

Bazkatze estentsiboaren eta edoskitzaroaren eragina behor-esnearen kalitate nutrizionalean

(Effect of grazing and lactation stage on mare milk nutritional quality)

Ana Blanco-Doval^{*1,2}, Luis Javier R. Barron¹,
María Ángeles Bustamante¹, Noelia Aldai¹

¹ Laktiker ikerketa-taldea, Elikagaien Teknologia Arloa, Farmazia Fakultatea, EHU, Unibertsitateko Ibilbidea 7, 01006 Gasteiz, Araba

² Esnearen eta Mikroorganismoen Biokimika ikerketa-taldea, Metodoen Garapena eta Analisiak Departamentua, Agroscope, Schwarzenburgstrasse 161, 3097 Berna, Suitza

LABURPENA: Behor-esnari ezaugarri osasunarriak egotzen zaizkio Asian zein Europan, baina oraindik ez da haren osaera kimikoa guztiz ezagutzen. Beste animalia-espezieren esnea aztertu denean ikusi denez, esnearen kalitatea hainbat ekoizpen-faktoreen menpe dago. Tamalez, behor-esnearen kalitatea aztertu duten ikerketek sarritan ez dute haien eragina kontuan hartu. Hori dela eta, maneiu-sistemak eta edoskitzaroak behor-esnearen kalitatean daukaten eragina aztertzea izan zen ikerketa honen helburua. Horretarako, hiru abeltegitarako hemezortzi behorren esne-laginak jaso ziren edoskitzaro osoan zehar (sei hilabete). Abeltegien arteko ezberdintasun nagusia haien maneiu-sistema zen: lehenengoan, larratze-denbora motza zen; bigarrenean, larratze-denbora luzea zen, eta bazka belar onduarekin osatzen zen; eta hirugarrenean, larratze-denbora luzea zen, baina belar siloratuarekin osatzen zen bazka. Laginen osaera orokorra eta mineralen, bitaminen, gantz azidoen eta polifenol totalen edukia aztertu zen teknika analitiko aurreratuak erabiliz. Esnearen ahalmen antioxidatzailea ere aztertu zen. Datuen analisi estatistikorako pausoen bidezko analisi diskriminatzailea erabili zen. Bai maneiu-sistemak, bai edoskitzaroak eragina izan zuten behor-esnearen kalitate nutrizionalean. Oro har, maneiu-sistemak esnearen gantz azidoen profila aldatu zuten, eta larratze-denbora luzea gantz azido onuragarrien (omega-3 poliasagabeen) edukia altuagoa izatearekin erlaziozatu zen batez ere. Bestalde, edoskitzaroaren amaieran batez ere mineralen, gantz azidoen, proteina totalaren eta bitamina batzuen edukia murriztu zen. Lortutako emaitzen arabera, edoskitzaroaren hasiera-erdialdeko esnea eta larreetan bazkatu zuten behorrena izan ziren kalitate nutrizional handienekoak.

GAKO-HITZAK: ekido, larratzea, Euskal Herriko mendiko zaldia, esnearen kalitatea.

ABSTRACT: In Asia and Europe, a number of beneficial properties are attributed to mare milk. However, mare milk chemical composition is not fully understood yet. As observed in milk from other mammal species, chemical composition can be affected by different production factors. Unfortunately, studies on mare milk composition often fail to consider the effect of these factors. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of lactation stage and management system on the nutritional quality of mare milk. Milk samples were collected from eighteen individual mares belonging to three different farms during the complete lactation period (six months). The main difference among farms was the management system: the first one used a short grazing period, the second one used a long grazing period and completed animal diet with hay, and the third one used a long grazing period and silage. Milk samples were analysed for gross composition, mineral elements, vitamins, fatty acids, total polyphenols and antioxidant capacity, using advanced analytical methods. Statistical analysis was done using a stepwise discriminant analysis. Both lactation stage and management system affected mare milk nutritional quality. Overall, the management system mainly determined the fatty acid profile of the milk, being milk samples from mares that grazed for a longer period richer in beneficial (omega-3 polyunsaturated) fatty acids. On the other hand, the content of some compounds, especially mineral elements, fatty acids, total protein and some vitamins, decreased at late lactation. According to these results, the highest nutritional quality belonged to mare milk from early-mid lactation stages and to that milked from mares on a long grazing period.

KEYWORDS: Equid, pasture, Basque Mountain Horse, milk quality.

*** Harremanetan jartzeko/Corresponding author:** Ana Blanco Doval, Esnearen eta Mikroorganismoen Biokimika ikerketa-taldea, Metodoen Garapena eta Analisiak Departamentua, Agroscope (Liebefeld) (3003 Berna-Suitza).  <https://orcid.org/0000-0001-8754-8578>, ana.blancodova@agroscope.admin.ch

Nola aipatu/How to cite: Blanco-Doval, Ana; Barron, Luis Javier R.; Bustamante, María Ángeles; Aldai, Noelia (2026). «Bazkatze estentsiboaren eta edoskitzaroaren eragina behor-esnearen kalitate nutrizionalean», *Ekaia*, 49, 2026, DOI: <https://doi.org/10.1387/ekaia.27147>

Jasoa: abenduak 03, 2025; Onartua: urriak 27, 2026

ISSN 0214-9001-eISSN 2444-3225 / © UPV/EHU Press



Lan hau Creative Commons Aitortu-EzKomertziala-PartekatuBerdin 4.0 Nazioartekoa lizentzia baten mende dago

1. SARRERA

Behor-esnea elikagai tradizionala da Erdialdeko Asian [1]. Bertan, behor-esne hartzitua (*kumis*) edaten dute, ez nutrienteen iturri izateagatik bakarrik, baizik eta hainbat ezaugarri funtzional esleitzen zaizkiolako. Asiako herrialde horietan, behor-esnea eta *kumis*-a hainbat gaixotasun sendatzeko erabili izan da, hala nola tuberkulosia, hepatitis, ultzera peptikoak edota bihotzerrea [2, 3]. Hala ere, behor-esnearen onurak esperientzian eta tradizioan oinarritzen dira, eta ez dago horiek babesten dituen ebidentzia zientifiko sendorik. Alde batetik, kontuan izan behar da elikagaiak inoiz ezin direla gaixotasunen aurkako tratamendu gisa erabili (medikamentu moduan) eta, kasurik onenean, prebentziorako baino ezin direla balioztatu. Bestalde, behor-esnari buruzko ikerketa zientifikoak eskasak dira (beste espezieetako esneekin alderatuta). Ikerketa gutxi batzuek behor-esnearen ahalmen antioxidatzailea, antihipertentsiboa [4] eta antidiabetikoa [5] frogatu dituzte, baina ikerketa gehiago behar da behor-esnearen osaera, konposatu bioaktiboen edukia eta horien metabolismo-bideak hobeto ulertzeko.

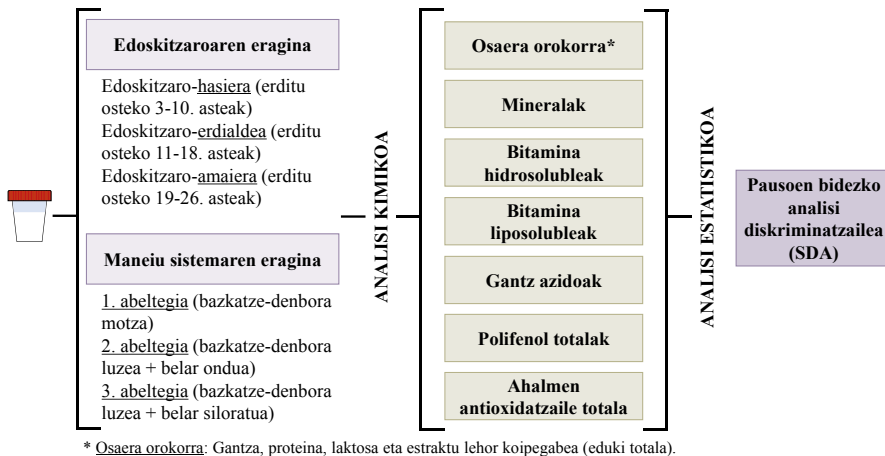
Behor-esnearen osaera hobeto ezagutzeaz harago, bere kalitatean eragin dezaketen faktoreak identifikatu eta ulertzea ezinbestekoa da. Izan ere, aspaldi dakigu animaliaaren arrazak, adinak, erditze kopuruak, edoskitzaroak eta elikadurak, besteak beste, eragina daukatela hausnarkarien esnearen konposizioan [6]. Era berean, aldaketa esanguratsuak ikusi dira bazkatzen duten eta bazkatzen ez duten behien esnearen kalitatean. Esaterako, behien maneiurik estentsiboak esnearen gantz azido onuragarrien edukia handiagotzen du, hau da, gantz azido asegabeena (batez ere poliasegabeak) [7].

Edoskitzaroak eta behorren elikadurak esnean daukaten eragina gutxi ikertu bada ere, faktore horiek esnearen kalitate nutrizionala alda dezaketela frogatu da. Orokorrean, edoskitzaroak aurrera egin ahala behor-esnearen gantz eta proteina kantitatea murrizten da; laktosarena, ordea, handitu egiten da [8]. Halaber, aldaketak ikusi dira gantz azidoen [9] edota elementu mineralen [10] profilean edoskitzaroan zehar. Behorren maneiuari dagokionez, Deng *et al.*ek frogatu zuten larreetan bazkatu zuten behorren esnea aberatsagoa zela gantz azido poliasegabeetan eta lipidoen digestio eta absortzioarekin erlazionatutako bide metabolikoetan parte hartzen duten lipidoetan [11]. Hala ere, gaur egun ez da erabat ezagutzen behorren maneiurik estentsiboak esnearen osaeran duen eragina.

Gure laborategian egindako azken ikerketetan frogatu dugunez, edoskitzaroak eta behorren bazkatzeak eragin esanguratsua daukate esnearen konposaketan. Edoskitzaroak aurrera egin ahala konposatu indibidual gehienek edukia murrizten da. Gainera, bazkatze-denbora luzeagoa izateak behor-esnearen osaera era esanguratsuan aldatzen du [12, 13, 14, 15]. Bai edoskitzaroaren, bai bazkatzearen eragina modu sakonean ulertze aldera, ikerketa

horietan banakako konposatuen aldaketak aztertu ziren. Orain, ikerlan honetan, analizatutako konposatu (aldagai) guztiak hartu dira kontuan esnearen kalitate nutrizional orokorrean gertatzen diren aldaketak eta euren arteko erlazioa hobeto ulertzeko.

Hortaz, ikerketa honen helburua maneiui-sistemak eta edoskitzaroak behor-esnearen kalitate nutrizionalean duten eragina aztertzea da, aldagai anitzeko analisi estatistikoa erabiliz. Ikerketaren nondik norakoa 1. irudian laburbildu da.



1. irudia. Ikerketaren laburpen eskematikoa.

2. MATERIALAK ETA METODOAK

2.1. Laginak

Esne-laginak Arabako hiru abeltzgi komertzialetatik jaso ziren: bat Bu-ruagakoa, eta beste biak Azazetakoak. Abeltzgi bakoitzean sei behor jetzi ziren maiatzetik urrira, guztiak Euskal Herriko mendiko zaldi arrazakoak: asteen behin jetzi ziren maiatzetik uztailean, eta bi asteen behin abuztu-tik urrira. Jezte bakoitzean, behorrek emandako esne guztia jaso zen. Esne ekoizpena ez zen nabarmen aldatu edoskitzaroan zehar. Guztira, 311 lagin jaso ziren. Banakako esne-laginak gelezko hotz metagailuekin hoztutako hozkailu eramangarrietan eraman ziren abeltzietatik laborategira (temperatura ez zen neurtu). Behin laborategian, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -tan izoztu ziren.

Hiru abeltzgiek maneiu-sistema ezberdina erabili zuten, eta horien arteko ezberdintasun nagusia behorren elikadura izan zen. Hain zuzen, lehenengo abeltzgi (1. abeltzgia) behorrek maiatzean baino ez zuten larree-

tan bazkatu. Horren ostean, alpapa, belar ondua, belar siloratua, fruta eta patata jan zuten. Bigarren eta hirugarren abeltegietako behorrek, aldiz, larreetan bazkatu zuten edoskitzaro osoan zehar, baina belar-urritasuna zela eta, belar onduarekin (2. abeltegia) edo belar siloratuarekin (3. abeltegia) osatu zuten behorren dieta uztailetik aurrera. Laginketaren deskribapen sakonagoa Blanco-Doval *et al.* en ikus daiteke [12].

2.2. Analisi kimikoa

2.2.1. Osaera orokorra

Esne-laginen osaera orokorra, hau da, gantz, proteina, laktosa eta es-traktu lehor koipegabe eduki osoa aztertu zen Lenkunberriko Esnekari Era-kundean (Lekunberri, Nafarroa), zeinek Akreditazioen Erakunde Nazio-nalaren (ENAC) akreditazioa baitauka (174/LE381). Analisia infragorri hurbilaren espektroskopia bitartez egin zen, laborategian bertan garatu eta balioetsitako metodo analitikoa (PE/ALVO/02) erabiliz.

2.2.2. Mineralak

Esnearen mineralen osaera aztertzeko, lehenik laginen digestio azi-doa egin zen. Horretarako, $0,20 \pm 0,01$ g esne, 5 mL azido nitriko (% 65, b/b) eta 1 mL hidrogeno peroxido (% 30-32, b/b) nahastu ziren. Digestioa mikrouhinekin lagundutako digestore batean (Berghof Products + Instru-ments, Berlin, Alemania) eta 190 °C-ko gehieneko tenperaturan egin zen. Digeritutako laginak indukzioz akoplatutako plasma-masazko espektrome-tria bidez (ICP-MS; Agilent Technologies, Santa Clara, AEB) analizatu zi-ren. Kuantifikaziorako rodioa erabili zen barne-estandar moduan, eta sodio (Na), magnesio (Mg), potasio (K), kaltzio (Ca), fosforo (P), sofre (S), man-ganeso (Mn), burdin (Fe), kobre (Cu) eta zink (Zn) estandarrak erabili zi-ren kalibrazio-kurbak eraikitzeko. Determinazio-koefiziente guztiak 0,994 baino handiagoak izan ziren [12]. Mineralen analisia EHUKo Ikerkuntza-rako Zerbitzu Orokorrean (SGIker) egin zen.

2.2.3. Bitamina hidrosolubleak

Bitamina hidrosolubleen artean tiamina (B_1 bitamina), erribofla-bina (B_2 bitamina), azido nikotinikoa eta niazinamida (B_3 bitamina), azido pantotenikoa (B_5 bitamina), piridoxala eta piridoxina (B_6 bitamina), azido folikoa (B_9 bitamina), zianokobalamina (B_{12} bitamina) eta azido askorbikoa (C bitamina) aztertu ziren. Esnearen bitaminak erauzteko, $5,0000 \pm 0,0001$ g esne 750 μ L hauspeatze-disoluzio batekin (91 g/L zink azetato dihidrato, 55 g/L azido tungstofosforiko hidrato eta % 5,8 [b/b] azido azetiko glazial uretan; Millipore, Merck, Darmstadt, Alemania)

nahastu ziren. Nahasketa 15 minutuz ilunpean utzi ondoren zentrifugatu zen (3.500 g, 20 °C, 5 min; SORVALL ST 16R, Thermo Fisher Scientific, Waltham, AEB). Gainjalkina nylonezko filtroetan zehar (OlimPeak 0,2 µm poro tamaina; Teknokroma, Bartzelona, Espainia) iragazi zen [16].

Analisia egiteko, fluoreszentzia (2475 modelo) eta diodo-hedapen (2998 modelo) bidezko detektagailuei akoplatutako likido kromatografoa (2695 modelo) (HPLC-FLD-DAD; Waters, Mildford, AEB) eta C18 Spherisorb ODS-2 zutabea (25 cm × 4,6 mm, 3 µm poro tamaina; Waters) erabili ziren [16]. Kuantifikazioa konposatu puruekin eraikitako kalibrazio-kurben bitartez egin zen, eta determinazio-koefiziente guztiak 0,999 baino handiagoak izan ziren, erriboflabinarena izan ezik (0,957).

2.2.4. Bitamina liposolubleak

Bitamina liposolubleen artean bederatzi tokol (α-tokoferol azetatoa, α-, β-, γ- eta δ-tokoferola, eta α-, β-, γ- eta δ-tokotrienola) eta lau erretinoide (erretinil azetatoa, erretinil propionatoa, erretinil palmitatoa eta erretinola) aztertu ziren. Bitamina liposolubleen erauzketa etanolarekin, hexano/etil azetatoarekin (90/10, b/b), urarekin eta dietil eterrarekin egin zen, hiru faseetan. Zentrifugazioaren bidez (4 °C, 10 min, 2.900 g lehenengo eta bigarren faseak; 4 °C, 5 min, 300 g hirugarren fasea; SORVALL RC 5B Plus, Thermo Fisher Scientific) gainjalkin organikoa jaso eta nitrogeno flu-xupean lurrundu zen, eta erauzitako konposatuak 1,5 mL hexano/isopropo-lean (99/1, b/b) birdisolbatu ziren [17].

Erauzkina aztertu zen fluoreszentzia bidezko detektagailu bati (1260 Spectra modelo; Agilent Technologies) akoplatutako likido kromatografoa (1260 modelo; Agilent Technologies) eta Luna Silica zutabe bat (100 × 3 mm, 3 µm poro tamaina; Phenomenex, Torrance, AEB) erabiliz [17]. Kuantifikazioa konposatu puruekin eraikitako kalibrazio-kurben bitartez egin zen, eta determinazio-koefiziente guztiak 0,996 baino handiagoak ziren. Bitamina liposolubleen analisia EHUKo Ikerkuntzarako Zerbitzu Orokorrean (SGIker) egin zen.

2.2.5. Gantz azidoak

Gantza esnetik erauzteko, Luna *et al.* en zentrifugazio bikoitzaren metodoa erabili zen [18]. Lehenengo zentrifugazioarekin (1.000 g, 4 °C, 20 min.; SORVALL RC 5B Plus, Thermo Fisher Scientific) esnegaina banandu zen, eta bigarren zentrifugazioarekin (22.000 g, 20 °C, 30 min.; SORVALL ST 16R, Thermo Fisher Scientific) gantza esnegainetik erauzi zen.

Ondoren, sodio metoxidoa metanolean (0,5 N) erabili zen erauzitako gantz azidoen deribatizazio basikoa egiteko [19, 20]. Metilatutako gantz azidoen analisiaugar ionizazioko detekzioari akoplatutako gas kromato-

grafiaren bitartez egin zen (GC-FID; 7890A modeloa, Agilent Technologies). Konposatuen banaketa Supelco SP2560 zutabe kapilarrekin egin zen (100 m × 0,25 mm barne-diametroa; Merck), Kramer *et al.* en gradiente-programari jarraituz [21]. Kuantifikaziorako bi barne-estandar (13:0 eta 23:0 gantz azidoak) eta hainbat gantz azidoren estandarrekin egindako kalibrazio-kurbak erabili ziren [13].

2.2.6. *Polifenol totalak*

Esnearen polifenol totalen analisisa Vázquez *et al.* en metodoaren bidez egin zen [22]. Horretarako, $8,0000 \pm 0,0001$ g esne 500 µL Carrez I disoluzioarekin, 500 µL Carrez II disoluzioarekin eta 5 mL azetonitrilorekin nahastu ziren. Nahasketa 25 minutuz utzi zen, eta hauspeatutako frakzioa zentrifugazio bitartez (4.700 g, 15 min, giro tenperaturan; SORVALL ST 16R, Thermo Fisher Scientific) banandu zen.

Gainjalkina Folin-Ciocalteu (2 N) erraktiboarekin erreakzionarazi zen 90 minutuz, giro tenperaturan eta ilunpean. Ondoren, absorbantzia espektrofotometria bidez (Cary 50 Bio UV/VIS, Varian, Agilent Technologies) neurtu zen, 750 nm-an. Kuantifikazioa azido galikoarekin egindako kalibrazio-kurben bitartez egin zen. Kurba guztietan 0,9995 baino determinazio-koefiziente handiagoak lortu ziren.

2.2.7. *Ahalmen antioxidatzaile osoa*

Esnearen ahalmen antioxidatzailea aztertzeko, 2,2'-azino-bis(azido-3-etilbenzotiazolin-6-sulfonikoa) (ABTS) metodoa erabili zen [23]. ABTS⁺ disoluzioa prestatzeko 7 mM ABTS eta 2,45 mM potasio persulfatozko ur-disoluzio bat 12-16 orduz oxidatu zen, ilunpean eta giro tenperaturan. Ondoren, disoluzioa gatz fosfatozko tanpoi (PBS; pH 7,4, 5 mM) batean diluitu zen 734 nm-an $0,70 \pm 0,02$ ko absorbantzia lortu arte (Cary 50 Bio UV/VIS, Varian, Agilent Technologies).

Behor-esnearen ahalmen antioxidatzailea aztertzeko, esne-laginak PBSn diluitu ziren (1/20), eta hau ABTS⁺ disoluzioarekin erreakzionarazi zen 10 minutuz 25 °C-ra. Ondoren, absorbantzia 734 nm-an neurtu zen (Cary 50 Bio UV/VIS, Varian, Agilent Technologies). Kuantifikazioa azido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboxilikoarekin (Trolox) eraikitako kalibrazio-kurben bidez egin zen, eta determinazio-koefizienteak 0,994 baino handiagoak izan ziren.

2.3. **Datuen tratamendua eta analisi estatistikoa**

Analisi kimikotik lortutako datu guztiak logaritmo bihurtu ziren, eta normalitatea eta homoskedastikotasuna egiaztatu ziren. Datu-matrizetik

kendu ziren (balio galdua) bai kuantifikazio-limitetik beherako datu guztiak eta bai kuartil arteko ibiltartearen hirukoitzetik gora edo behera gertatzen ziren datuak ere. Honako baldintza bete behar zen aldagaiak analisi estatistikok sartzeko: ustiatzeko gutxienez bi behorrek edoskitzaroko aste guztietan balio positiboak izatea. Hori horrela, guztira 93 aldagai erabili ziren analisi estatistikorako: 3 osagai nagusi (gantz, proteina eta laktosa totalak), 10 mineral, 7 bitamina hidrosoluble, 2 bitamina liposoluble, 69 gantz azido, polifenol totalak eta ahalmen antioxidatzailea.

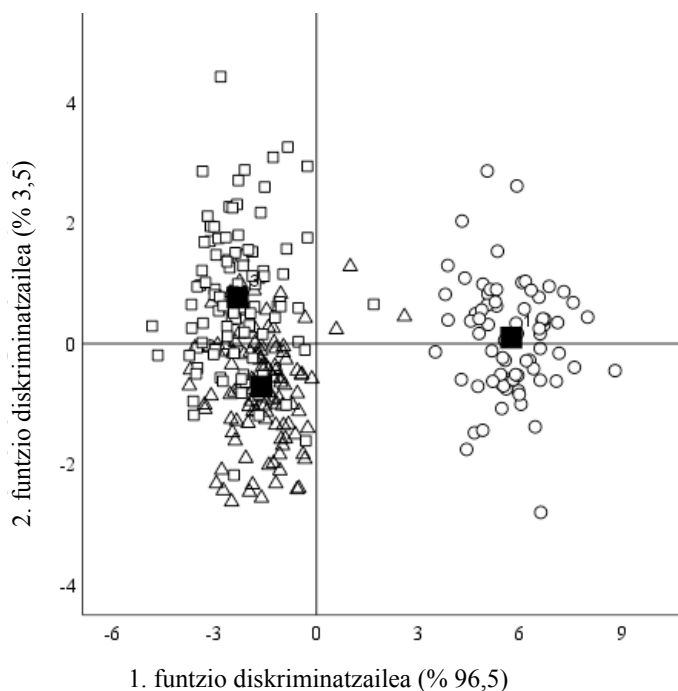
Datuak pausoen bidezko analisi diskriminatzailearen (*stepwise discriminant analysis* edo SDA) bidez aztertu ziren (IBM SPSS Statistics software, 28.0 bertsioa, IBM, Armonk, AEB), Wilks lambda metodoa erabiliz. Bi faktore aztertu ziren: edoskitzaroa eta maneiu-sistema (bazkatze-denborarekin erlazionatua). Faktore bakoitzak hiru maila zituen. Edoskitzaroaren hiru mailak ziren edoskitzaro-hasiera (erditze osteko 3-10. asteak), edoskitzaro-erdialdea (erditze osteko 11-18. asteak) eta edoskitzaro-amaiera (erditze osteko 19-26. asteak). Maneiu-sistemaren hiru mailak 1., 2. eta 3. abeltegiak ziren. Pausoen bidezko analisi diskriminatzailean balioztatze gurutatuaren ondorengo emaitzak baino ez ziren kontuan hartu.

3. EMAITZAK ETA EZTABAIDA

Pausoen bidezko analisi diskriminatzailearen emaitzak 2. eta 3. irudietan, eta 1. eta 2. tauletan aurkeztu dira. Egitura-matrizeetan (1. eta 2. taulak), aldagaiak handienetik txikienera ordenatu dira funtzio diskriminatzaile bakoitzarekin daukaten korrelazioaren arabera.

Maneiuaren edo bazkatze-denboraren eraginari dagokionez (2. irudia), laginen arteko diskriminazioa % 79 baino gehiagokoa zen. Zehazki, 1. funtzio diskriminatzaileak diskriminazio osoaren % 96,5 azaldu zuen, eta bazkatze-denboraren arabera (1. abeltegia, laburra; 2. eta 3. abeltegiak, luzea) desberdindu zituen laginak. Egitura-matrizearen arabera (1. taula), gantz azido *cis*-monoasegabeak (azido oleikoa [9c-18:1] barne), gantz azido poliasegabeak (azido linolenikoa [18:3n-3] barne), beste gantz azido batzuk eta piridoxina ziren 1. funtzio diskriminatzailearekin korrelazio handiena zeukaten aldagaiak. Horien artean, piridoxinak eta gantz azido ase eta monoasegabeek funtzio diskriminatzailearekiko korrelazio positiboa agertzen zuten; gantz azido poliasegabeek, aldiz, korrelazio negatiboa. Hori horrela, maneiu-sistemak behor-esnearen gantz azidoen profilean eragin zuen batez ere; eta eragina kontrakoa izan zen gantz azido ase eta monoasegabeen eta poliasegabeen artean. Laginak bi funtzio diskriminatzaileen artean nola banatzen diren kontuan hartuta (2. irudia), 1. abeltegiko laginak (larratze laburrekoak) aberatsagoak ziren piridoxinan eta gantz azido ase eta monoasegabeetan; 2. eta 3. abeltegiak laginak (larratze luzeak), aldiz,

gantz azido poliasegabeetan ziren aberatsagoak. Hori zaldiaren digestio-aparatuaren ondorio izan daiteke. Izan ere, zaldiak monogastrikoak dira, eta hausnarkariek ez bezala, errumenik ez daukate. Hausnarkarietan, errumeneko mikrobiotak dietatik jasotako gantz azido asegabeak *trans* gantz azido eta gantz azido ase bihurtzen ditu (biohidrogenazioa deritzon prozesuaren bidez). Zaldiek, errumenik ez daukatenez, gai dira dietako gantz azidoak eraldatu gabe heste mehean xurgatzeko [24]. Halaber, belar freskoa gantz azido poliasegabeetan aberatsa da, batez ere azido linolenikoan (18:3n-3) [25, 26, 27]. Hortaz, bazkatze-denbora luzeagoa izateak esnean gantz azido poliasegabe gehiago metatzea ekarri zuen ikerketa honetan, eta gantz azidoen profila izan zen, hain zuzen, behorren bazkatze-luzeraren adierazle nagusia.



2. irudia. Pausoen bidezko analisi diskriminatzailearen birtartez lortutako behor-esnearen laginen banaketa maneiusistemaren (edo bazkatze-denboraren luzeraren) arabera. ○, 1. abeltegia; △, 2. abeltegia; □, 3. abeltegia; ■, taldearen zentroidea.

Bestalde, 2. funtzio diskriminatzaileak diskriminazio osoaren % 3,5 baino ez zuen azaldu (2. irudia). Horrek bazkatze-denbora luzeko bi abeltegietako (2. eta 3. abeltegiak) laginak desberdindu zituen, eta seguraski

behorren dieta osatzeko erabili zen elikagaiaren eragina islatzen du (belar ondua ala siloratua) . Kasu horretan, K eta Na, gantz azido *cis*-monoasegabeak, beste gantz azido batzuk, gantz totala eta azido pantotenikoa ziren diskriminazioan eragin handiena zuten konposatuak (1. taula). Dena den, 2. funtzio diskriminatzaileak azaldutako diskriminazio-ehunekoa baxua zen, eta, ziurrenik, oso txikiak ziren 2. eta 3. abeltegietako esneen arteko alde estatistikoki esanguratsuak.

1. taula. Maneiu-sistemaren arabera pausoen bidezko analisi diskriminatzailetik lortutako egitura-matrizeak.

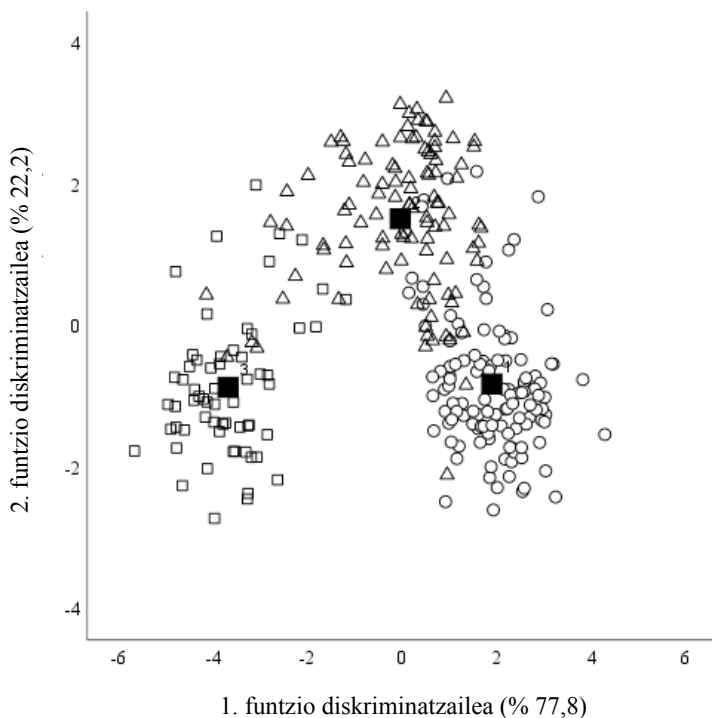
Aldagaia	1. FD	2. FD
16:3n-3	-0,278*	-0,074
11c-20:1	0,191*	-0,108
18:3n-3	-0,170*	-0,115
9c-18:1	0,152*	-0,034
11c-18:1	0,139*	-0,096
13c-22:1	0,139*	-0,081
9t,12t,15c-18:3	-0,137*	-0,111
Piridoxina	0,120*	0,116
9t-18:1	0,111*	-0,104
22:2n-6	-0,105*	-0,066
9:0	0,101*	0,047
8:0	0,101*	-0,078
10:0	0,100*	-0,057
16:2n-6	-0,098*	-0,052
20:5n-3	-0,097*	-0,089
K	-0,009	0,306*
9c-14:1	0,036	-0,275*
Azido pantotenikoa	0,023	0,261*
Na	0,193	-0,234*
11c-19:1	0,108	-0,204*
11c-16:1	0,048	-0,201*
9c-16:1	0,060	-0,197*
9c-20:1	0,087	-0,194*
9c-17:1	0,043	-0,182*
9t-16:1	0,050	-0,178*
19:0	0,019	-0,175*
11:0	0,041	-0,165*
Gantz totala	0,057	-0,160*
20:4n-3	0,007	-0,157*
22:6n-3	0,029	-0,157*

FD: Funtzio diskriminatzailea.

* Aldagai bakoitzak funtzio diskriminatzaile batekin duen korrelazio absolutu handiena.

Zenbakiek aldagai bakoitzak 1. eta 2. funtzio diskriminatzaileekin daukan korrelazioa adierazten dute. Funtzio diskriminatzaile bakoitzarekin korrelazio handiena daukaten 15 aldagai baino ez dira taulan adierazi.

Edoskitzaroaren efektuari dagokionez (3. irudia), laginen arteko diskriminazioa % 86 baino gehiagokoa zen. Kasu horretan, 1. funtzio diskriminatzaileak diskriminazio osoaren % 77,8 azaldu zuen, eta batez ere edoskitzaroaren hasierako eta amaierako laginak ezberdindu zituen. Elementu mineral batzuk (Mg, P, K eta Ca), kate motz eta ertaineko gantz azido aseak (C4-14), piridoxala, α -tokoferola eta proteina totala ziren funtzio horrekin korrelazio handiena agertu zuten konposatuak (2. taula). Kasu horretan, funtzioaren eta aldagai horien guztien arteko korrelazioa positiboa zen; beraz, behor-esnearen banakako konposatuen edukia handiagoa zen edoskitzaroaren hasieran amaieran baino. Gainera, 1. funtzio diskriminatzailearen arabera, edoskitzaroaren erdialdeko behor-esnearen osaerak antz handiagoa zuen edoskitzaroaren hasierakoarekin edoskitzaroaren amaierakoarekin baino. Horren arabera, aldaketa nabarmenenak edoskitzaroaren amaieran gertatu ziren, esnearen konposatuen kontzentrazioa murriztu zelako.



3. irudia. Pausoen bidezko analisi diskriminatzailearen bitartez lortutako behor-esne laginen banaketa edoskitzaroaren arabera. ○, edoskitzaroaren hasiera; △, edoskitzaroaren erdialdea; □, edoskitzaroaren amaiera; ■, taldearen zentroidea.

2. taula. Edoskitzaroaren araberrako pausoen bidezko analisi diskriminatzailetik lortutako egitura-matrizeak.

Aldagaia	1. FD	2. FD
Mg	0,539*	-0,071
P	0,465*	0,460
10:0	0,455*	-0,042
K	0,423*	0,006
8:0	0,412*	0,033
12:0	0,405*	-0,041
6:0	0,400*	0,042
Piridoxala	0,372*	0,103
Ca	0,365*	0,239
Proteina totala	0,354*	-0,276
9:0	0,349*	-0,197
4:0	0,303*	-0,147
14:0	0,288*	-0,064
7:0	0,226*	-0,092
α -Tokoferola	0,211*	0,020
S	0,243	0,429*
Laktosa totala	-0,336	0,383*
Ahalmen antioxidatzailea	0,024	-0,357*
Zn	-0,143	0,325*
20:2n-6	0,046	0,300*
6c-18:1	-0,148	0,272*
9t,12t,15c-18:3	0,079	0,270*
Polifenol totalak	0,070	0,263*
22:2n-6	0,010	0,254*
18:2n-6	-0,014	0,249*
20:3n-3	0,180	0,246*
18:3n-3	0,135	0,232*
16:2n-6	-0,074	0,214*
Cu	-0,125	0,171*
7c-20:1	-0,044	0,161*

FD: Funtzio diskriminatzailea.

* Aldagai bakoitzak funtzio diskriminatzaile batekin duen korrelazio absolutu handiena.

Bestalde, 2. funtzio diskriminatzaileak diskriminazio osoaren % 22,2 azaldu zuen eta edoskitzaroaren erdialdeko laginak ezberdindu zituen batez ere (3. irudia). Funtzio horrekin korrelazio handiena zuten konposatuak ziren elementu mineral batzuk (S, Zn eta Cu), laktosa, ahalmen antioxidatzaile totala, polifenol totalak eta gantz azido mono- eta poliasgabe batzuk (azido linoleiko (18:2n-6) eta linolenikoa (18:3n-3) barne) (2. taula). Aldagaien eta 2. funtzio diskriminatzailearen arteko korrelazioa positiboa zen kasu guztietan, ahalmen antioxidatzailean izan ezik. Korrelazioak (2. taula)

eta laginen banaketa (3. irudia) kontuan hartuta, 2. funtzio diskriminatzailearekin korrelazio handia zeukaten konposatuen edukia maximoa zen edoskitzaroaren erdialdean, ahalmen antioxidatzailea izan ezik, horrek balio minimoak aurkeztu zituen eta.

Zenbakiak aldagai bakoitzak 1. eta 2. funtzio diskriminatzaileekin daukan korrelazioa adierazten dute. Funtzio diskriminatzaile bakoitzarekin korrelazio handiena daukaten 15 aldagai baino ez dira taulan adierazi.

Edoskitzaroaren araberako sailkapenean lortutako emaitzak bat datoz behor-esnearen banakako konposatuek edoskitzaroan zehar duten bilakaeraren azterketan lortutakoekin. Laburbilduz, proteina totalaren kontzentrazioa nabarmen murrizten da edoskitzaroaren hasieratik amaierara; laktosarena, aldiz, edoskitzaroaren hasieratik erdialdera handitzen da, baina apur bat murrizten da gero [14]. K eta Mg edukiak modu jarraian murrizten dira edoskitzaroan zehar, eta P eta Ca edukiak nabarmen murrizten dira edoskitzaroaren hasiera-erdialdetik amaierara. Gainera, S eta Zn edukiak maximora heltzen dira edoskitzaroaren erdialdean (13-20. asteak), eta hain nabarmena ez bada ere, Cu edukia handiagoa da edoskitzaroaren erdialde-amaieran hasieran baino [12]. Gantz azidoei dagokienez, gantz azido asean edukiak behera egiten dute edoskitzaroan zehar, eta bai n-3, bai n-6 gantz azido poliasagabeen edukiak balio maximora heltzen dira edoskitzaroaren erdialdean (13-14. asteak). Gantz azido monoasagabeen kasuan, edukiak handiagotzen dira edoskitzaroaren hasieratik 17-22. asteetara, eta murrizten dira gero [13]. Piridoxalaren eta α -tokoferolaren kontzentrazioek ere behera egiten dute edoskitzaroa igaro ahala. Azkenik, polifenol totalen edukiaren eta ahalmen antioxidatzailearen balioak antzekoak dira edoskitzaroaren hasieran eta amaieran, baina aldaketa nabarmenak gertatzen dira edoskitzaroaren erdialdean. Zehazki, polifenolen edukia handiagotzen da eta ahalmen antioxidatzailea murrizten da [15].

Edoskitzaroan zehar behor-esnearen osaeran gertatzen diren aldaketek hainbat arrazoiri erantzuten diete. Alde batetik, konposatu askoren kontzentrazioek edoskitzaroaren amaieran duten murrizketa ugatzaren inboluzioaren ondorio izan daiteke. Guk dakigula, ez da behorretan ikerketarik egin, baina ama-esnearekin (giza esnea) egindako ikerketa transkriptomiko baten frogatu du laktozito jariatzaileak gutxitzen direla eta esnearen osagaien sintesi eta jariaketan parte hartzen duten geneen adierazpena murrizten dela edoskitzaroan zehar [28]. Esnearen proteinak (kaseinak, α -laktalbumina, β -laktoglobulina...) [29] eta kate motz eta ertaineko gantz azido aseak [30] ugatzean sintetizatzen dira, eta elementu mineralak bertan sintetizatzen ez badira ere, era aktiboan jariatzen dira esnera [31]. Horiek dira, hain zuzen, ikerketa honetan edoskitzaroaren hasierako eta amaierako esne-laginak ezberdintzen zituzten konposatu nagusiak (2. taula, 1. funtzio diskriminatzailea).

Oro har, bai edoskitzaroak, bai maneiu-sistemak gantz azidoetan eta elementu mineraletan eragin zuten gehienbat. Bitaminen edukia, aldiz, ez

zen aldagai eraginkorra izan laginak desberdintzeko orduan. Izan ere, bitaminak dietatik bakarrik badatoz ere (konposatu esentzialak dira animalientzat), uste da ugatzak esnearen bitamina-edukiak orekatzen dituen mekanismo-sistema konplexua daukala [31]. Hori horrela, dietaren bidezko bitaminen ekarpenaren aldaketek esnean duten eragina arinduko litzateke. Hala ere, behor-esnearen bitamina-edukien erregulazio-mekanismoak ez dira guztiz ulertzen gaur egun. Hortaz, zaila da dietaren eta esnearen bitamina-edukien arteko erlazioa azaltzea [31, 32].

4. ONDORIOAK

Behor-esnearen kalitate nutrizionala animaliaren maneiuaren zein edoskitzaroaren arabera da. Maneiuari dagokionez, larratze-denbora luzeagoak gantz azido poliasgabeen edukia handiagotzen du eta gantz azido ase eta monoasegabeen eta piridoxinaren edukia murrizten ditu. Hortaz, esnearen gantz azidoen profila behorren larratze-intentsitatearen adierazle ona da. Bestalde, edoskitzaroaren hasieratik amaierara mineralen, gantz azido asean, proteina totalaren eta bitamina batzuen edukia murrizten da; hori ugatzaren inboluzioaren ondorioz gerta daiteke. Gainera, konposatu batzuen edukia maximoa da edoskitzaroaren erdialdean, eta ahalmen antioxidatzailearena, aldiz, minimoa da. Esnearen osaera orokorra eta mineral eta gantz azidoen edukia manei-sistemaren eta edoskitzaroaren adierazle onak izan arren, bitaminak ez dira, oro har, adierazle onak, ziurrenik ugatzak esnearen bitamina edukia orekatzeko mekanismoak dituelako. Beraz, kalitate nutrizional handieneko esnea lortze aldera, edoskitzaroaren hasierakoa edota erdialdekoa den eta larreetan bazkatzen duten behorren esnea aukeratu daiteke.

Behor-esnearen kalitate nutrizionala eta esleitzen zaizkion onurak kontuan izanda, kontsumorako elikagai interesgarria izan daiteke, nahiz eta ikerketa gehiago behar diren giza osasunean daukan eragina frogatzeko. Ikerketa hau manei-sistema estentsibopean ekoiztutako behor-esnearen biomarkatzaileak identifikatzen dituen lehen urratsa da, eta oinarri sendoa eraikitzen du funtzionala izan daitekeen elikagai hau etorkizunean sakonago aztertzeko. Euskal Herrian izan dezakeen inpaktuari dagokionez, Euskal Herriko mendiko zaldien ekoizpena dibertsifikatzeko aukera ematen du, haragiaz gain kalitate handiko esnea ekoitz daitekeela erakusten baitu. Horrekin, landa eremuetako hazkunde ekonomiko eta soziala bultzatuko litzateke.

Ikerlan honek zenbait muga ere baditu. Euskal Herriko Mendiko zaldiaren esnean egindako lehenengo proiektua denez, abeltegí gutxik hartu zuten parte eta animalia gutxiarekin egin zen lan. Bestalde, ikerketa hau behor-esnearen analisi kimikora mugatu da, eta ez dira beste hainbat ekoizpen parametro kontuan hartu, hala nola etekin eta bideragarritasun eko-

nomikoa, kontsumitzaileen ikuspegia, ezaugarri organoleptikoak eta abar. Hori horrela, proiektu honek bidea irekitzen du Euskal Herriko Mendiko zaldiaren esnea etorkizunean diziiplina anitzetatik aztertzeko.

ESKER ONAK

Ikerketa hau Eusko Jaurlaritzak finantzatu du ELKARTEK 2019 (BIO-TASMA), Kooperazioa 2020 (BEHOR-ESNE) and IT944-16 and IT1568-22 proiektuen bitartez. Ana Blanco Dovalek eskerrak eman nahi dizkio Eusko Jaurlaritzako Hezkuntza Sailari Doktoretza Aurreko Programako laguntzagatik. Autoreek eskerrak eman nahi dizkiete ikerketan parte hartu zuten abeltzainei.

BIBLIOGRAFIA

- [1] DOREAU, M. eta MARTIN-ROSSET, W. 2002. *Encyclopedia of dairy sciences. Dairy animals: Horse*. Academic Press, London.
- [2] PARK, Y. W., ZHANG, H., ZHANG, B. eta ZHANG, L. 2006. *Mare milk. Handbook of milk of non-bovine mammals*. Blackwell Publishing, Oxford.
- [3] PIESZKA, M., ŁUSZCZYŃSKI, J., ZAMACHOWSKA, M., AUGUSTYN, R., DŁUGOSZ, B. eta HĘDRZAK, M. 2016. «Is mare milk and appropriate food for people? - A review». *Annals of Animal Science*, **16**, 33-51.
- [4] UGWU, C. P., ABARSHI, M. M., MADA, S. B., SANUSI, B. eta NZELIBE, H. C. 2019. «Camel and horse milk casein hydrolysates exhibit angiotensin converting enzyme inhibitory and antioxidative effects in viro and in silico». *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, **25**, 1595-1604.
- [5] SONG, J. J., WANG, Q., DU, M., JI, X. M. eta MAO, X. Y. 2017 «Identification of dipeptidyl peptidase-IV inhibitory peptides from mare whey protein hydrolysates». *Journal of Dairy Science*, **100**, 6885-6894.
- [6] LABEN, R. C. 1963. «Factors responsible for variation in milk composition». *Journal of Dairy Science*, **46**, 1293-1301.
- [7] ALOTHMAN, M., HOGAN, S. A., HENNESSY, D., DILLON, P., KILCAWLEY, K. N., O'DONOVAN, M., TOBIN, J., FENELON, M. A. eta O'CALLAGHAN, T. 2019. «The «grass-fed» milk story: Understanding the impact of pasture feeding on the composition and quality of bovine milk». *Foods*, **8**, 350.
- [8] HACHANA, Y., NASRAOUI, C., FRIJA, I. eta FORTINA, R. 2022. «Arabian mare's milk characterisation and clotting ability». *Journal of Food Science and Technology*, **59**, 1840-1846.
- [9] NAVRÁTILOVÁ, P., POSPÍŠIL, J., BORKOVCOVÁ, I., KANIOVÁ, L., DLUHOŠOVÁ, S. eta HORÁKOVÁ, S. 2018. «Content of nutritionally important components in mare milk fat». *Mlékarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i pre-rade mlijeka*, **68**, 282-294.

- [10] SUMMER, A., SABBIONI, A., FORMAGGIONI, P. eta MARIANI, P. 2004. «Trend in ash and mineral element content of milk from Haflinger nursing mares throughout six lactation months». *Livestock Production Science*, **88**, 55-62.
- [11] DENG, L., YANG, Y., LI, Z., ZHU, Y., MENG, Q., LIU, J. eta WANG, X. 2022. «Impact of different dietary regimens on the lipidomic profile of mare's milk». *Food Research International*, **156**, 111305.
- [12] BLANCO-DOVAL, A., BARRON, L. J. R. eta ALDAI, N. 2023. «Changes during lactation in the mineral element content of mare milk produced in semi-extensive rural farms». *Journal of Food Composition and Analysis*, **123**, 105629.
- [13] BLANCO-DOVAL, A., BARRON, L. J. R., KRAMER, J. K. G. eta ALDAI, N. 2024. «Complete characterization of the fatty acid profile of mare milk during lactation from commercial semi-extensive farms». *Journal of Food Composition and Analysis*, **134**, 106495.
- [14] BLANCO-DOVAL, A., BARRON, L. J. R. eta ALDAI, N. 2024. «Ekoizpen-sistema erdi-estentsiboan hazitako Euskal Herriko Mendiko zaldia arrazako behor-esnearen kalitate nutrizionalaren azterketa». *Ekaia*, **45**, 113-126.
- [15] BLANCO-DOVAL, A., BARRON, L. J. R., BUSTAMANTE, M. A. eta ALDAI, N. 2024. «Characterization and monitoring of changes during lactation in the profile of multiple bioactive compounds of milk from grazing mares». *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **105**, 1894-1903.
- [16] ZAFRA-GÓMEZ, A., GARBALLO, A., MORALES, J. C. eta GARCÍA-AYUSO, L. E. 2006. «Simultaneous determination of eight water-soluble vitamins in supplemented foods by liquid chromatography». *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**, 4531-4536.
- [17] VALDIVIELSO, I., BUSTAMANTE, M. A., BUCCIONI, A., FRANCI, O., RUIZ DE GORDOA, J. C., DE RENOBLES, M. eta BARRON, L. J. R. 2015. «Commercial sheep flocks - Fatty acid and fat-soluble antioxidant composition of milk and cheese related to changes in feeding management throughout lactation». *Journal of Dairy Research*, **82**, 334-343.
- [18] LUNA, P., JUÁREZ, M. eta DE LA FUENTE, M.A. 2005. «Validation of a rapid milk fat separation method to determine the fatty acid profile by gas chromatography». *Journal of Dairy Science*, **88**, 3377-3381.
- [19] ALDAI, N., KRAMER, J. K. G., CRUZ-HERNANDEZ, C., SANTERCOLE, V., DELMONTE, P., MOSSOBA, M. M. eta DUGAN, M. E. R. 2012. *Appropriate extraction and methylation techniques for lipids analysis. Fats and fatty acids in poultry nutrition and health*. Context, Leicestershire.
- [20] CRUZ-HERNANDEZ, C., DENG, Z., ZHOU, J., HILL, A. R., YURAWECZ, M. P., DELMONTE, P., MOSSOBA, M. M., DUGAN, M. E. R. eta KRAMER, J. K. G. 2004. «Methods for analysis of conjugated linoleic acids and trans-18:1 isomers in dairy fats by using a combination of gas chromatography, silver-ion thin-layer chromatography/gas chromatography, and silver-ion liquid chromatography». *Journal of AOAC International*, **87**, 545-562.
- [21] KRAMER, J. K. G., HERNANDEZ, M., CRUZ-HERNANDEZ, C., KRAFT, J. eta DUGAN, M. E. R. 2008. «Combining results of two GC separations partly achieve

- ves determination of all cis and trans 16:1, 18:1, 18:2 and 18:3 except CLA isomers of milk fat as demonstrated using Ag-ion SPE fractionation». *Lipids*, **43**, 259-273.
- [22] VÁZQUEZ, C. V., ROJAS, M. G. V., RAMÍREZ, C. A., CHÁVEZ-SERVÍN, J. L., GARCÍA-GASCA, R., MARTÍNEZ, R. A. F., GARCÍA, O. P., ROSADO, J. L., LÓPEZ-SABATER, C. M., CASTELLOTE, A. I., MONTEMAYOR, H. M. A. eta CARBOT, K. T. 2015. «Total phenolic compounds in milk from different species. Design of an extraction technique for quantification using the Folin-Ciocalteu method». *Food Chemistry*, **176**, 480-486.
- [23] GILA-DÍAZ, A., CARRILLO, G. H., CAÑAS, S., SAENZ DE PIPAON, M., MARTÍNEZ-ORGADO, J. A., RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, P., LÓPEZ DE PABLO, A. L., MARTÍN-CABREJAS, M. A., RAMIRO-CORTIJO, D. eta ARRIBAS, S. M. 2020. «Influence of maternal age and gestational age on breast milk antioxidants during the first month of lactation». *Nutrients*, **9**, 2569.
- [24] CLAUSS, M., GRUM, C. eta HATT, J. 2009. «Polyunsaturated fatty acid content in adipose tissue in foregut and hindgut fermenting mammalian herbivores: A literature review». *Mammalian Biology*, **74**, 153-158.
- [25] SAHAKA, M., AMARA, S., WATTANAKUL, J., GEDI, M. A., ALDAI, N., PARSIEGLA, G., LECOMTE, J., CHRISTELLER, J. T., GRAY, D., GONTERO, B., VILLENEUVE, P. eta CARRIÈRE, F. 2020. «The digestion of galactolipids and its ubiquitous function in nature for the uptake of the essential α -linolenic acid». *Food & Function*, **11**, 6710-6744.
- [26] VALDIVIELSO, I., BUSTAMANTE, M. A., ALDEZABAL, A., AMORES, G., VIRTO, M., RUIZ DE GORDOA, J. C., DE RENOBAL, M. eta BARRON, L. J. R. 2016. «Case study of a commercial sheep flock under extensive mountain grazing: Pasture derived lipid compounds in milk and cheese». *Food Chemistry*, **197**, 622-633.
- [27] WARREN, L. eta VINEYARD, K. R. 2013. *Fat and fatty acids. Equine applied and clinical nutrition*. Saunders, Philadelphia.
- [28] NYQUIST, S. K., GAO, P., HAINING, T. K. J., RETCHIN, M. R., GOLAN, Y., DRAKE, R. S., KOLB, K., MEAD, B. E., AHITUV, N., MARTINEZ, M. E., SHALEK, A. K., BERGER, B. eta GOODS, B. A. 2022. «Cellular and transcriptional diversity over the course of human lactation». *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **119**, e2121720119.
- [29] BIONAZ, M., HURLEY, W. L. eta LOOR, J. 2012. *Milk protein synthesis in the lactating mammary gland: Insights from transcriptomics analyses. Milk protein*. IntechOpen, London.
- [30] PALMQUIST, D. L. eta HARVATINE, K. J. 2020. *Origin of fatty acids and influence of nutritional factors on milk fat. Advanced dairy chemistry*. Springer, Cham.
- [31] MONTALBETTI, N., DALGHI, M. G., ALBRECHT, C. eta HEDIGER, M. A. 2014. «Nutrient transport in the mammary gland: Calcium, trace minerals and water soluble vitamins». *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, **19**, 73-90.
- [32] LIMA, M. S. R., DIMENSTEIN, R. eta RIBEIRO, K. D. S. 2014. «Vitamin E concentration in human milk and associated factors: A literature review». *Jornal de Pediatria*, **90**, 440-448.