



HAL
open science

Feeding value of insect meals in trout and poultry: digestibility and effect on quality of products

Christine Burel, Michel Lessire, Herve Juin, Philippe Rousseau, Jean-Marc Hallouis, Pierre Aguirre, Frédéric Terrier, Anne Surget, Gaia Pegourie, Karine Meteau, et al.

► **To cite this version:**

Christine Burel, Michel Lessire, Herve Juin, Philippe Rousseau, Jean-Marc Hallouis, et al.. Feeding value of insect meals in trout and poultry: digestibility and effect on quality of products. Insectinov 2 - Production d'insectes: Alimentation - Applications - Nouvelles filières industrielles, Oct 2017, Romainville, France. 38 diapos. hal-02011382

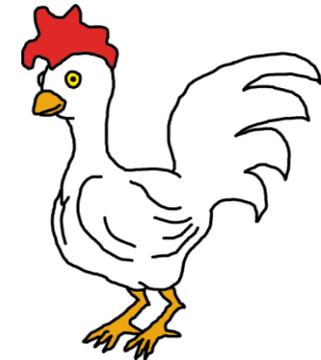
HAL Id: hal-02011382

<https://hal.science/hal-02011382v1>

Submitted on 5 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



FEEDING VALUE OF INSECT MEALS IN TROUT AND POULTRY: DIGESTIBILITY AND EFFECT ON QUALITY OF PRODUCTS

Burel C.¹, **Lessire M.**², Juin H.³, Rousseau P.³, Hallouis J-M.²,
Aguirre P.¹, Terrier F.¹, Surget A.¹, Pégourié G.¹, Méteau K.³,
Roy R.³, Médale F.¹

1 INRA, UMR 1419 Nutrition, Métabolisme, Aquaculture, INRA, F-64310 Saint Pée-sur-Nivelle, France

2 INRA, UR 0083 URA Recherches Avicoles. Centre de recherche Val de Loire, F-37380 Nouzilly, France.

3 INRA, UE 1206 EASM Unité Expérimentale Elevage Alternatif et Santé des Monogastriques. Centre de recherche de Poitou Charentes, F-17700 Saint-Pierre-D'Amilly, France.

AGENCE NATIONALE DE LA RECHERCHE
ANR

Desirable
i n s e c t b i o r e f i n e r y



adebiotech AgroParisTech

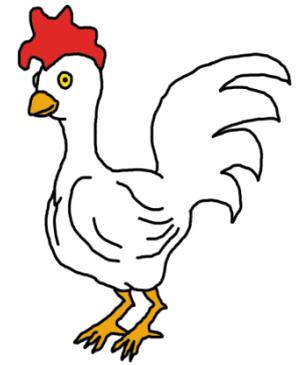
Insectinov2

10, 11 & 12 Octobre 2017

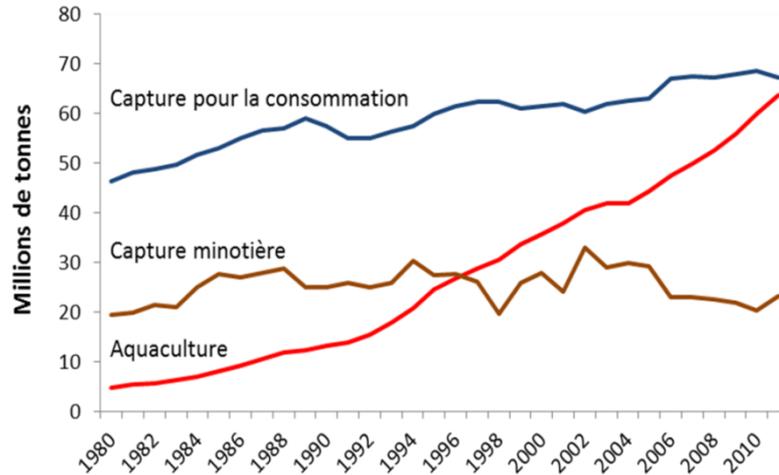
Biocitech Romainville-Grand Paris

 **INRA**
SCIENCE & IMPACT

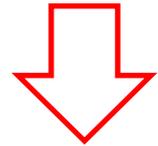
CONTEXTE



Captures de pêche et élevage de poissons



3 Mt soja



Croissance de l'aquaculture mondiale (+7%/an depuis 1980)

Augmentation de la demande en aliments aquacoles

Manque de farine et huile de poisson issues de pêche minotière

Déforestation

GMO

Volatilité prix



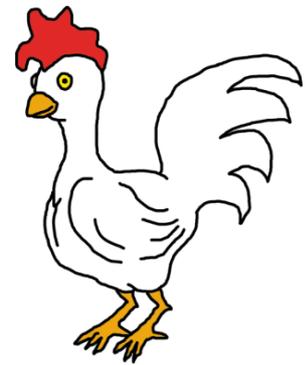
BESOIN DE NOUVELLES SOURCES PROTEIQUES

- Matières premières végétales? Oui mais compétition avec alimentation humaine pour les surfaces...

→ **Matières premières alternatives**



Objectifs



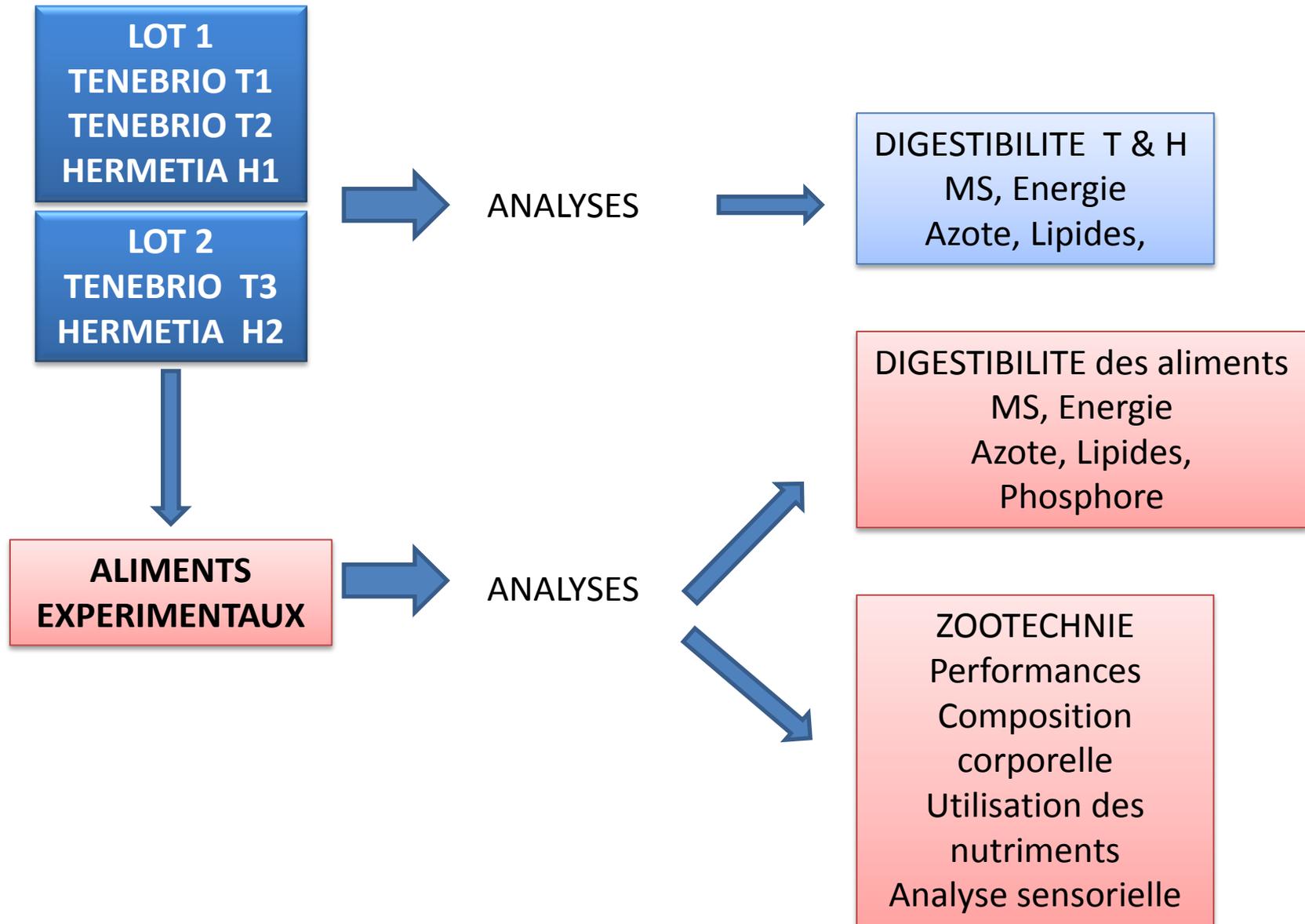
Potentiel d'incorporation des farines d'insectes dans l'alimentation des volailles et des poissons

2 étapes

- 1) Digestibilité des farines d'insectes
- 2) Effets sur la croissance et la qualité de la production d'aliments contenant des farines d'insectes



Déroulement des essais



Composition des farines d'insecte utilisées

	Farine de poisson	Ténébrion T1	Ténébrion T2	Ténébrion T3	Hermetia H1	Hermetia H2
Matière sèche (%)	92,8	96,3	94,6	92,0	91,5	93,6
Protéines (% MS)	73,0	73,9	75,4	72,1	61,3	57,7
Lipides (% MS)	11,4	9,6	7,0	10,6	15,9	14,4
Energie (kJ/g MS)	21,7	24,5	23,4	24,5	24,7	24,2
Cendres (% MS)	16,3	3,7	5,2	5,6	5,3	4,6
α -glucanes (% MS)	0,3	1,2	2,5	0,6	2,5	4,5
Phosphore (% MS)	2,1	0,9	1,2	1,1	1,1	0,8

- Compositions de T1 , T2 et T3 similaires : teneur en protéines similaire à celle de la farine de poisson.
- Teneur plus faible en protéines de H1 et H2
- Contenu énergétique brute élevé

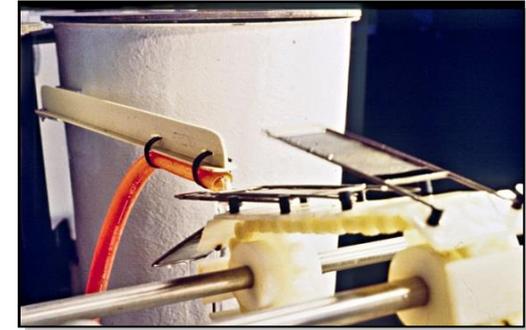


Bilan digestif chez la truite



POISSONS → Mesure indirecte avec marqueur indigestible

- Animaux = **truite arc-en-ciel 100 g** - 15 par bassin – 3 bassins/aliment
- Alimentation à *satiété*, 2 fois /jour
- Température 17°C
- Collecte des fèces en continu sur grille rotative après 1 semaine d'adaptation , durée de collecte: 4-6 semaines



Digestibilité des aliments et des farines d'insectes

- Un aliment de référence REF contenant de la farine de poisson et de l'huile de poisson, de l'amidon de blé pré-gélatinisé, du concentré soluble de poisson, du gluten de blé et des mélanges de vitamines et minéraux + 1% d'oxyde de chrome, marqueur indigestible
 - Les aliments TEST contenant 70% du mélange de référence et 30% de la farine d'insecte à tester
-
- Analyses des aliments et des fèces (matière sèche, énergie, protéines, lipides, phosphore)
 - Calcul des coefficients d'utilisation digestive (CUD) des composants des régimes
 - Calcul par différence des valeurs de CUD pour les farines d'insecte testées.

Digestibilité des farines d'insecte - Aliments



Formule des 5 aliments (1 aliment REF et 4 aliments TEST)

		REF	T1	T2	H1	H1*	T3	H2
	Aliment de référence (%)	100	70	70	70	70	70	70
Lot 1	Farine T1 (Ténébrion 1)		30					
	Farine T2 (Ténébrion 2)			30				
	Farine H1 (Hermétia 1)				30			
	Farine H1*(H1+Chitinase+Chitobiase)					30		
Lot 2	Farine T3 (Ténébrion 3)						30	
	Farine H2 (Hermétia 2)							30

*16,7 UN/kg de chitinase
8,3 UN/kg de chitobiase

Digestibilité des farines d'insecte

Résultats : CUD apparents (%)

LOT 1

Farines d'insecte	Matière sèche	Protéines	Energie
T1	84,0 c	89,9 c	87,2 d
T2	90,9 d	86,5 b	84,0 c
H1	77,3 a	83,0 a	53,9 a
H1*	78,7 b	82,9 a	81,2 b
Significativité	P<0,001	P<0,001	P<0,001

?????

- ➔ Farines de ténébrion plus digestibles que la farine d'herméti (énergie!) **T1 > T2 > H* > H**
- ➔ Amélioration de la digestibilité de l'énergie par ajout d'enzymes (⊃ chitine)

LOT 2

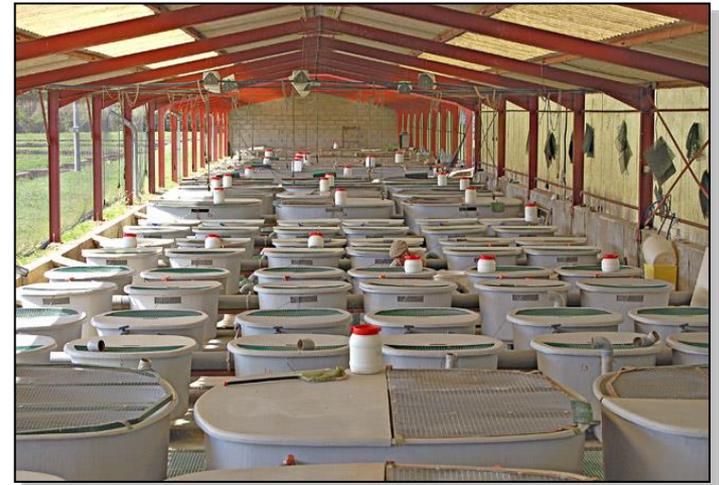
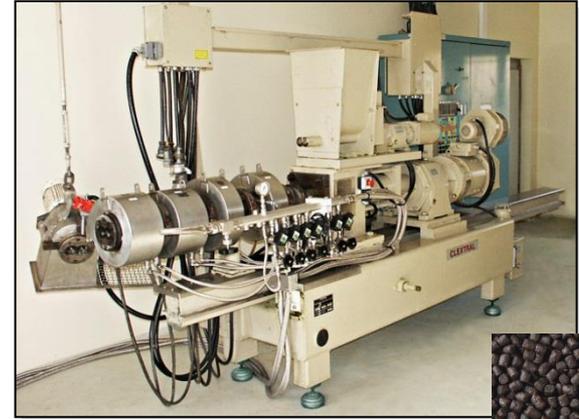
Farines d'insecte	Matière Sèche	Protéines	Energie
T3	91,5 b	80,2 a	88,6 b
H2	76,8 a	92,8 b	80,9 a
Significativité	P<0,001	P<0,001	P<0,001

- ➔ Farines de ténébrion plus digestibles que la farine d'herméti??? **T3 > H2 ?**
MS et énergie plus digestibles pour T3, mais protéines plus digestibles pour H2

Essai croissance & qualité chez la truite



- Incorporation de 15 ou 30% de T3 ou H2 comparé à un aliment témoin → 5 aliments extrudés
 - Truites arc-en-ciel 50g
 - Température : 17°C (INRA Donzacq)
 - 3 bassins/traitement alimentaire
 - Alimentation à satiété par distribution manuelle de l'aliment 2 fois/jour pendant 84 jours
-
- Enregistrement de mortalité, poids, consommation, indice conversion
 - Composition corporelle et bilans nutritionnels
 - Tests sensoriels



Formules des aliments expérimentaux

Matières premières	Témoin	T-15%	T-30%	H-15%	H-30%
Farine de poisson	30,0	15,0	0	15,0	0
Farine de ténébrion T3	0	15,0	30,0	0	0
Farine d'Hermetia H2	0	0	0	15,0	30,0
Blé entier	14,7	12,3	10,1	9,3	4,4
Gluten de blé	10,0	9,7	8,0	10,0	8,0
Tourteau de colza	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Tourteau de soja tracé	7,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Pois extrudé Primatex	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Concentré protéique de Soja Estril 75	2,9	2,0	2,0	2,0	2,0
CP de Pois Lysamine GP	4,0	4,0	2,0	4,0	3,7
Farine de lupin	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Gluten de maïs Inzo	0	0	4,4	3,3	10,0
Lécithine de soja poudre	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Huile de poisson	14,2	14,2	14,4	13,6	13,0
L-Lysine HCl	0	0	0,3	0	0,2
L-Méthionine	0	0	0,2	0	0,1
Dicalcium Phosphate	0	0,6	1,4	0,6	1,3
Premix Vitamines & Minéraux INRA	3,2	3,2	3,2	3,2	3,2

Aliments expérimentaux

~ iso-azotés (~ 45% Protéines)

~ iso-lipidiques (19,5 à 21%)

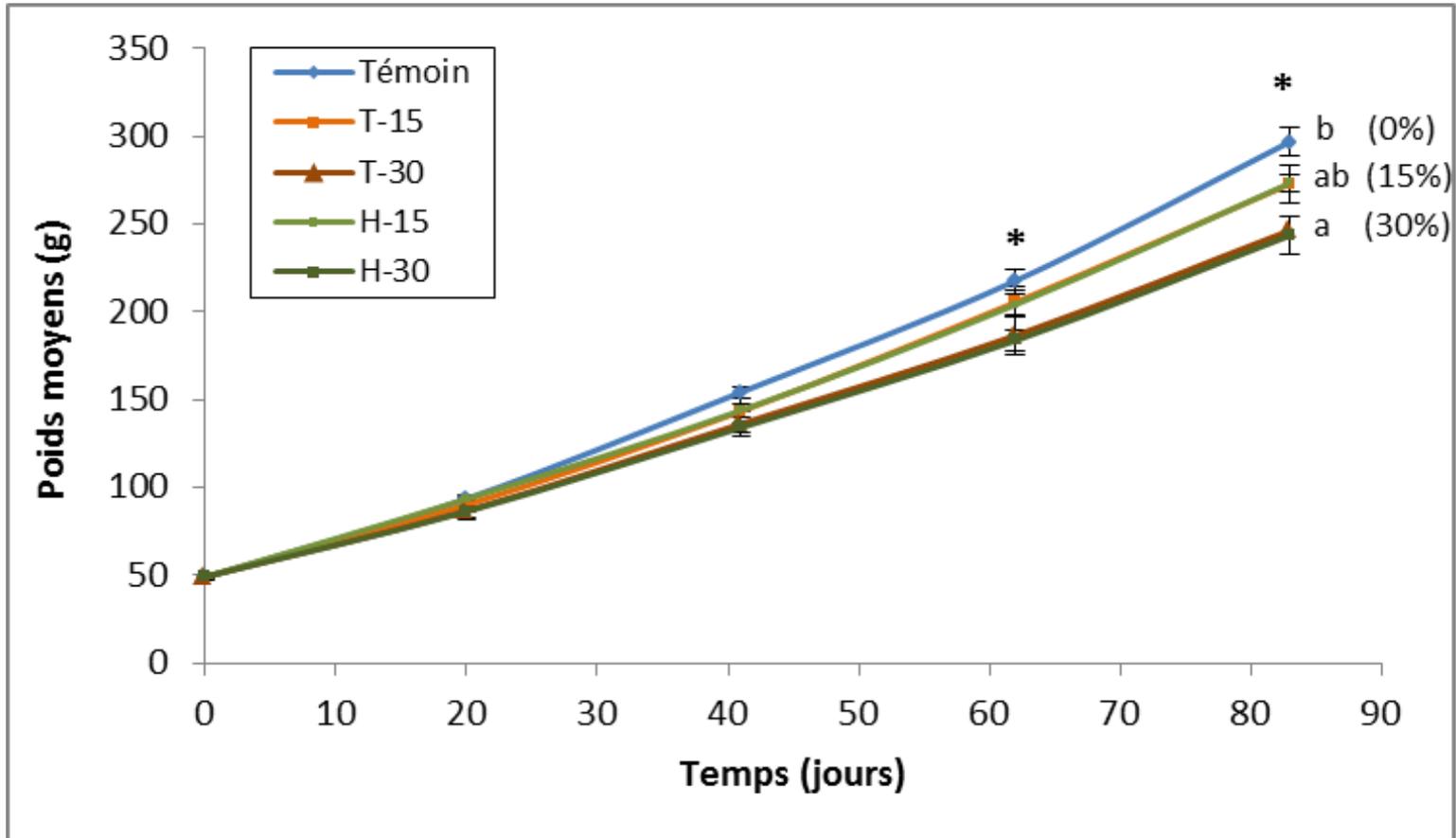
~ iso-énergétiques (24-25 kJ/g MS)



Composition théorique	Témoin	T-15%	T-30%	H-15%	H-30%
Matière sèche (%)	97,0	97,2	96,4	97,5	97,9
Protéines brutes (%)	44,5	45,0	45,3	45,2	45,8
Energie brute (kJ/g)	24,1	24,3	24,6	24,3	25,0
Lipides (%)	21,0	20,2	19,4	20,5	20,5
Amidon (α -glucanes) (%)	12,8	10,6	10,2	10,5	8,8
Cendres brutes (%)	8,5	7,4	6,3	7,3	6,2



Evolution des poids moyens individuels



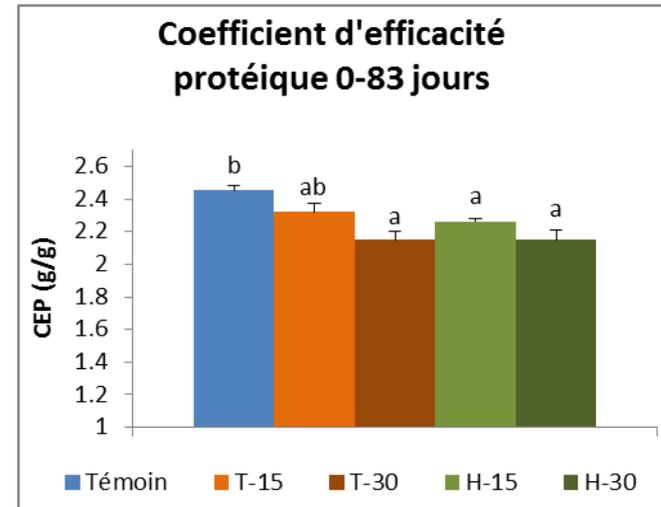
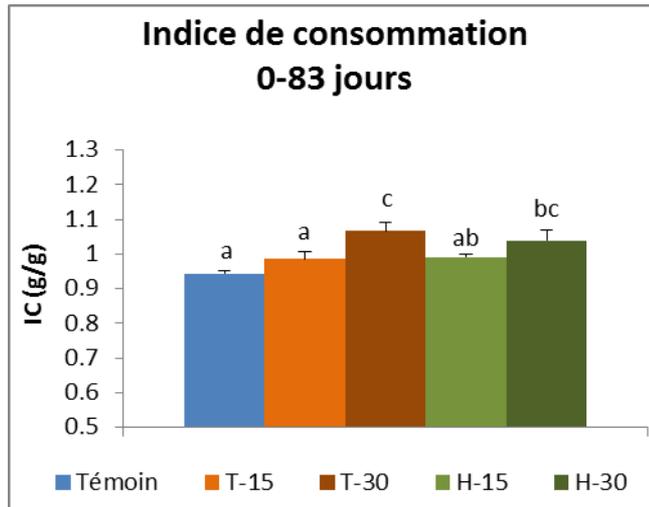
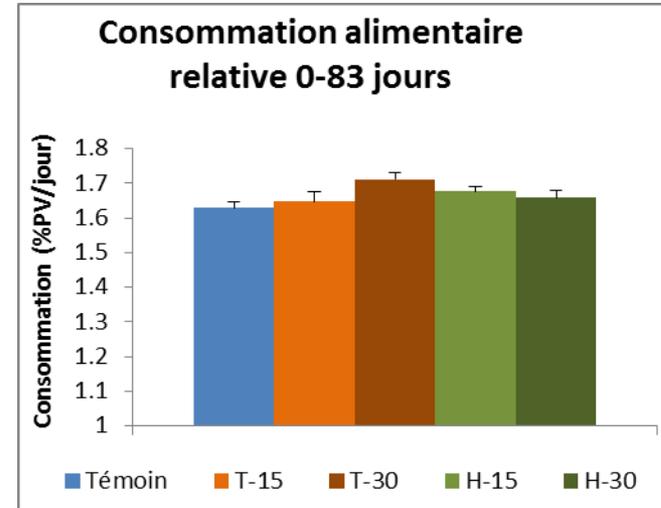
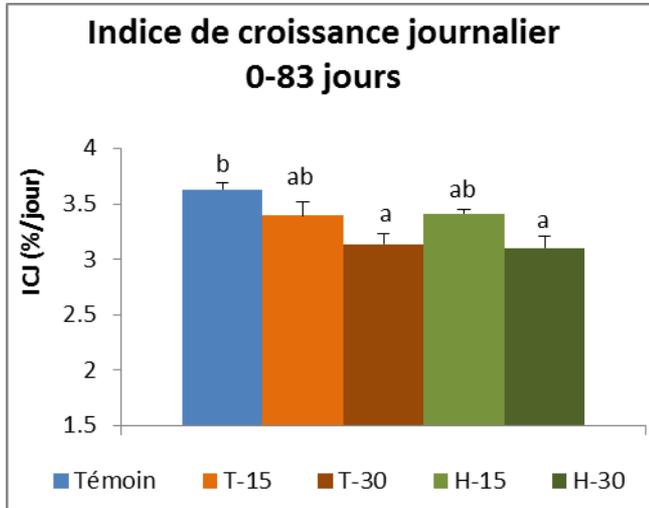
→ A 30% d'incorporation de T3 et H2 : poids moyens finaux significativement plus faibles
(la différence apparaît après 2 mois d'essai)

Digestibilité (%) des aliments expérimentaux

Aliments	Matière sèche	Protéines	Energie	Lipides	Amidon	Phosphore
Témoin	86,0 c	95,2 d	91,1 c	96,7	97,4 c	57,4 a
T-30	85,4 bc	93,6 b	89,7 b	96,7	93,8 a	72,7 c
H-15	84,7 b	94,3 c	89,8 b	96,4	96,0 b	65,8 b
H- 30	83,0 a	92,5 a	88,2 a	96,4	95,1 b	69,9 c
Significativité	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P=0,468	P<0,001	P<0,001

- ➔ Globalement, les composants de l'aliment témoin sont mieux digérés que ceux des aliments contenant les farines d'insecte sauf pour le phosphore (teneur en P plus faible dans les farines d'insecte ➔ moins il y en a, mieux il est digéré!)
- ➔ L'incorporation d'H2 au taux de 30% dans l'aliment impacte fortement la digestibilité de l'aliment comparé à T3

Croissance des truites et efficacité des alim



- ➔ A 30% d'incorporation de T3 et H2 : Croissance plus faible liée à une moins bonne efficacité alimentaire (protéines!), mais appétence de l'aliment non affectée.
- ➔ A 15% d'incorporation de T3 et H2 : tendances identiques mais non significatives.

Composition des carcasses

Composition	Moyenne	Erreur standard	<i>P</i>
Matière sèche (%MS)	33,2	0,2	0,230
Protéines brutes (%MS)	49,5	0,3	0,398
Energie brute (kJ/gMS)	29,0	0,1	0,549
Lipides (%MS)	43,0	0,3	0,411
Cendres brutes (%MS)	6,2	0,1	0,525
Phosphore (%MS)	1,13	0,03	0,296

Pas de différences significatives induites par les régimes alimentaires à l'issue des 84 jours d'essai

Coefficients de rétention des nutriments % de l'ingéré

	Protéines	Lipides	Energie	Phosphore
Témoin	41,7 b	78,4	46,1 b	32,6
T-15	38,7 ab	80,7	44,1 b	34,1
T-30	35,8 ab	81,5	41,2 ab	31,6
H-15	37,6 ab	78,8	43,1 ab	37,1
H-30	35,3 a	73,2	39,0 a	39,1
<i>P</i>	<i>0,005</i>	<i>0,308</i>	<i>0,014</i>	<i>0,088</i>

Impact négatif de l'incorporation de 30% d'H2 sur la rétention des protéines et de l'énergie (↗ pertes)

Couleur des filets



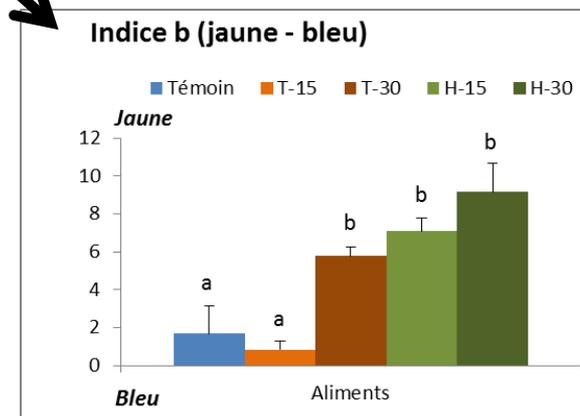
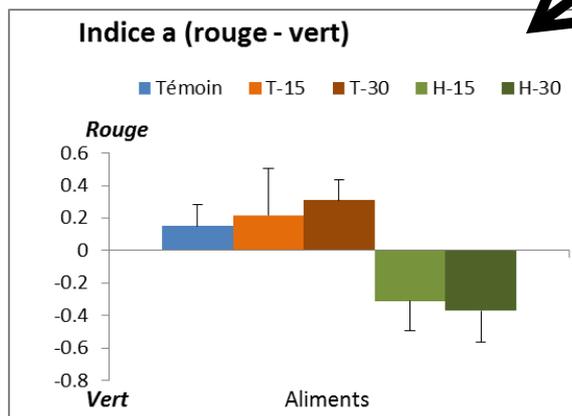
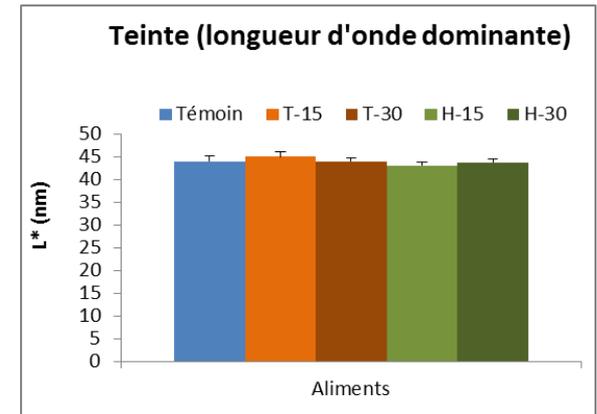
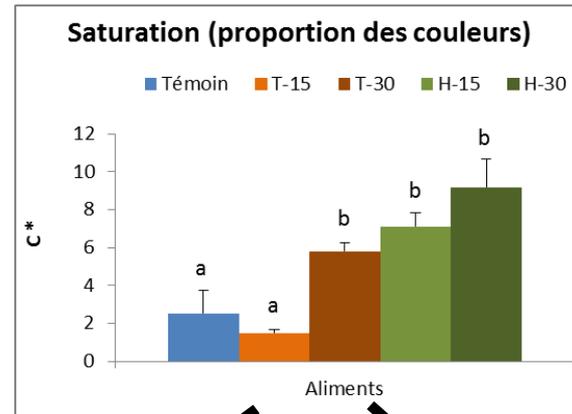
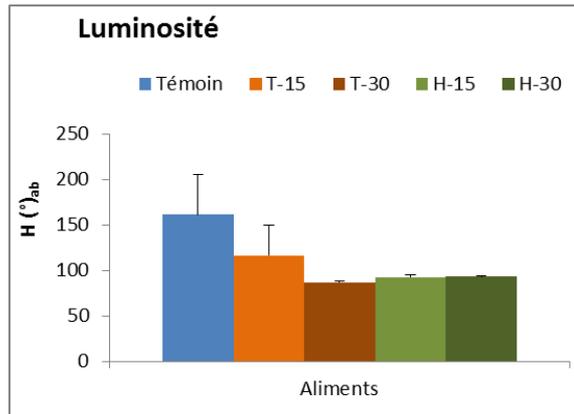
Témoin

T15

T30

H15

H30

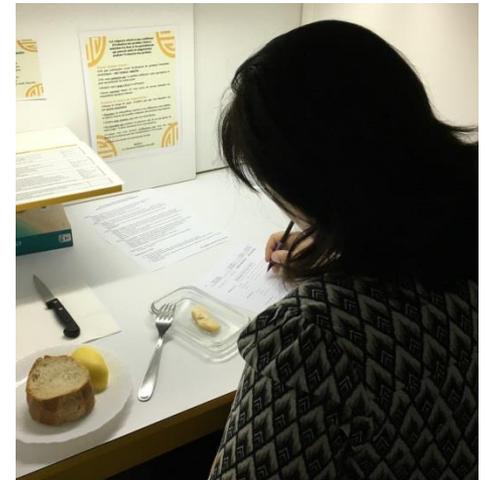


→ L'incorporation de farine d'insecte (Ténébrio à 30% et Hermétia au 2 taux d'incorporation) entraîne une modification de la couleur de la chair (notamment dominante jaune + forte)

Tests sensoriels

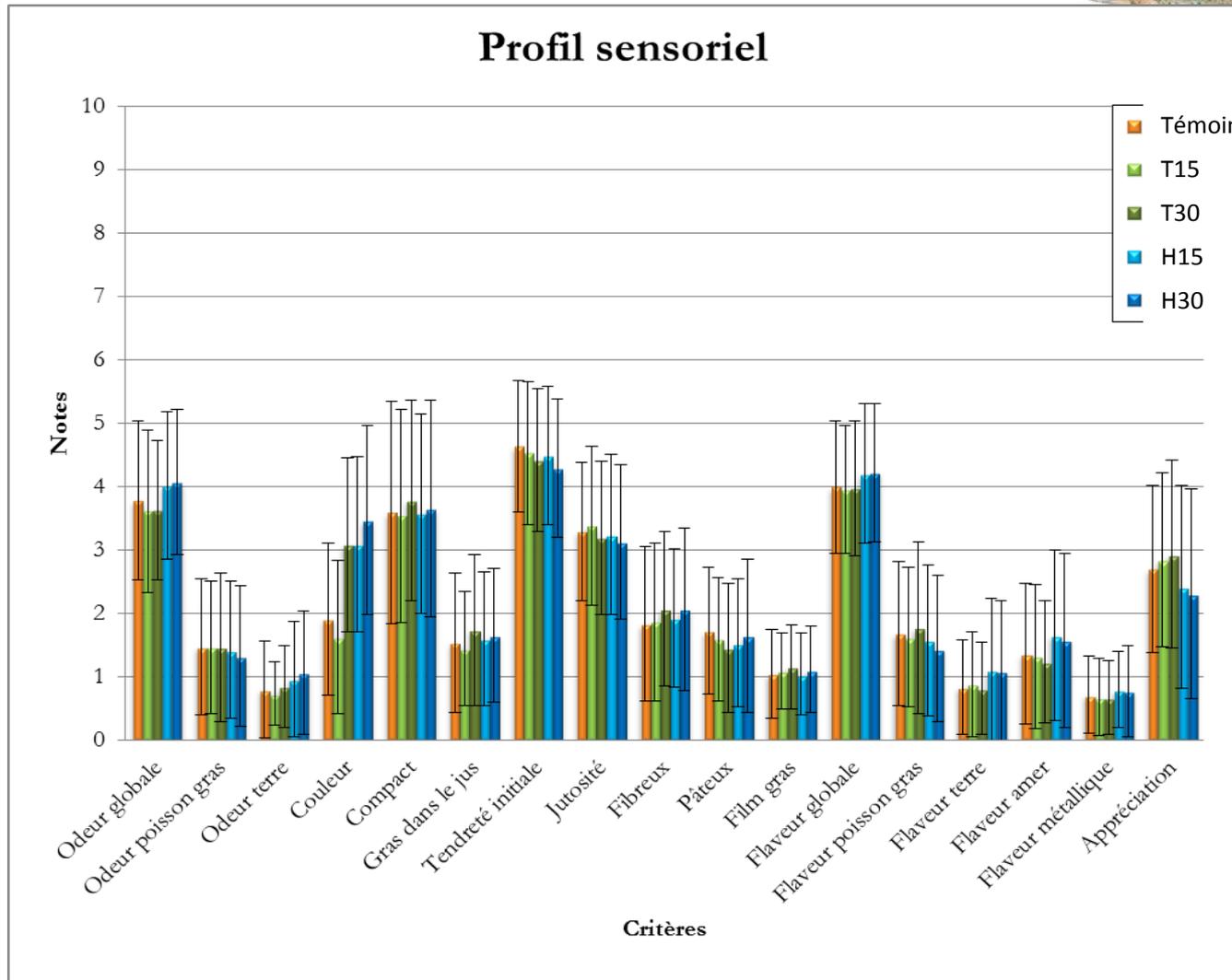


Séances de dégustation réalisées au laboratoire d'analyse sensorielle de l'INRA (Station du Magneraud)



Cuisson au micro-onde, dégustation dans des box individuels, jury de 12 personnes

Tests sensoriels



Le profil sensoriel des filets est déterminé grâce à un éventail de critères

Résultats des tests sensoriels

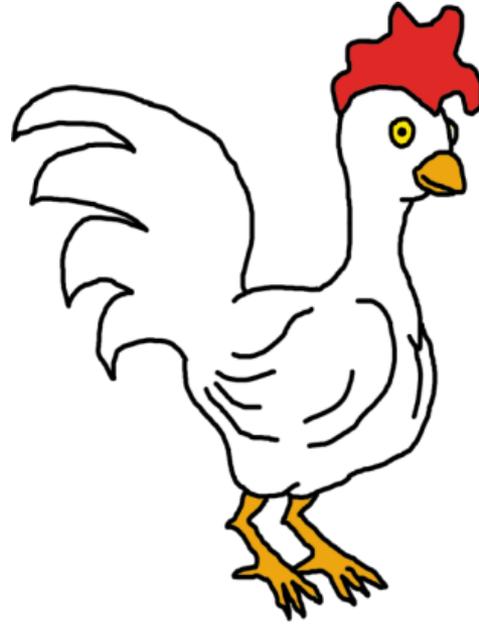


Critères ayant montré des différences significatives

Traitements	Témoins	T15	T30	H15	H30	Signification ANOVA
Odeur terre	0.80 (ab)	0.73 (a)	0.84 (ab)	0.96 (ab)	1.06 (b)	P<0.05
Couleur	1.91 (a)	1.62 (a)	3.08 (b)	3.09 (b)	3.47 (b)	P<0.001
Appréciation	2.70 (ab)	2.84 (ab)	2.93 (b)	2.41 (ab)	2.31 (a)	P<0.05

- Odeur de terre plus forte avec H30
- Couleur différente avec T30, H15 et H30
- H30: filets les moins appréciés
- T30: filets les plus appréciés (différence significative seulement par rapport à H30)

Chez le poulet



- 1) Digestibilité des farines d'insectes**
- 2) Effets sur la croissance et la qualité du poulet d'aliments contenant des farines d'insectes**

LOT 1
2 TENEBRIO
HERMETIA



ANALYSES



DIGESTIBILITE
Energie
Azote
Acides aminés
Acides gras

LOT 2

TENEBRIO
HERMETIA



ANALYSES



FORMULATION



ZOOTECHE
Performances
Rendements
Qualité

~~Analyse sensorielle~~

LOT 3

GRILLON
Vers BUFFALO
TENEBRIO
HERMETIA



ANALYSES



DIGESTIBILITE
Energie
Azote
Acides aminés
Acides gras

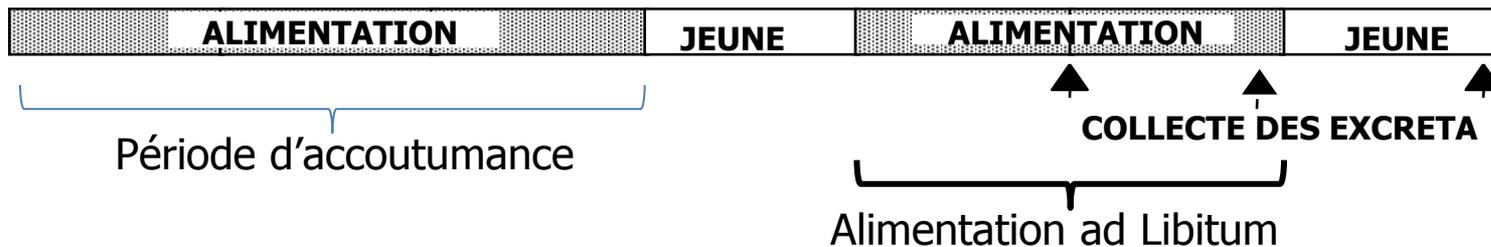


En cours



Bilan digestif (Lots 1) chez la volaille

- Animaux = **poulet en croissance 21 jours**
- Un aliment REF et aliments « test » contenant 12,5 et 25% des produits à tester
- ⚠ *Pas les mêmes lots de farines pour poissons et poulets*
- 10 animaux par aliment expérimental - 1/cage
- Alimentation ad libitum et collecte totale des excréta



- Lyophilisation des excréta, broyage et analyses
- Calcul de la digestibilité (énergie, azote, ac. aminés, ac. gras) pour tous les aliments
- Calcul par différence des valeurs pour les sources testées.

AA = 
AJINOMOTO ANIMAL NUTRITION GROUP
AJINOMOTO EUROLYSINE S.A.S.

➡ **Energie métabolisable, digestibilité N, acides aminés, acides gras**

Aliments expérimentaux (digestibilité)

Composition de l'aliment de référence (base)

Ingrédients	Taux d'incorporation (%)
MAIS	27.69
T. SOJA 50	27.5
BLE	40.47
HUILE DE SOJA	1.34

Formules des 7 aliments (1 aliment REF et 6 aliments TEST)

	REF	T1-12	T1-25	T2-12	T2-25	H-12	H-25
Aliment TEMOIN (%)	97	84,5	72	84,5	72	84,5	72
Farine T1 (Ténébrio 1)		12,5	25				
Farine T2 (Ténébrio 2)				12,5	25		
Farine H (Hermétia)						12,5	25
CMV	3	3	3	3	3	3	3

COMPOSITION DES FARINES

(Matière sèche)

N=9

PROTEINES	55-74%
LIPIDES	9-28%
EB	4920-6380KCal/kg
LYSINE	3,07-4,16%

Les extrêmes= Ténébrio

UNE TENEUR en ac. Laurique C12:0 qui peut atteindre 47% des acides gras

Les autres AG majoritaires sont :

-ac. Palmitique C16:0 (20%)

-ac. Oléique C18:1 (46%)

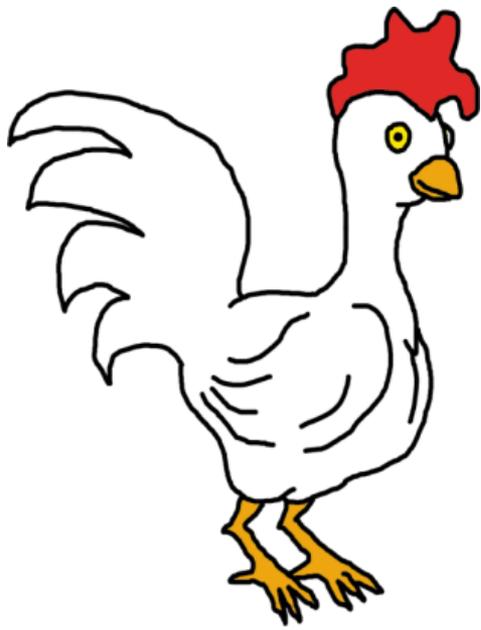
DIGESTIBILITE DES FARINES

ENERGIE METABOLISABLE: 3000 à 4800KCal/kg

DIGESTIBILITE N: 60 à 85%

Digestibilité Lysine (N=3): 87%

Digestibilité ac. Laurique C12:0=98%



- 1) Digestibilité des farines d'insectes
- 2) Effets sur la croissance et la qualité des poulets d'aliments contenant des farines d'insectes

Essai croissance & qualité chez la volaille

- Incorporation de 2 produits d'insectes à 2 doses (maxi selon PL et 1/2 maxi)
Aliment Témoin soja-céréale
- Alimentation des poulets de 1 à 36 jours (poids commercial)
- 3 X 20 poulets Males ROSS PM3 par traitement alimentaire



- Enregistrement de croissance, mortalité, consommation, indice de conversion tout au long de l'élevage
- Découpe anatomique pour mesure des rendements: carcasse, filet, cuisse+pilon, gras abdominal
- Composition en Acides Gras du dépôt lipidique abdominal



Mise à disposition des produits pour analyse sensorielle

Mais dégustation par jury de produits de volailles nourries avec farine d'insecte NON AUTORISÉE



**Taux d'incorporation des Farines dans les aliments (%)
(conditionné par formulation en programmation linéaire)**

		DEMARRAGE J11	CROISSANCE J22	FINITION J36
HERMETIA	Dose 1	5,3	5,96	5,6
	Dose 2	10,6	11,9	11,2
TENEBRIO	Dose 1	4,36	4,18	3,925
	Dose 2	8,72	8,36	7,85

COMPOSITION PARTIELLE DES ALIMENTS **DEMARRAGE**

Formulation faite en retenant la vraie composition des MP,
mais la digestibilité des lots précédents

G/kg	Témoin	Ténébrio dose2	Hermétia dose 2
Mais	498,8	590,3	574
T soja	417,2	266,4	270,6
Huile	42,9	12	10,3
Hermétia			106
Ténébrio		87,2	
EM Kcal/kg	2950	2950	2950
MAT g/kg	225	226	225
lysine dig. g/kg	12	12	12
AAS dig. g/kg	9	9	9

La proportion de T. Soja est diminuée de 36%

PERFORMANCES ZOOTECHNIQUES ET RENDEMENTS

Aliment	PV J10	PV J22	PV J36	IC Démarrage	IC croissance	IC finition	IC global
Témoin	285a	976a	2376b	1,05	1,309cd	1,526abc	1,407b
Hermétia % faible	286a	971a	2521a	1,082	1,296d	1,483c	1,388b
Hermétia % fort	293a	970a	2493a	1,035	1,350ab	1,520bc	1,418ab
Ténébrio % faible	272b	928b	2257c	1,117	1,334bc	1,576a	1,451a
Ténébrio % fort	268b	904b	2290c	1,093	1,371a	1,547ab	1,449a
				p=0,06			

Des Poids Vifs (PV) et Indices de consommation:

-de très bon niveau, améliorés avec Hermétia

-légèrement dégradés avec Ténébrio

Valeur EM formulation Hermétia: 3890Kcal/kg MS, EM réelle: 3783 soit un écart négligeable pour une incorporation de 12%max

Valeur EM formulation Ténébrio: 3860Kcal/kg MS, EM réelle:3069, soit un écart de 60Kcal qui se voit sur l'indice de consommation

En attente des digestibilité des acides aminés

RENDEMENTS et Etat d'Engraissement

Aliment	% gras abdominal	% filet	% cuisse
Témoin	1,691c	21,85a	23,49
Hermétia % faible	1,875b	21,82a	24,10
Hermétia % fort	2,063a	22,10a	23,74
Ténébrio % faible	1,797bc	21,03b	23,77
Ténébrio % fort	2,109a	21,01b	23,49

Des différences mineures

- Un % de gras abdominal augmenté avec les farines d'insectes et leur % incorporation
- un rendement en filet légèrement altéré

Qualité des Produits « poulets » après consommation des aliments « insectes »

pH ultime (24h après abattage) du filet

Couleur: Système L a* b*, L=luminance, a*= indice de rouge, b*=indice de jaune

Perte en jus du filet: décongélation, cuisson, pesée

Résistance au cisaillement (Instron): « tendreté »

Profil en acides gras du gras abdominal

QUALITE DES PRODUITS

Aliment	FILET						Acides Gras du Gras abdominal			
	Perte en jus	Résistance	L*	a*	b*	pHu	C12:0	C18:1	C18:2	C18:3
Témoin	15,4bc	14,1b	55,7	0,12	10,3	5,90ab	0	36,00	32,30	2,50
Hermétia % faible	15,6b	14,0b	55,8	0,60	10,1	5,91b	1,91	37,50	25,00	1,90
Hermétia % fort	13,4c	11,7c	54,7	0,47	9,7	6,08d	3,69	38,40	18,30	1,20
Ténébrio % faible	18,8a	15,6a	56,1	0,32	11,1	5,84a	0	38,10	26,10	2,00
Ténébrio % fort	16,5b	14,3ab	55,5	0,13	10,7	5,99c	0	39,70	22,80	1,50

Une perte en eau qui diminue avec le % d'incorporation de farine

Une résistance qui diminue

Mais un pHu qui augmente (résultats cohérents avec données antérieures viandes cuites)

Un profil en AG qui est modifié par le profil en AG de la farine

CONCLUSIONS « POISSONS »



- Bonne digestibilité des farines de Ténébrio



- Digestibilité plus faible de la farine d'Hermétia (surtout énergie pour H1!) ? → teneur plus forte en chitine? Meilleurs résultats avec H2, mais reste < Tenebrio.



- Pas d'impact négatif de l'incorporation de farine d'insecte sur l'ingestion d'aliment suggérant une absence d'effet sur la palatabilité de l'aliment même à 30% d'incorporation



- Pas d'effet significatif sur les performances de croissance à 15% d'incorporation après de 2 mois



- Réduction des performances de croissance à 30% d'incorporation → Moins bonne efficacité alimentaire (IC et CEP)



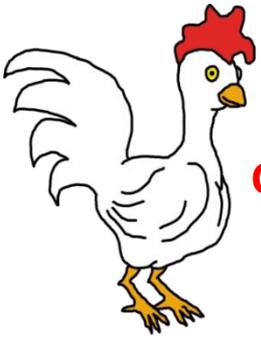
- Pas d'effet significatif sur la composition des carcasses, mais rétention plus faible des protéines et de l'énergie avec les farines d'insecte (surtout herméti) lié à des pertes plus élevées



- Coloration de la chair en jaune, surtout avec Hermétia (dès 15%)



- Hermetia affecte négativement l'appréciation sensorielle par les consommateurs des filets de truite (odeur de terre)



CONCLUSIONS « POULETS »

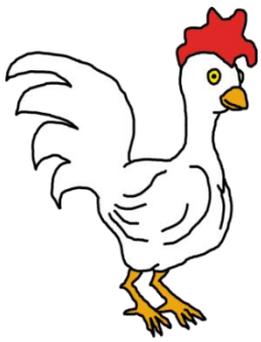
COMPOSITION ET DIGESTIBILITE

Une composition très variable, même pour un **même** type d'insecte
Quelle est l'origine de la teneur élevée en ac. Laurique?

Une digestibilité très variable, mais d'une manière générale élevée
-fonction de la teneur en lipides résiduels pour l'énergie métabolisable
-les acides gras sont très digestibles
-une fraction azotée très digestible, au moins égale à celle du T. de soja
(quid des traitements thermiques actuels ou futurs?)

EFFICACITE et QUALITE DES PRODUITS

Des performances de très bon niveau, avec des modifications de rendement et de composition mineures, sans doute à relier aux différences de qualité des farines Ténébrio et Hermétia utilisées.



Conclusions générales

- Les farines d'insectes testées ont pour caractéristiques principales d'être très riches en protéines, avec une variabilité attribuable à l'insecte utilisé et au procédé de préparation, avec ou sans extraction des lipides.
- Leur digestibilité est élevée, au moins égale à celle du soja de référence pour les volailles et égale à celle de la farine de poisson pour Ténébrio chez la truite.
- Leur incorporation à des taux modérés ($\leq 15\%$ chez la truite) dans les rations alimentaires ne conduit pas à des altérations notables, ni des performances de production, ni des rendements de découpe, ni de la qualité des produits.
- Un taux d'incorporation plus élevé (30%) mais peut affecter la perception sensorielle dans le cas des filets de truites.
- On notera quelques points de vigilance relatifs à une moindre efficacité de Ténébrio chez le poulet et d'Hermétia chez le poisson.