

Çukurova (Adana) Bölgesi'nden Beş Ayrı Tilapia Türünün Yağ Asidi İçeriklerinin Tespiti

Mehmet ÇELİK, Mahmut Ali GÖKÇE
Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri, Fakültesi 01330, Adana - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 17.08.2001

Özet: Bu çalışmada Seyhan Baraj Gölü'nde ağ kafeslerde yetiştirilen *Tilapia rendalli*, *T. zilli*, *Oreochromis aurea* ile tatlı su havuzlarında yetiştirilen *O. niloticus* ve Seyhan Nehri'nden yakalanan *Tilapia* spp.'lerin yağ asitleri incelenmiştir.

Doğadan yakalanan tilapiaların kas dokusundaki toplam tekli doymamış, omega-3 (ω -3) ve omega-6 (ω -6) yağ asitleri, havuzda ve kafeslerde yetiştirilen diğer tilapia türlerine göre önemli düzeyde yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$). Toplam ω -3 yağ asitleri ortalamaları karşılaştırıldığında, doğadan yakalananlarda en fazla bulunmuş olup bunu sırasıyla *O. aurea*, *O. niloticus*, *T. rendalli* ve *T. zilli* izlemiştir ($p < 0.05$). ω -3/ ω -6 oranına bakıldığında ise en yüksek oran doğadan yakalanan *Tilapia* spp.'de saptanmış (1,95), diğerleri ise sırasıyla, *O. aurea* (1,37), *T. rendalli* (1,29), *T. zilli* (1,21) ve *O. niloticus* (1,12) olarak hesaplanmıştır.

Anahtar Sözcükler: *Tilapia zilli*, *Tilapia rendalli*, *Oreochromis aereus*, *Oreochromis niloticus*, *Tilapia* spp., Yağ Asitleri

Determination of Fatty Acid Compositions of Five Different Tilapia Species from the Çukurova (Adana/Turkey) Region

Abstract: The fatty acid compositions of *Tilapia rendalli*, *T. zilli* and *Oreochromis aurea* reared in cages located in Seyhan Dam Lake, *O. niloticus* reared in freshwater ponds and *Tilapia* spp. from the Seyhan River were compared.

The fatty acid levels of *Tilapia* spp. from the Seyhan River were significantly higher than those of the other groups ($p < 0.05$). Total ω -3 fatty acid values were significantly different for all groups and the highest level were found in *Tilapia* spp. ($p < 0.05$). The ratio of ω -3/ ω -6 for *Tilapia* spp., *O. aurea*, *T. rendalli*, *T. zilli* and *O. niloticus* were 1.95, 1.37, 1.29, 1.21 and 1.12, respectively.

Key Words: *Tilapia zilli*, *Tilapia rendalli*, *Oreochromis aereus*, *Oreochromis niloticus*, *Tilapia* spp., Fatty acids

Giriş

Tilapia tatlı su balıkları arasında Uzak Doğu ve Afrika'nın birçok ülkesinde yetiştiriciliği kolay yapılan bir türdür. Ülkemizde de subtropik iklim şartlarının hakim olduğu Çukurova Bölgesi'nde rahatlıkla yetiştirilebilmektedir.

Balık ve balık yağındaki yağ asitleri, insan sağlığı üzerine olan sayısız yararlı etkilerinden dolayı son zamanlarda yoğun olarak bilimsel araştırmalara konu olmaktadır. İnsan beslenmesi açısından, balık kaynaklı protein ve yağlar insan tüketimine sunulan besinler içerisinde büyük bir öneme sahiptir. Özellikle uzun zincirli doymamış yağ asitlerinden olan çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) ve yüksek doymamış yağ asitleri (HUFA) beslenme fizyolojisi açısından çok önemli olup bünyelerinde 5 yada 6 adet çift bağ bulundurmaktadır. HUFA ve PUFA'ların en önemlileri ω -3 yağ asitleridir. Koroner kalp hastalıklarının önlenmesinde son derece

yararlı etkilere sahip bu yağ asitleri sadece su ürünlerinde bulunmaktadır (1,2,3).

Kayam (4)'a göre özellikle soğuk ve derin deniz balıklarında bu yağ asitlerinin fazlaca bulunması, ω -3 yağ asitlerinin ω -6 yağ asitlerine göre erime sıcaklığının daha düşük olması ve balıkların membran yapısına daha fazla katılmasından kaynaklanmaktadır. İliman ve sıcak bölgelerde yaşayan tatlı su balıklarında ise erime sıcaklığı daha yüksek olan ω -6 yağ asitleri daha fazladır.

Ayrıca, kültürü yapılan tatlı su balıklarının ağırlıklı olarak bitkisel yağlarla desteklenmiş yemlerle beslenmeleri nedeniyle, dokularında ω -6 yağ asitleri miktarının daha da arttığı bildirilmektedir (5-8).

Corser ve ark. (9) yapmış oldukları bir çalışmada, tropik bir tür olan tilapianın ω -3 yağ asitleri miktarının yetiştiriciliği yapılan diğer tropik ve ılıman iklim balıklarından daha yüksek bulunduğunu bildirmişlerdir.

Beslenme alışkanlığı konusunda yapılan bir çalışmada, tilapiaların omnivor oldukları ve doğada mavi-yeşil algler, yeşil algler, diatomlar, makrofitler ve bakterilerle beslendikleri (10) ve ayrıca bentik tatlı su alglerinin ω -3 yağ asitlerince zengin oldukları belirlenmiştir (11).

Yetiştiricilikte amaç bir türü, hızlı ve albenisi yüksek bir şekilde yetiştirmektir. Ancak gelecekte, yetiştiriciliği yapılan ürünlerin besinsel kalitesi tüketici seçiciliği konusunda önemli ölçütlerden biri olacaktır. Su ürünlerinde de besinsel kalitenin en önemli göstergelerinden biri olan ürünlerin ω -3 yağ asidi içerikleri düzeyidir.

Bu çalışma, ağ kafes ve havuzlarda hazır yemlerle beslenip yetiştirilen tilapialarla, doğal ortamda beslenen tilapiaların yenilebilir kısmındaki esansiyel yağ asitlerinin, tüm yağ asitleri içerisindeki yerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışma, Çukurova Üniversitesi Tatlı Su Araştırma İstasyonu'nda yetiştirilen *O. niloticus* ve Adana Seyhan Baraj Gölü'nde ağ kafes sisteminde yetiştirilen *T. zilli*, *T. rendalli* ve *O. aurea* türleri ile Seyhan Nehri'nin Akdeniz'e döküldüğü kısımda bulunan Karagöçer köyü bölgesinden yakalanan *Tilapia* spp.'lerde yürütülmüştür. Doğal ortamda tilapia türleri çiftleşip melez bireyler oluşturduklarından, nehirden yakalananlarda tür tayini yapılmamıştır. Örnekler 1 yaşında ve ortalama ağırlıkları 100 ± 10 g olan bireylerden oluşmuştur.

Çalışmada, üretici firma (PINAR Yem Fabrikası, Türkiye) tarafından besin içeriği Tablo 1'de bildirilen 3 mm çapındaki sazan pelet yemi ile beslenen tilapialar ve doğadan yakalanan tilapialar avcılıktan hemen sonra analize alınmışlardır.

Tablo 1. Denemede Kullanılan Yem Materyalinin Besin Madde İçeriği (Pınar A.Ş.).

Su	En çok %12
Ham Protein	En çok %28
Ham Selüloz	En çok %5
Ham Kül	En çok %15
NaCl	En çok %1

Balık filetolarında toplam lipit tayini, Bligh ve Dyer (12)'e göre yapılmıştır. Elde edilen lipitlerden yağ asidi analizi Oehlenschläger'in (13) bildirdiği Bortrifluorid/Methanol metodu (DGF-Method)'na göre gerçekleştirilmiştir. Bu metod ilk olarak Metcalfe ve Schmitz (14) tarafından ortaya atılmış ve daha sonra Metcalfe ve ark. (15) tarafından modifiye edilmiştir. Son olarak da Van Vijnngaarden (16) tarafından n-Heptanla ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. Bu sayede suda çözülebilir metil esterinin daha da artması sağlanmıştır. Yağ asitlerinin analizinde *Philips Pye Unicam PU 4500 Kapiler Gaz Kromatografisi ile Flame-Ionization Dedector* (FID) kullanılmıştır. Kolon olarak yağ asitlerinin identifikasyonu için uyumlu SP 2380 (30 m X 0,25 mm X 0,20 mm) kolondan yararlanılmıştır. Detektör sıcaklığı 250 °C, Enjektör sıcaklığı 250 °C, Kolon sıcaklığı ise 120 °C'de 2 d bekletilip dakikada 8 °C artışla maksimum 210 °C'ye kadar sürülmüştür. Yağ asidi metil esteri iki paralelli çalışılmış ve 0,1 ml enjekte edilmiştir. Yağa asitlerinin çıkış zamanlarını (retention times) belirleyebilmek için eksternal standart kullanılmış ve çalışmada elde edilen kromatogramdaki yağ asidi sonuçları g / 100 g yağ olarak verilmiştir.

Kimyasal analizler sonucu elde edilen veriler SPSS 8.0 istatistik paket programında varyans analizine tabi tutulmuş, ortalamaların karşılaştırılmasında "Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi" uygulanmıştır (17).

Bulgular

Yapılan analizler sonucunda doğadan yakalanan tilapiaların kas dokusundaki toplam tekli doymamış, ω -3 ve ω -6 yağ asitleri havuzda ve kafeslerde yetiştirilen diğer tilapia türlerine göre önemli düzeyde yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$). Toplam ω -3 yağ asitleri ortalamaları karşılaştırıldığında, doğadan yakalanan türde en fazla bulunmuş olup onu sırasıyla *O. aurea*, *O. niloticus*, *T. rendalli* ve *T. zilli* izlemiştir ($p < 0.05$). ω -3/ ω -6 oranına bakıldığında ise en yüksek oran doğadan yakalanan *Tilapia* spp.'lerde saptanmış (1,95), diğerleri ise sırasıyla, *O. aurea* (1,37), *T. rendalli* (1,29), *T. zilli* (1,21) ve *O. niloticus* (1,12) olarak hesaplanmıştır.

Tartışma

Kafeslerde ve havuzda yetiştirilen tilapialar ile doğada yaşayan tilapiaların toplam ve ayrı ayrı tekli doymamış, ω -3 ve ω -6 yağ asitlerinin oransal miktarları incelenmiştir.

Elde edilen verilere göre, doğal ve kültür tilapialarında tekli doymamış yağ asitleri en yüksek düzeyde (% 16.190-38.860) bulunmuş, bunu sırasıyla ω -3 yağ asitleri (% 10,290-19,885) ve ω -6 yağ asitleri (% 8,520-11,450) izlemiştir. Toplam PUFA oranı ise % 18,810-30,065 arasında saptanmıştır. Ayrıca ω -3 yağ asitlerinin ω -6 yağ asitlerine oranları yönünden ise en yüksek oran 1,95 ile doğadan yakalanan *Tilapia spp.*'lerde bulunmuştur. Bunu sırasıyla *O. aurea* (1,37), *T. rendalli* (1,29), *T. zilli* (1,21) ve *O. niloticus* izlemiştir. Araştırma bulgularından da anlaşılacağı gibi balıkların tür ve yaşama ortamlarına göre yağ asitlerinin değişim gösterdiği tespit edilmiştir (Tablo 2,3,4). Van Raaij (18) tatlı su

balıklarının plazma serbest yağ asitleri kompozisyonu ile ilgili yapmış olduğu çalışmada, tilapialarda en fazla doymuş yağ asitlerinin bulunduğunu bildirmiştir. Ayrıca Corser ve ark. (9) Venezüella'da tilapia ve bazı tatlı su balıklarında yapmış oldukları yağ asidi profili çalışmasında, tilapiaların kas dokusunda en yüksek doymuş yağ asitlerinin bulunduğunu ve çoklu doymamış yağ asitlerinden ise ω -3 yağ asitlerinin yoğun olduğunu saptamışlardır. Nitekim, yapılan bir çalışmada tilapiaların omnivor oldukları ve doğada mavi-yeşil algler, yeşil algler, diatomlar, makrofitler ve bakterilerle beslendikleri (10) ve bu besinlerin ω -3 yağ asitlerince zengin olduğu bildirilmiştir (11). Benzer şekilde Clement ve Lovell (19)

Tablo 2. Araştırmada Kullanılan Tilapiaların (*O. niloticus*, *T. rendalli*, *T. zilli*, *O. aurea* ve *Tilapia spp.*) Doymuş Yağ Asitleri (%).

Yağ asitleri	<i>Tilapia spp.</i>	<i>O. niloticus</i>	<i>T. zilli</i>	<i>T. rendalli</i>	<i>O. aurea</i>
C12:0	0.065±0.005b	0.090±0.000c	0.045±0.005a	0.045±0.005a	0.055±0.005ab
C13:0	0.010±0.000a	0.030±0.000d	0.020±0.000b	0.020±0.000c	-
C14:0	2.310±0.001a	2.335±0.005a	3.550±0.000d	3.470±0.002c	3.025±0.005b
C15:0	0.380±0.000c	0.555±0.005d	0.320±0.000a	0.355±0.005b	0.380±0.000c
C16:0	23.115±0.045c	19.605±0.105a	20.545±0.005d	20.705±0.025b	19.390±0.110a
C17:0	0.700±0.000c	1.245±0.015d	0.440±0.000a	0.465±0.005a	0.540±0.000b
C18:0	4.865±0.005a	6.175±0.025e	5.830±0.000d	5.715±0.015c	5.015±0.005b
C21:0	0.020±0.000a	0.135±0.005b	0.145±0.005b	0.170±0.000b	0.140±0.020b
C23:0	0.060±0.000b	-	0.025±0.015a	-	-
C24:0	0.130±0.000d	0.240±0.000e	0.060±0.000a	0.075±0.005b	0.110±0.000c
Σ Doymuş	31.655	30.410	30.980	31.020	28.655

Aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0.05$)

Tablo 3. Araştırmada Kullanılan Tilapiaların (*O. niloticus*, *T. rendalli*, *T. zilli*, *O. aurea* ve *Tilapia spp.*) Tekli Doymuş Yağ Asitleri (%).

Yağ asitleri	<i>Tilapia spp.</i>	<i>O. niloticus</i>	<i>T. zilli</i>	<i>T. rendalli</i>	<i>O. aurea</i>
C14:1	0.100±0.000a	0.145±0.005c	0.165±0.005d	0.145±0.005c	0.130±0.000b
C16:1	6.880±0.010e	5.710±0.040a	6.195±0.015d	6.060±0.010c	5.785±0.005b
C17:1	0.425±0.005b	0.060±0.000a	-	-	-
C18:1 ω -9	8.320±0.005a	16.290±0.090b	30.955±0.005e	27.485±0.255d	23.800±1.049c
C20:1 ω -9	0.260±0.000a	0.830±0.000b	1.125±0.005e	1.065±0.005c	1.100±0.010d
C22:1 ω -9	-	0.160±0.000b	0.285±0.005c	0.310±0.000d	0.085±0.005a
C24:1 ω -9	0.205±0.005d	0.120±0.000a	0.135±0.005b	0.140±0.000b	0.175±0.005c
Σ Doymuş	16.190	23.315	38.860	35.205	31.075

Aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0.05$)

Tablo 4. Araştırmada Kullanılan Tilapiaların (*O. niloticus*, *T. rendalli*, *T. zilli*, *O. aurea* ve *Tilapia* spp.) Toplam Yağda Tespit Edilen ω -3, ω -6 ve Tanımlanamayan Yağ Asitleri ile ω -3 Yağ Asitlerinin ω -6 Yağ Asitlerine Oranı.

Yağ asitleri	<i>Tilapia</i> spp.	<i>O. niloticus</i>	<i>T. zilli</i>	<i>T. rendalli</i>	<i>O. aurea</i>
C18:2 ω -6tr	0.340±0.000b	0.435±0.005c	0.230±0.000a	0.230±0.000a	0.370±0.020b
C18:2 ω -6	7.235±0.005b	7.345±0.005c	7.080±0.000a	7.680±0.015d	9.295±0.045e
C18:3 ω -6	0.450±0.000d	0.315±0.005c	0.180±0.000a	0.190±0.010a	0.210±0.000b
C20:4 ω -6	2.155±0.025b	3.355±0.205c	1.030±0.010a	1.315±0.035a	1.355±0.025a
Σ ω -6	10.180	11.450	8.520	9.415	11.230
C18:3 ω -3	9.180±0.010e	2.705±0.015d	0.815±0.005a	0.900±0.010b	1.275±0.025c
C20:5 ω -3	4.145±0.005e	2.125±0.000e	1.105±0.015a	1.415±0.015b	2.135±0.005d
C22:6 ω -3	6.560±0.020a	9.835±0.065c	8.370±0.010b	9.845±0.015c	12.010±0.040d
Σ ω -3	19.885	14.665	10.290	12.160	15.420
Σ Çoklu doymamış	30.065	26.115	18.810	21.575	26.650
Tanımsız	22.090	20.160	11.350	12.200	13.620
ω -3/ ω -6	1.95	1.12	1.21	1.29	1.37

Aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0.05$)

Nil tilapialarının kas dokusundaki ω -3 yağ asitleri konsantrasyonunun aldıkları besinlere bağlı olarak değiştiğini belirtmektedirler. Dolayısıyla kültürü yapılanlara oranla doğadan beslenen tilapiaların ω -3 yağ asitlerince daha zengin olmasına neden olarak, doğadan alınan besinlerin kompozisyonun kültür balıkçılığında kullanılan yemlerin kompozisyonuna göre daha kompleks olması gösterilebilir.

Bu çalışmada % 28,655-31,655 ile toplam doymuş yağ asitlerinin en yüksek düzeylerde olduğu ve ω -3 yağ asitlerinin doymamış yağ asitleri içerisinde tekli doymamış yağ asitlerinden sonra ikinci sırada yüksek değere sahip olduğu saptanmıştır. Bu veriler Van Raaij (18) ve Corser ve ark. (9)'nın sonuçlarına benzerlik göstermektedir.

Çelik (20) Gökkuşuğu alabalıklarında yapmış olduğu araştırmada toplam ω -3 yağ asitlerinin % 32,36 olduğunu bildirmiştir. Mevcut çalışmada ise farklı tilapia türleri için elde edilen toplam ω -3 yağ asitleri oranının % 10,290-19,885 arasında değiştiği belirlenmiştir. Bu değerlere göre, tilapia türlerindeki toplam ω -3 yağ asitleri miktarının alabalığa oranla yaklaşık 1/3 oranda daha düşük olduğu görülmektedir. Bu sonuç, literatürde

verilen soğuk ve sıcak iklim balıkları arasındaki yağ asidi farklılık tezini doğrulamaktadır.

Sıcak iklim bölgelerinde kültürü yapılan tatlı su balıklarının dokularında uzun zincirli yağ asitlerinden ω -6 yağ asitlerinin daha fazla bulunduğu bildirilmektedir (4-8). Öte yandan bir başka araştırmada, tropik iklim bölgelerinde yetiştirilen tilapiaların kas dokusunda ω -3 yağ asitlerinin daha fazla olduğu saptanmıştır (9). Benzer şekilde bu araştırmada da Çukurova Bölgesi'nde kültürü yapılan tilapialara göre doğadan yakalananların aldıkları besinlere bağlı olarak kas dokularındaki uzun zincirli doymamış yağ asitlerinden ω -3 yağ asitlerinin daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, tilapia türlerinin toplam yağ asidi profiline bakıldığında yüksek düzeyde ω -3 yağ asitleri içermesi, bu türlerin insan beslenmesi için önemli bir besin kaynağı olduğunu ortaya koymaktadır. Bunun yanı sıra, tilapia türlerinin yetiştirilmesi kolay ve maliyetinin düşük olması, ayrıca etinin nötral bir özellik göstermesi bu türlerin tüketiciler tarafından daha fazla tercih edilebileceğini düşündürmektedir.

Kaynaklar

1. Dyerberg, J.: Linolenate-derived Polyunsaturated Fatty Acid and Prevention of Arteriosclerosis. *Nut. Rev.* 1986; 44: 125-139.
2. Neuringer, M., Conner, W.E.: ω -3 Fatty Acids in the Brain and Retina: Evidence for their Essentiality. *Nut. Rev.* 1986; 44 (9): 285-294.
3. Pigott, G.M., Tucker, B.W.: Science Opens New Horizons for Marine Lipids in Human Nutrition. *Food Rev. Int.* 1987; 3 (1&2): 105-138.
4. Kayam, M.: *Feed Oil Abst. Bull.* 1977; 6: 6-10.
5. Chanmugam, P., Boudreau, M., Hwanmg, D.H.: Differences in the n-3 Fatty Acid Contents in Pond-Reared and Wild Fish and Shellfish. *J. Food Sci.* 1986; 51 (6): 1556-1557.
6. Mohsen, E.R.: Launching Major Research Program on Fish Oils and Health. *Food Chemical News.* 1985; 6: 34-39.
7. Rahman, S.A., Huah, T.S., Hassan, O., Daud, N.M.: Fatty Acid Composition of some Malaysian Freshwater Fish. *Food Chem.*, 1995; 54: 45-49.
8. Vlieg, P., Body, D.B.: Lipid Contents and Fatty Acid Composition of Some New Zealand Freshwater Finfish and Marine Finfish, Shellfish and Roes. *New Zeland J. Marine Freshwater Res.* 1988; 22: 151.
9. Corser P.I., Ferrari G.T, De Martinez, Y.B., Salas, E.M., Cagnasso, M.A.: Proximal Analysis, Fatty Acids Profile, Essential Amino Acids and Mineral of Twelve Fish Species of Commercial Importance of Venezuela. *Archivos Latinoamericanos Nutrition, Caracas* 2000, 50 (2): 187-194.
10. Bhujel, R.J., Yakupitiyage, A., Turner, W.A., Little, D.C.: Selection of a Commercial Feed for Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Broodfish Breeding in a Hapa-in-Pond System. *Aquaculture* 2001, 194 (3-4): 303-314.
11. Wilkie, A.C., Mulbry, W.W.: Recovery of Dairy Manure Nutrients by Benthic Freshwater Algae. *Bioresource Tech.*, 2002; (in press).
12. Bligh, G.F., Dyer, F.W.: A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification. *Can. J. Biochem. Phys.* 1959; 37 (8): 911-917.
13. Oehlenschläger, J.: Eine Universell Verwendbare Methode zur Bestimmung des Fettsäuregehalts in Fischen und anderen Meerestieren 1 nf.f.d.Fischwirtschaft 1986; 33 (4): 188-190.
14. Metcalfe, L.D., Schmitz, A.A.: The Rapid Preparation of Fatty Acid Esters for Gas Chromatographic Analysis. *Anal. Chem.* 1961; 33: 363-364.
15. Metcalfe, L.D., Schmitz, A.A., Pelka, J.R.: The Rapid Preparation of Fatty Acid Esters for Gas Chromatographic Analysis. *Anal. Chem.* 1966; 38: 514.
16. Van Wijngaarden, D.: Modified Rapid Preparation of Fatty Acid Esters from Lipids for Gas Chromatographic Analysis. *Anal. Chem.* 1967; 39: 848-849.
17. SPSS for Windows Advanced Statistics Release 8.0, 1997.
18. Van Raaij, M.T.M.: The Level and Composition of Free Fatty Acids in the Plasma of Freshwater Fish in a Post-Absorptive Condition. *Comp. Biochem. Physiol.* 1994, 109 (4): 1067-1074.
19. Clement, S., Lowell, R.T.: Comparison of Processing Yield and Nutrient Composition of Cultured Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, 1994; 199: 299-310.
20. Çelik, M.: Su Sirkülasyonunun Gökkuşluğu Alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) Filetolarında Omega-3 Yağ Asitleri Miktarına Etkisi. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 2000; 24 (6): 605-607.