁维酵母菌的接种量为 0.04%，瑞士乳杆菌接种 1% 的菌液 1 mL。若两个菌种复合发酵则各加一半的接种量。接种前先量取 20 mL 蒸馏水于离心管中，灭菌后将计算好的相应质量的菌粉加入离心管中活化，再用移液枪取 1 mL 置于果蔬汁中，摇晃均匀。将接种完的果蔬汁放入 30 °C 恒温培养箱中静置发酵。

**1.2.4 糖酸调配** 根据发酵后果蔬汁的滴定酸度，计算调配出 6% 的含糖量、60 °T 左右滴定酸度最终成品所需的糖水添加量，使果蔬汁稀释到合适的酸甜比例，拥有更好的风味。

**1.2.5 指标测定** 活菌数：参考 GB 4789.35—2016，采用稀释平板计数法进行测定；pH：参考 GB 5009.237—2016；糖度：参照 GB/T 12143-2008 中折光计法；滴定酸度：参考 GB 5009.239—2016 酚酞指示剂法中发酵乳的测定方法。由于果蔬汁颜色丰富，无法观察到酚酞指示剂的颜色变化，修改滴定终点为 pH 7.0。

**1.2.6 感官评价** 感官评价小组由 20 名经过培训的食品专业人员组成，对样品的气味、口味和表观、总体接受度进行评分。最终各样品的感官评分取感官评价小组的平均分，评分标准见表 1。

**1.2.7 挥发性风味物质的 GC-MS 测定** 样品前处理方法：采用水—有机溶剂混合萃取法，称取 4 g 样品；连接水蒸气蒸馏装置，量取 50 mL 水和 50 mL 正己烷于蒸馏瓶中，在恒温水浴锅内 80 °C 蒸馏 30 min，待不再有馏液出现时，停止蒸馏；取上层液加入无水硫酸铜粉末，震荡后静止 5 min 后，过 0.45 μm 有机相滤膜于进样瓶中。

GC-MS 条件根据李注生等<sup>[14]</sup>的方法略作修改。色谱条件：载气为 He 气（纯度 ≥ 99.999%），流速 1.93 mL·min<sup>-1</sup>。进样口温度为 250 °C，进样方式不分流进样。升温程序条件是起始温度为 40 °C，保持 3 min 后以 4 °C·min<sup>-1</sup> 的速度升温至 120 °C，再以 6 °C·min<sup>-1</sup> 的速度升温至 240 °C，保持 9 min。质谱条件：采用电子轰击电离，电子能量为 70 eV，离子源温度为 230 °C，接口温度为 230 °C，质量扫描范围为质荷比 35~500。

**1.2.8 图表绘制及数据分析** 数据需要重复测定 3 次，采用 SPSS 22.0 来处理和分析数据，应用 Origin

Pro 9.0 进行作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌种对发酵的影响

以脐橙、水晶梨、苹果、黄瓜、胡萝卜、圣女果和紫甘蓝混合的复合果蔬汁为原料，分别接种适量的植物乳杆菌、副干酪乳杆菌、瑞士乳杆菌和果酒酵母，测定发酵过程中的 pH、滴定酸度和糖度随发酵时间的变化。结果（图 1）显示，除果酒酵母外，不同乳酸菌发酵后的 pH、滴定酸度和糖度差异不明显，但发酵过程中产酸、糖分解速率各不相同，果酒酵母与其他菌发酵后各项指标有明显的区别，其发酵后糖度大量减少，最后酸度最低。各菌种发酵的果蔬汁在发酵了 48 h 后，各指标变化速率降低。各乳酸菌中植物乳杆菌产酸最快，其次是副干酪乳杆菌和瑞士乳杆菌，选用此 3 种菌作为复配菌种进行发酵，其发酵后的 pH 和滴定酸度变化较快，发酵后活菌数 lg CFU 显著高于副干酪乳杆菌和瑞士乳杆菌，而与植物乳杆菌无显著差异。

由于过酸会导致果蔬汁的风味不佳<sup>[14]</sup>，营养物质减少，从而导致活菌数下降，酸度一般控制在 60 至 70 °T 为宜，而各乳酸菌种发酵的复合果蔬汁在发酵了 48 h 后酸度适中，由此采用植物乳杆菌、副干酪乳杆菌和瑞士乳杆菌复配发酵 48 h 为宜。

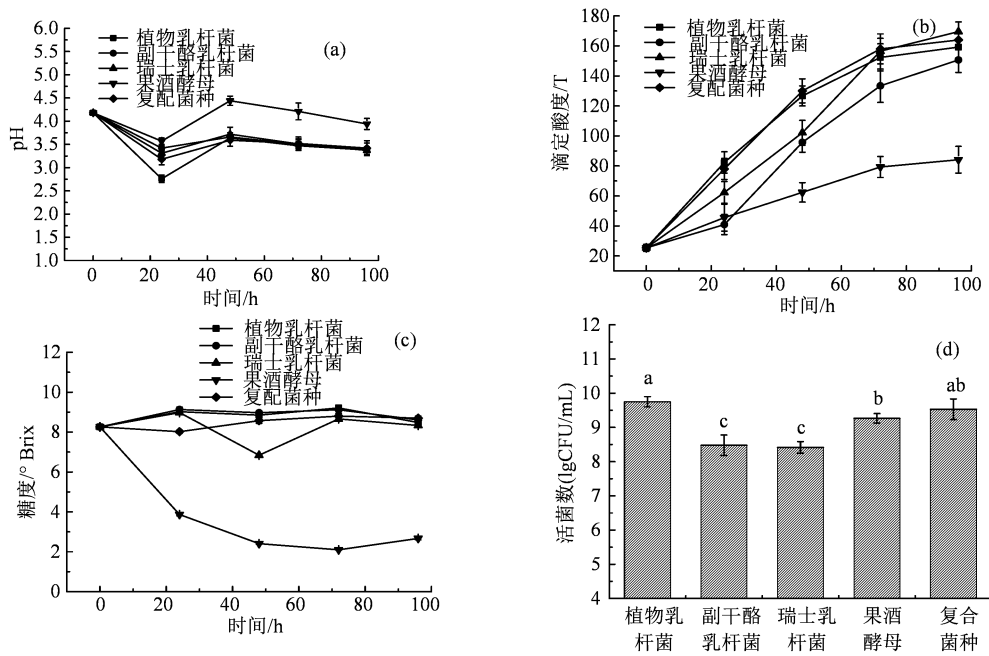
### 2.2 果蔬种类对发酵结果的影响

将脐橙、水晶梨、苹果、黄瓜、芒果、圣女果、胡萝卜和紫甘蓝榨汁、过滤后，分别接种植物乳杆菌进行发酵，测定其初始、发酵 24 和 48 h 的 pH 值、滴定酸度和糖度。结果（图 2）表明，产酸较多的果蔬种类为胡萝卜、圣女果、紫甘蓝、橙子和芒果，而发酵后活菌数结果显示苹果汁、梨汁、黄瓜汁、橙汁和紫甘蓝的活菌数 9.0 lg (CFU·mL<sup>-1</sup>) 低于其他几种发酵果蔬汁的活菌数低 9.5 lg (CFU·mL<sup>-1</sup>)。因此，综合风味和活菌数含量，最终选取芒果、圣女果和胡萝卜作为果蔬汁的复合配方。

### 2.3 感官评价结果

用植物乳杆菌单菌种发酵芒果汁、圣女果汁、胡萝卜汁及它们的复合果汁，并应用混合菌种发酵胡萝卜汁，分别得到发酵芒果汁、发酵圣女果汁、发酵胡萝卜汁、胡萝卜复菌及发酵复合果蔬汁 5 种样品，并进行糖蒜调配后，进行感官评价，结果如图 3 所示。

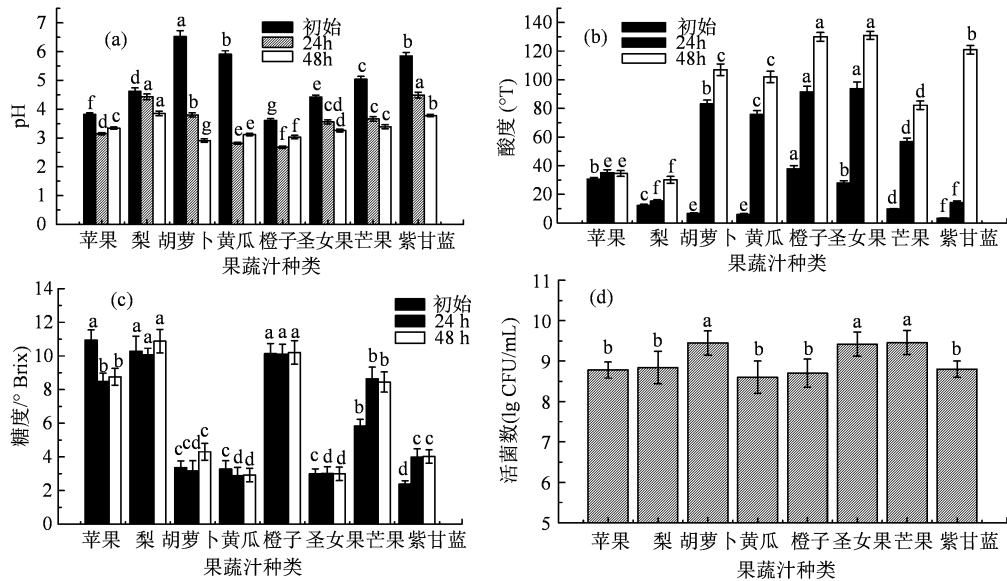
图 3 显示，发酵果蔬汁经过糖酸调配后感官评价结果明显提高，果蔬汁具有明显的发酵风味，由于调味前过多的酸度会影响果蔬汁的总体风味<sup>[14]</sup>，



(a) pH; (b) 滴定酸度; (c) 糖度; (d) 48 h 活菌数。

图 1 菌种对混合果蔬汁发酵结果的影响

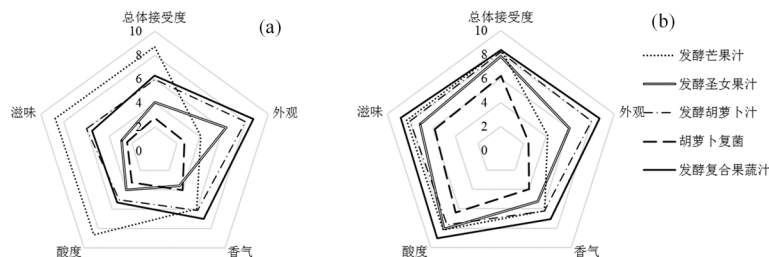
Figure 1 Effects of strains on fermentation results of the mixed fruit and vegetable juice



(a) pH; (b) 滴定酸度; (c) 糖度; (d) 48 h 活菌数。

图 2 果蔬种类对发酵产品的影响

Figure 2 Effects of fruit and vegetable species on fermentation products



(a) 调糖酸前; (b) 调糖酸后。

图 3 发酵果蔬汁的感官评价结果

Figure 3 Sensory evaluation of the fermented juices

表 2 不同发酵果蔬汁的风味物质

Table 2 Changes of the main volatile compounds in different juices after fermentation

风味物质	中文名称	样品		
		A0	A1	A2
<b>Terpenes</b>	<b>萜烯类</b>			
$\alpha$ -Phellandrene	$\alpha$ -水芹烯	3.53	2.26	2.23
Terpinolene	异松油烯	1.84	1.21	1.02
(-)- $\alpha$ -Curjunene	(-)- $\alpha$ -古芸烯	1.24	1.18	1.20
(-)- $\alpha$ -Copaene	(-)- $\alpha$ -蒎烯	2.19	1.32	1.29
(-)- $\beta$ -Pinene	(-)- $\beta$ -蒎烯	3.27	2.82	2.13
<i>p</i> -Mentha-1,3-diene	萜品油烯	4.56	3.54	3.23
3-Carene	3-萜烯	6.87	6.10	5.82
2-Carene	2-萜烯	2.82	1.78	1.37
4-Carene	4-萜烯	2.21	1.29	1.42
$\beta$ -Caryophyllene	$\beta$ -石竹烯	2.82	2.57	2.38
$\alpha$ -Funebrene	$\alpha$ -柏木萜烯	2.74	2.48	2.21
Sylvestrene	松油烯	4.87	4.12	3.82
Trans- $\alpha$ -bergamotene	反式- $\alpha$ 香柑油烯	-	0.28	0.31
Caryophyllene	石竹烯	6.12	5.28	5.89
$\alpha$ -Farnesene	$\alpha$ -金合欢烯	1.35	0.82	0.78
	小计	46.43	37.05	35.10
<b>Carboxylic acids</b>	<b>酸类</b>			
Linoleic acid	亚油酸	-	1.94	2.74
Stearic acid	硬脂酸	2.93	1.09	1.36
Hexanoic acid	己酸	-	3.64	4.25
Octanoic acid	辛酸	-	4.69	3.28
Lauric acid	月桂酸	2.03	3.28	4.82
Myristic acid	肉豆蔻酸	1.02	0.53	0.38
Palmitic acid	棕榈酸	0.84	1.02	0.94
	小计	6.82	16.19	17.77
<b>Esters</b>	<b>酯类</b>			
Butyl Butyrate	丁酸丁酯	0.32	1.37	1.83
Heptyl formate	甲酸庚酯	-	1.42	1.93
Octyl acetate	乙酸辛酯	0.52	1.32	
Ethylbenzene	乙酸苯乙酯		0.33	
2H-Pyran-2-one, tetrahydro-6-undecyl-	邻苯二甲酸二正丁酯	1.03	0.99	1.53
$\delta$ -Palmitolactone	$\delta$ -棕榈内酯	1.45	0.29	-
Bornyl acetate	乙酸冰片酯	2.84	3.24	3.72
Diisobutyl phthalate	邻苯二甲酸二异丁酯	-	1.13	1.57
Methyl palmitate	棕榈酸甲酯	-	0.76	1.32
L-(+)-Ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate	L-(+)-抗坏血酸-2,6-二棕榈酸酯	-	1.49	1.87
Acetic acid <i>n</i> -octadecyl ester	乙酸正十八酯	-	0.83	0.73
Octadecyl acetate	乙酸二十八酯	-	4.78	6.13
	小计	6.16	17.95	20.63
<b>Alcohols</b>	<b>醇类</b>			
1-Hexanol	1-己醇	-	0.57	0.48
Benzyl alcohol	苯甲醇	-	1.24	1.43
	小计	-	1.81	1.91
<b>Other</b>	<b>其他</b>			
Myristate	肉豆蔻醚	-	0.17	0.38
Vitamin E	维生素 E	-	2.25	3.14
	小计	-	2.42	3.52

注: A0 (未发酵混合果蔬汁)、A1 (发酵 24 h 混合果蔬汁)、A2 (发酵 48 h 混合果蔬汁); “-”表示这种物质未检测到或相似度小于 70%。

调配后果蔬汁呈现更好的感官接受度,与调配前的发酵果蔬汁相比,发酵果蔬汁在外观、香气的感官评价得分上变化不明显,而在酸度、滋味和接受程度上,有明显的改善;合适的酸甜比使得发酵果蔬汁的果蔬风味和发酵风味产生相乘作用,极大地提高了发酵胡萝卜汁和发酵圣女果汁的感官接受度,复合果蔬汁也得到一定提高;发酵复合果蔬汁与发酵芒果汁、圣女果汁和胡萝卜汁相比具有更好的感官接受度。

#### 2.4 GC-MS 风味成分分析

通过气质色谱质谱联用仪对各个发酵 24 和 48 h 及调配后的单一果蔬汁和发酵复合果蔬汁进行挥发性风味物质的测定,具体见表 2。

由表 2 可知,GC-MS 检测出混合果蔬汁固有的风味物质主要为萜烯类、少量酯类和酸类,在混合菌种发酵 24 h 后挥发性风味成分数量增多,酯类风味含量有较大增加,其次为酸类、醇类,且发酵 48 h 后有进一步的增加;这种变化是果蔬汁在乳酸菌的代谢导致的,酸类增加,并与醇酯化成酯类风味;醇类、酯类和酸类的挥发性风味物质赋予了混合果蔬汁浓郁的水果香味;混合果蔬汁在混合菌种的发酵 48 h 后风味更丰富,风味特性更加饱满,因此最适发酵时间为 48 h。

### 3 结论

开发高品质的益生菌发酵复合果蔬汁,得到的最佳工艺为选择芒果、圣女果和胡萝卜为符合果蔬汁原料,以植物乳杆菌、副干酪乳杆菌和瑞士乳杆菌复配发酵 48 h 的制品 pH 低,酸度较高,活菌数高,感官评价结果质量最优;GC-MS 风味分析表明,发酵过程中酯类、醇类和酸类的挥发性风味物质相对增加,风味较好。

#### 参考文献:

[1] 丘裕. 益生菌果蔬汁的研究进展[J]. 现代食品, 2016(13): 70-73.  
[2] 金世琳. 乳酸菌的科学与技术[J]. 中国乳品工业, 1998,

26(2): 3-5.

- [3] 马正强, 张贝贝, 张京芳, 等. 热烫温度与 pH 值对香椿维生素 C 稳定性的影响[J]. 西北林学院学报, 2015, 30(3): 201-205.  
[4] CARR J G. Microbes I have known: a study of those associated with fermented products[J]. J Appl Bacteriol, 1983, 55(3): 383-401.  
[5] TAHRI K, GRILL J P, SCHNEIDER F. Bifidobacteria strain behavior toward cholesterol: coprecipitation with bile salts and assimilation[J]. Curr Microbiol, 1996, 33(3): 187-193.  
[6] BERGQVIST S W, SANDBERG A S, CARLSSON N G, et al. Improved iron solubility in carrot juice fermented by homo- and hetero-fermentative lactic acid bacteria[J]. Food Microbiol, 2005, 22(1): 53-61.  
[7] 谢国芳, 王瑞, 周笑犁, 等. 蓝莓花色苷稳定性研究进展[J]. 北方园艺, 2016(7): 190-194.  
[8] 冉艳红, 杨春哲, 黄雪松. 乳酸菌在果蔬加工中的应用现状与前景[J]. 中国调味品, 2000, 25(6): 10-13.  
[9] 毛建卫, 吴元锋, 方晟. 微生物酵素研究进展[J]. 发酵科技通讯, 2010, 39(3), 39: 42-44.  
[10] 崔朝辉, 胡小琪, 栾德春, 等. 我国居民果汁饮料消费情况分析[J]. 中国食物与营养, 2007, 13(8): 34-37.  
[11] 邵齐. 乳酸菌发酵果蔬浆加工及贮藏期间品质的变化研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2018.  
[12] 森地敏树. 日本乳酸菌的研究现状和发展趋势[J]. 中国供销商情(乳业导刊), 2004(4): 41-43.  
[13] 卢嘉懿, 李汴生, 李印, 等. 植物乳杆菌发酵不同果蔬汁的品质分析[J]. 食品工业, 2018, 39(12), 39: 142-147.  
[14] 李汴生, 卢嘉懿, 阮征. 植物乳杆菌发酵不同果蔬汁风味品质研究[J]. 农业工程学报, 2018, 34(19), 34: 293-299.  
[15] 马晓娟. 乳酸菌发酵胡萝卜原浆技术及其产品性能研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2013.  
[16] 熊涛, 马晓娟. 植物乳杆菌 NCU166 发酵胡萝卜浆风味物质的分析[J]. 食品科学, 2013, 34(2), 34: 152-154.  
[17] FILANNINO P, AZZI L, CAVOSKI I, et al. Exploitation of the health-promoting and sensory properties of organic pomegranate (*Punica granatum* L.) juice through lactic acid fermentation[J]. Int J Food Microbiol, 2013, 163(2/3): 184-192.