

## **UTJECAJ ULTRAZVUKA VISOKOG INTENZITETA NA KVALITETU PILEĆEG MESA**

**Helga Medić, T. Janči, M. Brnčić, F. Dujmić, Ksenija Markov, Duška Ćurić**

### **Sažetak**

Cilj ovoga istraživanja bio je odrediti parametre kvalitete svježeg pilećeg mesa nakon tretmana ultrazvukom visokog intenziteta. Rezultati su pokazali da ne postoji značajna razlika u ukupnom broju bakterija između tretmana u ultrazvučnoj kupelji kroz 5 i 15 minuta u ispitanim uzorcima pilećeg mesa te da tretman ultrazvukom nema trajan učinak na uništavanje bakterija u pilećem mesu. Nasuprot tomu, funkcionalna svojstva pilećeg mesa su poboljšana tretmanom ultrazvukom u trajanju od 5 minuta pri frekvenciji 37 kHz, snazi 380 W i amplitudi 100%.

**Ključne riječi:** meso, pileća prsa, ultrazvuk, trajnost

### **Uvod**

U posljednjih nekoliko desetljeća potražnja za mesom peradi značajno raste i očekuje se da će ovaj segment tržišta u budućnosti i dalje rasti. Glavni razlozi povećane potražnje su percepcija mesa peradi kao zdravog proizvoda povoljnog nutritivnog sastava zahvaljujući visokom udjelu proteina, niskom udjelu masti i kolesterola, povoljnom omjeru omega-3 i omega-6 masnih kiselina te prisutnosti određenih funkcionalnih komponenata, prikladnosti mesa peradi za preradu što omogućuje plasman široke palete proizvoda te odsutnosti kulturoloških i religijskih normi koje ograničavaju njegovu konzumaciju (Petracci i sur., 2013.). Istodobno se bilježi i porast potražnje za polugotovom i gotovom hranom koja zahtijeva minimalnu obradu prije konzumacije, zbog čega su nove tehnologije i metode produljenja trajnosti hrane predmet brojnih istraživanja.

Jedna od novijih tehnologija je i primjena ultrazvuka visokog intenziteta u proizvodnji i preradi hrane. Uslijed širenja ultrazvučnih valova visokog intenziteta frekvencije više od 20 kHz kroz biološki materijal u sustav (namirnicu) unosi se velika količina energije koja može imati različite mehaničke, kemijske i biokemijske učinke i na taj način utjecati na kvalitetu namirnica tijekom i nakon prerade (Mason i sur., 2011.). Dosadašnja istraživanja dokumentirala su brojne utjecaje ultrazvuka visokog intenziteta na procese prerade poput ekstrakcije, kristalizacije i stvaranja emulzije (Higaki i sur., 2001.), sušenja (Fernandes i Rodrigues, 2008.), zamrzavanja (Delgado i sur., 2009.) i odmrzavanja (Kissam i sur., 1982.) te fizikalno-kemijska i biokemijska svojstva namirnica i/ili njihovih komponenata poput funkcionalnih svojstava proteina (Jambrak i sur., 2008.), aktivnosti enzima (Vercet i sur., 1999.) i mikroorganizama (Piyasena i sur., 2003.).

U tehnologiji prerade mesa primjena ultrazvuka visokog intenziteta istraživala se primarno u svrhu omekšavanja goveđeg mesa, a rezultati različitih istraživanja pokazali su da učinak na omekšavanje mesa ovisi o procesnim parametrima poput frekvencije i intenziteta ultrazvuka

---

Rad je priopćen na znanstveno stručnom simpoziju Peradarski dani, Šibenik od 13. do 16.05.2015. godine.  
izv. prof. dr. sc. Helga Medić, e-mail: hmedic@pbf.hr, tel: 01 4605 126; faks: 01 4605 072; dr.sc. Tibor Janči, prof.dr.sc. Mladen Brnčić, doc.dr.sc. Filip Dujmić, prof.dr.sc Ksenija Markov, prof.dr.sc. Duška Ćurić; Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Pierottijeva 6, 10000 Zagreb, Hrvatska.

te temperature i trajanja ultrazvučnog tretmana (Dolatowski i sur., 2007.). Kako je utjecaj na teksturu mesa prvenstveno posljedica promjena na proteinima mesa zabilježene su i promjene drugih karakteristika mesa vezanih uz proteine poput narušavanja tipične miofibrilarne strukture, povećanja sposobnosti vezanja vode i sočnosti finalnog proizvoda.

Još jedna od istraživanih mogućnosti primjene ultrazvuka u tehnologiji prerade mesa i mesa peradi je smanjenje broja mikroorganizama (Boysen i Rosenquist, 2009.; Haughton i sur., 2012.). Kao i kod omekšavanja mesa, stupanj smanjenja mikroorganizama ovisi o procesnim parametrima, a najbolji rezultati postignuti su primjenom ultrazvuka nižih frekvencija (20-40 kHz) pri tretmanu ultrazvukom visokog intenziteta (Dolatowski i sur., 2007.).

Cilj ovoga istraživanja bio je odrediti parametre kvalitete svježeg pilećeg mesa koji uključuju sposobnost vezanja vode, prinos pri kuhanju, teksturna svojstva i ukupan broj bakterija tijekom 7 dana nakon tretmana ultrazvukom visokog intenziteta.

### ***Materijali i metode***

#### *Materijal*

Uzorci pilećih prsa nabavljeni su u prodavaonici proizvođača Vindija d.d. i preneseni u laboratorij. Pojedinačne polovice pilećih prsa mase 135,7-158,8 g vakuumski su pakirane u plastične vrećice sastava poliamid 20 µm/polietilen 70 µm. Pakirani uzorci su podijeljeni u tri skupine: kontrolni uzorci (bez tretmana ultrazvukom), uzorci tretirani ultrazvukom u trajanju 5 min i uzorci tretirani ultrazvukom u trajanju 15 min. U svakoj skupini je bilo 7 uzoraka.

#### *Tretman ultrazvukom visokog intenziteta*

Pakirani uzorci pilećeg mesa uronjeni su u ultrazvučnu kupelj Elmasonic P300H (Elma, Njemačka). Određeni broj uzoraka je tretiran u razdoblju od 5 minuta, a drugi dio uzorka je tretiran u trajanju od 15 minuta. Ostali parametri rada ultrazvučne kupelji bili su jednaki za obje skupine uzoraka, a iznosili su kako slijedi: frekvencija 37 kHz, efektivna snaga ultrazvuka 380 W, ciklus 100% i početna temperatura kupelji 21 °C.

#### *Određivanje sposobnosti vezanja vode i prinosa pri kuhanju*

Sposobnost vezanja vode (SVV) i prinos pri kuhanju određivani su metodom po Van Laacku i sur. (2000.). Šest g usitnjenog uzorka je izvagano u plastičnu epruvetu od 50 mL. Dodano je 10 mL 3,5% otopine NaCl te je epruveta zatvorena i protresena 15 s. Otopina je ostavljena 30 min na 25 °C te centrifugirana 10 min na 3 000 g. Nakon toga je supernatant odbačen, a epruveta osušena. Potom je epruveta izvagana s peletom i izračunata sposobnost vezanja vode prema formuli:

$$SVV (\%) = [(težina\ peleta + epruvete) - težina\ epruvete - 6,00] / 6 \times 100$$

Nakon vaganja epruvete su začepljene i stavljene na 80 °C tijekom 20 min. Nakon kuhanja tekućina je izlivena iz epruvete, a tekućina zaostala na stijenkama obrisana. Epruvete su izvagane, a prinos pri kuhanju je izračunat prema formuli:

$$Prinos\ pri\ kuhanju (\%) = [(težina\ peleta + epruvete) - težina\ epruvete] / 6 \times 100$$

#### *Instrumentalno određivanje teksture mesa*

Tekstura je mjerena pomoću teksturometra Instrumental Texture Analyzer TA HDPlus (Stable Micro Systems, Velika Britanija). Pripadajući alat je set noževa, brzina rezanja je 1 mm/s, dubina mjerenja 15 mm, a preciznost mjerenja  $\pm 0,01$  N.

#### *Priprema uzoraka*

Korištenjem digitalne pomične mjerke i oštrog noža (skalpela) izrezuje se uzorak svježeg mesa peradi dimenzija 15x20x10 mm (širina x dužina x visina). Temperatura uzoraka se do početka ispitivanja održava na konstantnoj temperaturi od  $4 \pm 1$  °C.

#### *Kalibracija uređaja*

Prije početka serije ispitivanja nužno je provesti kalibraciju uređaja kako bi sustav mogao odrediti vezu između signala (električni otpor) i postignute sile. Kalibracija se provodi korištenjem programa Exponent. U programu se izabirom opcija T.A. – Calibrate – Calibrate Force i T.A. – Calibrate – Calibrate Height kalibriraju sila ili visina.

#### *Analiza uzorka i rezultata*

Nakon instalacije postolja i sonde uzorak se postavlja na sredinu metalnog postolja. U programu Exponent brzina prodiranja sonde namještena je na  $1 \text{ mms}^{-1}$  uz dubinu prodiranja od 15 mm. Računalo se postavlja tako da počinje zapisivati vrijednosti kada sonda dođe u kontakt s uzorkom, pri čemu minimalna izmjerena sila potrebna za početak mjerenja iznosi 0,001 N. Instrumentom se mjeri jedan puni TPA (Texture Profile Analysis, analiza teksturnog profila) ciklus te se kao rezultat dobivaju vrijednosti sile potrebne za prodiranje sonde u uzorak i vrijednosti sile potrebne za izvlačenje sonde iz uzorka za svakih 0,001 s.

Na temelju dobivenih rezultata iz grafa ovisnosti sile primijenjene za prodiranje u uzorak i prijeđenog puta sonde tvrdoća (N) se računa kao maksimalna sila postignuta prilikom prodiranja sonde u uzorak. Elastičnost se računa kao udaljenost koju je sonda prešla od početka prodiranja do lomljenja uzorka te se izražava u mm. Rad potreban za prvi zagriz u materijal računat je kao površina ispod krivulje ovisnosti sile o putu, sve do krajnje točke prodora sonde u uzorak. Rad se izražava u N·m odnosno J, ali se u istraživanjima često koristi N·mm ili mJ (Lu i Abbot, 2004.; Kilcast, 2004.).

Tekstura je određivana na dva načina: rezanje Kramer Warner-Bratzlerovim nožem i penetracija sondom.

Osnovni podaci o ispitivanju:

Kramer Warner-Bratzler ravni nož; brzina rezanja: 0,1 mm/s; dubina rezanja: 20 mm; *load cell*: 30 kg.

Penetracija: 6 mm cilindrična čelična sonda; brzina rezanja: 0,1 mm/s; dubina rezanja: 20 mm; *load cell*: 30 kg.

#### *Neizravno određivanje broja živih bakterija (metoda brojenja mikroorganizama)*

Provodi se naciepljivanjem poznatog volumena suspenzije na čvrstu podlogu na kojoj se očekuje razvoj kolonija. Tijekom određivanja broja živih stanica mikroorganizama uzorak se često mora razrijediti, jer sadržava prevelik broj živih stanica koje mogu tvoriti kolonije, što

otežava ili čak onemogućuje njihovo brojanje na čvrstim podlogama. Stoga je potrebno načiniti seriju decimalnih razrjeđenja (u omjeru 1:10). Postupak treba voditi tako da na čvrstoj podlozi u Petrijevoj zdjelici ne poraste više od 300, a ni manje od 30 kolonija. Statistički valjan uzorak je onaj koji ima između 30 i 300 jedinica koje tvore kolonije. Metoda se osniva na pretpostavci da će iz svake žive stanice porasti jedna kolonija mikroorganizma. Postupak razrjeđivanja treba ponavljati sve dok nije načinjeno prikladno razrjeđenje.

Po 1 mL uzorka otpipetirano je u praznu Petrijevu zdjelicu, dodan je rastaljeni hranjivi agar za bakterije i ohladi se. Nakon što se podloga stvrdne provede se inkubacija u termostatu pri 37 °C tijekom 24 sata. Cijeli postupak je vođen u sterilnim uvjetima kako bi se spriječila kontaminacija uzoraka. Kolonije bakterija koje su porasle na čvrstoj hranjivoj podlozi predstavljaju stvaran broj živih stanica te su prebrojane na brojaču kolonija. Tako dobivene vrijednosti se označavaju kao CFU vrijednost (*Colony Forming Units*).

$CFU = (\text{broj poraslih kolonija}) / (\text{volumen upotrebljenog uzorka}) \times \text{recipročna vrijednost decimalnog razrjeđenja [jed/mL]}$

### **Rezultati i rasprava**

U tablici 1. prikazana je sposobnost vezanja vode i prinos pri kuhanju pilećeg mesa prije i nakon tretmana ultrazvukom, dok su u tablici 2. prikazana teksturna svojstva ispitivanih uzoraka pilećeg mesa. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija.

Tablica 1. Funkcionalna svojstva pilećeg mesa nakon tretmana ultrazvukom visokog intenziteta  
Table 1 Functional properties of chicken meat treated with high power ultrasound

	Sposobnost vezanja vode (%)	Prinos pri kuhanju (%)
K	68,86 $\pm$ 9,76	116,72 $\pm$ 7,65
5	74,64 $\pm$ 7,58	117,55 $\pm$ 4,30
15	59,15 $\pm$ 5,42	103,18 $\pm$ 5,93

K-kontrola; 5-vrijeme trajanja tretmana ultrazvukom 5 min; 15-vrijeme trajanja tretmana ultrazvukom 15 min

Tablica 2. Teksturna svojstva pilećeg mesa tretiranog ultrazvukom visokog intenziteta  
Table 2 Effect of ultrasound treatment on the chicken meat texture

	Tvrdoća [N]	Elastičnost [mm]	Rad potreban za zagriz
K	99,29 $\pm$ 30,50	28,24 $\pm$ 4,63	89947,58 $\pm$ 23738,71
5	89,79 $\pm$ 18,33	27,89 $\pm$ 8,07	81857,18 $\pm$ 20360,49
15	107,96 $\pm$ 7,93	28,35 $\pm$ 8,59	101068,28 $\pm$ 9197,28

K-kontrola; 5-vrijeme trajanja tretmana ultrazvukom 5 min; 15-vrijeme trajanja tretmana ultrazvukom 15 min

Tretman ultrazvukom visokog intenziteta koristi se, između ostalog, zbog poboljšanja teksture mesa, mariniranja, sposobnosti vezanja vode i prinosa pri kuhanju, često pri frekvencijama od 24-45 kHz i vremenu tretmana od 2 do 120 minuta (Turantaş i sur., 2015.). Rezultati ovoga istraživanja pokazuju poboljšanu sposobnost vezanja vode kao i prinos pri kuhanju pilećeg

mesa nakon tretmana ultrazvukom visokog intenziteta u trajanju od 5 minuta pri frekvenciji 37 kHz. Produženjem trajanja tretmana došlo je do smanjenja sposobnosti vezanja vode i prinosa pri kuhanju u odnosu na uzroke pilećeg mesa koji su bili tretirani 5 minuta i uzorke koji nisu bili tretirani ultrazvukom.

Različito vrijeme trajanja tretmana ultrazvukom različito je utjecalo na teksturna svojstva pilećeg mesa. Sam učinak ultrazvuka u smislu omekšavanja mesa postiže se razaranjem mišićnih stanica ili biokemijski, kroz poticanje enzimskih reakcija (Chemat i sur., 2011.). Iz rezultata prikazanih u tablici 2. je vidljivo da je tretman u trajanju od 5 minuta pri frekvenciji 37 kHz, snazi 380 W i amplitudi 100% smanjio tvrdoću pilećeg mesa, elastičnost i rad potreban za zagriz, dok je tretman u trajanju od 15 minuta negativno utjecao na navedena svojstva. Pozitivan učinak ultrazvuka na teksturna svojstva goveđeg mesa utvrdili su Jayasooriya i sur. (2007.), a pilećeg i svinjskog mesa Turantaş i sur. (2015.).

Utjecaj djelovanja ultrazvuka visokog intenziteta kroz 5 i 15 minuta na mikrobiološku sliku vakuumski pakiranog svježeg pilećeg mesa neposredno nakon tretmana u ultrazvučnoj kupelji te praćenje ukupnog broja bakterija nakon 3, 5 i 7 dana čuvanja u hladnjaku prikazan je u tablici 3.

Tablica 3. Srednje vrijednosti ukupnog broja bakterija nakon tretiranja pilećeg mesa ultrazvukom visokog intenziteta

Table 3 Total bacterial count in chicken meat after treatment with high power ultrasound (dan - day)

Dan	K	CFU/g	
		5	15
0	$6,1 \times 10^5$	2715colan. hladnjaku , 3., 5. i dana nosti uzoraka mesau u usporedbi sa mikrobiološkim kriterijima za gotova jela mogu se nako, $1 \times 10^5$	
3	$6,5 \times 10^5$	$6 \times 10^5$	$5,3 \times 10^5$
5	$2 \times 10^6$	$2,8 \times 10^6$	$2,5 \times 10^6$
7	$2 \times 10^6$	$2,5 \times 10^6$	$2 \times 10^6$

K-kontrola; 5-vrijeme trajanja tretmana ultrazvukom 5 min; 15-vrijeme trajanja tretmana ultrazvukom 15 min

Iz dobivenih rezultata vidljivo je da je broj bakterija smanjen odmah nakon tretmana za  $0,5 \log$  CFU/g, iz čega proizlazi da tretman ultrazvukom visokog intenziteta u ultrazvučnoj kupelji nema značajan utjecaj na smanjenje broja bakterija na uzorcima svježeg pilećeg mesa. U literaturi postoji vrlo malo podataka o tretiranju krute hrane ultrazvukom, iako postoje brojne prednosti primjene ultrazvuka u smanjenju broja mikroorganizama u odnosu na toplinsku sterilizaciju koje uključuju minimiziranje gubitka okusa proizvoda, poboljšanje homogenosti i uštedu energije. Smanjenje broja aerobnih bakterija na uzorcima pilećeg mesa nakon tretmana ultrazvukom postignuto je u rasponu od 0 do  $0,8 \log$  CFU/cm<sup>2</sup>, a autori su ponudili nepravilnost površine uzorka koja pruža zaštitu bakterijama kao moguće objašnjenje tako ograničenog učinka tretmana ultrazvukom (Loretz i sur., 2010.). Stoga se tretman ultrazvukom koristi za smanjenje broja bakterija najčešće u kombinaciji s drugim metodama konzerviranja ili uz primjenu topline i povišenog tlaka, jer se tada učinak ultrazvuka povećava (Turantaş i sur., 2015.).

Nadalje, nije utvrđen pozitivan utjecaj ultrazvuka visokog intenziteta na ukupan broj bakterija tijekom čuvanja, kao što je vidljivo u tablici 3. Ne postoji značajna razlika u broju bakterija u tretiranim i netretiranim uzorcima pilećeg mesa kroz razdoblje od 7 dana. Iz rezultata proizlazi da tretman ultrazvukom nema dugotrajni učinak na smanjenje broja bakterija u uzorcima pilećeg mesa pa se na takav način tretiranom pilećem mesu ne može produžiti trajnost.

### **Zaključci**

Funkcionalna i teksturna svojstva pilećeg mesa poboljšana su tretmanom ultrazvukom u trajanju od 5 minuta pri frekvenciji 37 kHz, snazi 380 W i amplitudi 100%. Nije se pokazala značajna razlika između tretmana ultrazvukom u trajanju od 5 i 15 minuta u odnosu na ukupan broj bakterija u ispitanim uzorcima pilećeg mesa. Postignuto je smanjenje broja bakterija od 0,5 log CFU/g.

Budući da antimikrobni učinak tretmana ultrazvukom visokog intenziteta u ultrazvučnoj kupelji pri frekvenciji 37 kHz, snazi 380 W i amplitudi 100% nije trajan i ima samo ograničeni učinak na smanjenje broja bakterija, za postizanje odgovarajućeg antimikrobnog učinka tretman ultrazvukom trebao bi se primjenjivati u kombinaciji s drugim antimikrobnim sredstvima.

### **LITERATURA**

1. Boysen, L., Rosenquist, H. (2009.): Reduction of thermotolerant *Campylobacter* species on broiler carcasses following physical decontamination at slaughter. *J. Food Protect.* 72, 497-502.
2. Chemat, F., Zill-E-Huma, M. K. Khan (2011.): Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry* 18, 813-835.
3. Delgado, A. E., L. Zheng, D. W. Sun (2009.): Influence of ultrasound on freezing rate of immersion-frozen apples. *Food Bioprocess Tech.* 2, 263-270.
4. Dolatowski, Z. J., J. Stadnik, D. Stasiak (2007.): Applications of ultrasound in food technology. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* 6, 89-99.
5. Fernandes, F. A. N., S. Rodrigues (2008.): Application of ultrasound and ultrasound-assisted osmotic dehydration in drying of fruits. *Dry Technol.* 26, 1509-1516.
6. Haughton, P. N., J. G. Lyng, D. J. Morgan, D. A. Cronin, F. Noci, S. Fanning, P. Whyte (2012.): An evaluation of the potential of high-intensity ultrasound for improving the microbial safety of poultry. *Food Bioprocess Technol.* 5, 992-998.
7. Higaki, K., S. Ueno, T. Koyano, K. Sato (2001.): Effects of ultrasonic irradiation on crystallization behavior of tripalmitoylglycerol and cocoa butter. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 78, 513-518.
8. Jambrak, A. R., T. J. Mason, V. Lelas, Z. Herceg, I. L. Herceg (2008.): Effect of ultrasound treatment on solubility and foaming properties of whey protein suspensions. *J. Food Eng.* 86, 281-287.
9. Jayasooriya, S. D., P. J. Torley, B. R. D'arcy, B. R. Bhandari (2007.): Effect of high power ultrasound and ageing on the physical properties of bovine semitendinosus and longissimus muscles. *Meat Sci.* 75, 628-639.
10. Kilcast, D. (2004.): Measuring consumer perceptions of texture: an overview. In: *Texture in Food, Volume 2: Solid Foods*. (D. Kilcast, ed.). Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 3-32.
11. Kissam, A., R. Nelson, J. Ngao, P. Hunter (1982.): Water thawing of fish using low frequency acoustics. *J. Food Sci.* 47, 71-75.

12. Loretz, M., R. Stephan, C. Zweifel (2010.): Antimicrobial activity of decontamination treatments for poultry carcasses: a literature survey. *Food Control* 21, 791-804.
13. Lu, R., J. Abbott (2004.): Force/deformation techniques for measuring texture. In: *Texture in Food, Volume 2: Solid Foods*. (D. Kilcast, ed.). Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 109-145.
14. Mason, J., F. Chemat, M. Vinatoru (2011.): The extraction of natural products using ultrasound or microwaves. *Curr. Org. Chem.* 15, 237-247.
15. Petracci, M., M. Bianchi, S. Mudalal, C. Cavani (2013.): Functional ingredients for poultry meat products. *Trends Food Sci. Tech.* 33, 27-39.
16. Piyasena P., E. Mohareb, R. C. Mckellar (2003.): Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *Int. J. Food Microbiol.* 87, 207-216.
17. Turantaş, F., G. B. Kılıç, B. Kılıç (2015.): Ultrasound in the meat industry: general applications and decontamination efficiency. *Int. J. Food Microbiol.* 198, 59-69.
18. Van Laack, R. L. J. M., C.-H. Liu, M. O. Smith, H. D. Loveday (2000.): Characteristics of pale, soft, exudative broiler breast meat. *Poult. Sci.* 79, 1057-1061.
19. Vercet, A., P. Lopez, J. Burgos (1999.): Inactivation of heat-resistant pectinmethylesterase from orange by manothermosonication. *J. Agr. Food Chem.* 47, 432-437.

## **INFLUENCE OF HIGH POWER ULTRASOUND ON THE QUALITY OF CHICKEN MEAT**

### **Summary**

The aim of this study was to determine quality parameters of raw chicken meat after treatment with high power ultrasound. The results showed that there was no significant difference in the total number of bacteria between the samples treated in ultrasonic bath for 5 and 15 minutes and that ultrasound treatment had no lasting effect on destruction of bacteria in chicken meat. In contrast, functional properties of chicken meat were improved by treatment with ultrasound for 5 minutes at a frequency of 37 kHz, 380 W power and amplitude of 100%.

**Key words:** chicken meat, high power ultrasound, texture, quality

Priljeno: 21.12.2015.

Prihvaćeno: 04.10.2016.