

Relación del contenido de flavonoides y color en miel de abeja (*Apis mellifera*) originaria del estado de Tabasco, México.

Balcázar-Cruz L.³ Valadez-Villarreal A.², López-Naranjo J. I.¹, Ochoa-Flores A. A.¹, Rodríguez-Blanco L.¹ y López-Hernández E.*¹

¹ Centro de Investigación en Ciencias Agropecuarias (CICA). Laboratorio de Tecnología de Alimentos (LTA). División Académica de Ciencias Agropecuarias (DACA). Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT). Km. 25 Carr. Villahermosa Teapa Ranchería la Huasteca. Código postal 86290. Centro, Tabasco, México.

² División Académica de Procesos Industriales (DAPI). Laboratorio de Análisis de Alimentos (LAA). Universidad Tecnológica de Tabasco. Km 14.6 Carr. Villahermosa Teapa S/N Fraccionamiento Parrilla II Código postal 86286

³ Tesista de la Licenciatura de Ingeniería de alimentos. DACA-UJAT

*eloisa73@hotmail.com

RESUMEN:

La calidad de la miel está determinada por sus características fisicoquímicas, sensoriales y microbiológicas, su origen botánico, proceso de obtención, temperatura y tiempo de almacenamiento ocasionan variaciones en los principios activos y el color, siendo este un factor importante de clasificación desde el punto de vista comercial. Está compuesta del 38% de fructuosa y 31% glucosa, agua, minerales, proteínas, vitaminas, ácidos orgánicos, flavonoides, ácidos fenólicos y enzimas. La actividad antioxidante de los flavonoides podría contribuir significativamente a grandes beneficios para la salud humana. El presente trabajo tuvo como finalidad cuantificar el color y flavonoides, de miel procedente de diversos municipios de Tabasco, así como evaluar la correlación entre ellos. El contenido de flavonoides osciló entre 7.325 y 18.876 mg QE/100 g de miel, correspondiendo a miel blanca del municipio de Cárdenas y miel ámbar para el municipio de Huimanguillo. Se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) para el contenido de flavonoides, entre las mieles estudiadas de los diferentes municipios. Los datos obtenidos de la composición de flavonoides y color, se ajustan a una correlación lineal con un coeficiente de determinación de 0.8648, lo cual es aceptable para investigaciones del área agropecuaria.

Palabras clave: Miel, Color, Flavonoides, Pfund, Reflectancia, Antioxidantes

ABSTRACT:

The quality of the honey is determined by its physicochemical, sensory and microbiological characteristics, its botanical origin, obtaining process, temperature and storage time cause variations in the active principles and color, this being an important factor of classification from the point of commercial view. It is composed of 38% fructose and 31% glucose, water, minerals, proteins, vitamins, organic acids, flavonoids, phenolic acids and enzymes. The antioxidant activity of flavonoids could contribute significantly to great benefits for human health. The objective of this work was to quantify the color and flavonoids, of honey from different municipalities of Tabasco, as well as to evaluate the correlation between them. The flavonoid content ranged between 7,325 and 18,876 mg QE/100 g of honey, corresponding to white honey from the municipality of Cárdenas and amber honey for the municipality of Huimanguillo. Significant differences ($p \leq 0.05$) were found for the flavonoid content among the honeys studied in the different municipalities. The data obtained from the composition of flavonoids and color, adjust to a linear correlation with a coefficient of determination of 0.8648, which is acceptable for agricultural research.

Key words: Honey, Colour, Flavonoids, PFund, Reflectance, Antioxidant

Área: Alimentos funcionales

INTRODUCCIÓN

La miel es una sustancia dulce y natural producida por abejas (*Apis mellifera*), generado a partir del néctar y otras secreciones de las plantas (López-Hernández *et al.*, 2015). La calidad de la miel está determinada principalmente por sus características fisicoquímicas, sensoriales y microbiológicas de acuerdo con el *Codex Alimentarius* (Vattuone *et al.*, 2007; Córdova *et al.*, 2013). El origen botánico ocasiona variaciones en los principios activos y en el color de este producto, desde incoloro y blanquecino hasta marrón oscuro en la escala Pfund (Vit *et al.*, 2008), por lo que la tonalidad que presenta la miel es un factor importante de clasificación desde el punto de vista comercial. (Delmoro *et al.*, 2010).

Hoy en día México se sitúa en el quinto lugar como productor de miel, además de ser el tercer país exportador con una producción anual de 57,000 toneladas, siendo los principales compradores Estados Unidos y países de la Unión Europea como Francia, Austria, Hungría y Países Bajos (Grajales *et al.*, 2013).

En la miel los componentes que la definen por sus propiedades físicas, características nutritivas y nutraceuticas son, una alta concentración de azúcares, alrededor del 38% que corresponde a la fructosa y 31% a la glucosa, así como otros componentes minoritarios, agua, minerales, proteínas, vitaminas, ácidos orgánicos, flavonoides, ácidos fenólicos y enzimas (Perna *et al.*, 2013; Moguel *et al.*, 2005). Los polifenoles, flavonoides y ácidos fenólicos, participan en el sistema antioxidante (Vit *et al.*, 2008). La actividad antioxidante de estos compuestos fenólicos podría contribuir significativamente a grandes beneficios para la salud humana (Arráez *et al.*, 2006; Escamilla *et al.*, 2009). La composición y las propiedades de la miel dependen principalmente, de su origen botánico, y se diferencian en monoflorales o poliflorales (Córdova *et al.*, 2013, Norma Mexicana NMX-F-036-1997). La actividad antimicrobiana de la miel se atribuye a su alto contenido de azúcar, osmolaridad, pH, producción de peróxido de hidrógeno y a la presencia de otros componentes fitoquímicos (Montenegro *et al.*, 2013). El color en la miel depende de su interacción con las modificaciones cromáticas y geométricas de la luz, su estado físico y material de envasado (Terrab *et al.*, 2004). Además, influye su origen botánico y la composición del néctar de la flor de la cual proviene, el proceso de obtención, temperatura y tiempo de almacenamiento (Delmoro *et al.*, 2010). El color de la miel puede variar desde casi incoloro hasta rojo oscuro pasando por tonalidades amarillas ámbar y marrón con matices verdes y rojos. La tonalidad que presenta la miel es un factor importante de clasificación desde el punto de vista comercial. En Alemania, Suiza, Australia e Irlanda, las mieles oscuras son las más apreciadas (Bogdanov *et al.*, 2004)., para la medición del color en miel existen diversos métodos entre los que destacan, el estandarizado internacionalmente basado en la comparación óptica, utilizando comparadores Pfund o Lovibond (Cabrera *et al.*, 2017). La escala de Pfund, varía desde 0 hasta 114 mm o más a medida que el color aumenta, ver cuadro No.1 (Delmoro *et al.*, 2010), espectrofotométricos de Hanna (Vit *et al.*, 2009), los de reflectancia determinando los valores triestímulo de L, a y b, Chroma y Hue (Quezada-Moreno *et al.*, 2016; Negueruela & Pérez 2000), así como el empleo de imágenes digitales combinada con calibración multivariada (Domínguez, 2014).

Los flavonoides son compuestos fenólicos, derivados del flavano 2 benzopirano, con características de glucósidos, contienen como aglucón un núcleo flavilo al cual se une una fracción azúcar por medio de un enlace glucosídico. Se consideran como compuestos no nitrogenados, con un esqueleto de difenil propano, derivado del ácido shiquímico, pueden tener estructuras simples o muy complejas debido a la polimerización, como son los taninos condensados. Los flavonoides son solubles en agua, metanol y etanol (Guerrero *et al.*, 2013). El contenido de flavonoides totales en muestras de miel se ha cuantificado en valores que oscilan entre 1.42 y 17.75 mg /100 g, encontrando entre ellos a la flavona apigenina (0,05 mg), luteolina (0,63 mg), los flavonoles isoramnetina (0,17 mg), kaempferol (0,11 mg), miricetina (1,03 mg) y quercetina (0,51 mg), (Vit *et al.*, 2008; Ciappini *et al.*, 2013). Dentro de los usos medicinales de la miel se incluyen tratamientos de erupciones de la piel, problemas respiratorios, trastornos urinarios, infecciones cutáneas, y al diluirla en agua se usa en aplicaciones oftálmicas, entre otros (Vattuone *et al.*, 2007).

Debido a que no existe suficiente información o estudios realizados en mieles tabasqueñas que tengan como finalidad la caracterización y/o clasificación de mieles respecto a su color y al contenido de flavonoides, el presente trabajo tuvo como finalidad cuantificar el contenido de estos componentes en miel procedente de diversos municipios del estado de Tabasco, así como evaluar la existencia de una correlación entre ellos, considerando que los flavonoides son importantes por su acción antioxidante en los alimentos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras de miel fueron provenientes de abejas *Apis mellifera*, colectadas de municipios del estado de Tabasco, basándose en datos del padrón geo-referenciado apícola de SAGARPA; fueron colocadas en envases de plásticos translúcidos, etiquetadas y trasladadas al Laboratorio de Tecnología de Alimentos del Centro de Investigación de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Las muestras fueron congeladas a -32 °C para su posterior análisis.

Para este estudio se utilizó un muestreo probabilístico, que permitió determinar una muestra de la población de apicultores del estado. Este muestreo considera la misma oportunidad de participar en la muestra a cada uno de los apiarios reportados, según el esquema simple aleatorio, tomando como base el número de productores por municipio, los municipios con mayor número de productores son: Tacotalpa, Huimanguillo, Centro, Teapa, Cárdenas y Cunduacán, que aportan más del 80% de la producción de miel estatal. Por lo que para esta investigación fueron considerados como los más importantes. Tabla I.

Tabla I. Muestreo y origen de las mieles por municipio y región

Muestra	Municipio	Región
1	Tacotalpa 1	Sierra
2	Centro 1	Centro
3	Huimanguillo 1	Chontalpa
4	Cunduacán 1	Chontalpa
5	Cunduacán 2	Chontalpa
6	Tacotalpa 2	Sierra
7	Centro 2	Centro
8	Huimanguillo 2	Chontalpa
9	Centro 3	Centro
10	Teapa 1	Sierra
11	Teapa 2	Sierra
12	Centro 5	Centro
13	Cárdenas 1	Chontalpa
14	Cárdenas 2	Chontalpa
15	Cárdenas 3	Chontalpa
16	Huimanguillo 3	Chontalpa
17	Teapa 3	Sierra
18	Cunduacán 3	Chontalpa
19	Tacotalpa 3	Sierra

Para cuantificar el contenido de flavonoides, se empleó el método colorimétrico del cloruro de aluminio (Vit *et al.*, 2008). Se utilizó quercetina grado analítico, Sigma-Aldrich en etanol como patrón de referencia, las determinaciones se realizaron a 415 nm en un espectrofotómetro (UV- VIS) marca Génesis 2 Modelo 336002. El contenido de flavonoides totales se expresó como mg de quercetina equivalente (QE)/100 g de miel a partir de la curva de calibración de este compuesto. La cual se realizó en un intervalo de concentración de 25 – 100 µg/mL, obteniendo su correspondiente coeficiente de correlación (Chang *et al.*, 2002; Orantes *et al.*, 2007; Gutiérrez *et al.*, 2008; Vit *et al.*, 2008; Rajalakshmi *et al.*, 2010).

La Determinación de color se realizó utilizando el espectrofotómetro UV- VIS Génesis 2 Modelo 336002, se midió la absorbancia de la solución de miel al 50% (P/V), a 635 nm. Las mieles fueron clasificadas de acuerdo a la escala de Pfund convirtiendo el valor de la absorbancia a mm Pfund = -38.70 + 371.39 x Abs, en donde mm Pfund es la intensidad del color, y Abs es la absorbancia obtenida de la solución de miel. Tabla II. (Kaškonienė *et al.*, 2009; Delmoro *et al.*, 2010; Ciappini *et al.*, 2013; Norma IRAM 15941-2, 2007; Montenegro *et al.*, 2013).

Los datos fueron analizados realizando análisis de varianza y correlación de Spearman así como pruebas de comparación de medias de Tukey a un $\alpha = 0.05$ utilizando el software SAS V8 2000.

Tabla II. Comparación entre color, mm de Pfund y absorbancia

Color de miel	Mm de Pfund	Absorbancia
Blanco Agua	0 – 8	0.104 – 0.125
Extra Blanco	8 – 16.5	0.125 – 0.148
Blanco	16.5 – 34	0.148 – 0.195

Ámbar Extra Claro	34 – 50	0.195 – 0.238
Ámbar Claro	50 – 85	0.238 – 0.333
Ámbar	85 -114	0.333 – 0.411
Ámbar Oscuro	114-140	0.411 ó más

Fuente: Norma IRAM 15941-2, 2007

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Fig. 1, se presenta el contenido de flavonoides cuantificado, en las mieles tabasqueñas de abeja (*Apis mellifera*), encontrando en la muestra 3 de miel, correspondiente al municipio de Huimanguillo el mayor contenido en flavonoides con 18.876 mg QE/100 g de miel, en relación a la muestra 15, con el menor valor, correspondiente al municipio de Cárdenas con 7.132 mg QE/100 g de miel. Se observa también en la Fig. 3 que esta muestra de Huimanguillo fue diferente a una $\alpha = 0.05$ al resto de todas las muestras analizadas. De manera general en el resto de las mieles se encontró un valor promedio de 12.75 ± 4.2 . Ciappini *et al* (2013), encontraron valores para el contenido de mieles italianas entre 1.42 y 17.75 mg QE/100 g de miel, mientras que Vit *et al* (2008) encontraron valores entre 1.90 y 15,74 mg QE/100 g para mieles checas y Vit *et al*, (2009) evaluaron mieles de abeja yateí (*Tetragonisca fiebrigi*) obteniendo valores promedio para mieles procedentes de Argentina de 14.37 mg QE/100 g y de Paraguay con 12.66 mg/100 g). Cabrera *et al* (2017), reportó valores entre 6.94-67.76 mg QE /100 g en la región del Chaco Húmedo de Argentina. Se puede observar que las mieles tabasqueñas, se encuentran entre valores reportados por otros investigadores. Sin embargo, llama la atención las mieles encontradas en Argentina por Cabrera, *et al* (2017) con valores máximos en dos muestras de 43.68 y 67.76 mg QE/100 g, el resto corresponde a la media reportada por otros investigadores. El origen botánico, juega un papel muy importante en el contenido de flavonoides al ser metabolitos sintetizados en las plantas que las abejas transforman en miel, derivado de lo anterior se presentaron diferencias significativas a un $\alpha = 0.05$, en todas las muestras de miel estudiadas, Fig. 3.

CONTENIDO DE FLAVONOIDES EN MIELES TABASQUEÑAS

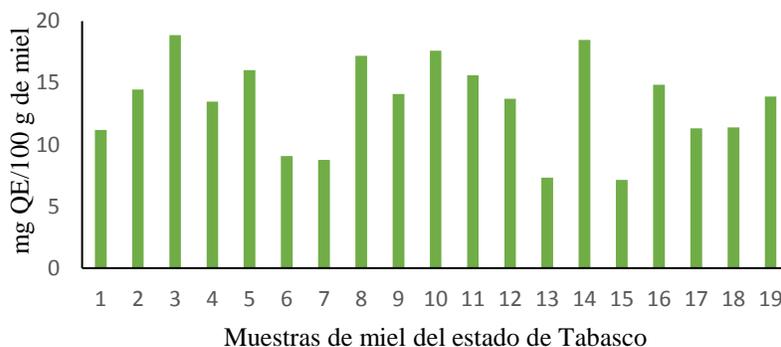


Figura 1. Contenido de Flavonoides en mieles tabasqueñas

El rango de colores en la escala Pfund varió desde 25.55 para la muestra 15 del municipio de Cárdenas con un color blanco hasta un valor máximo de 106.76 para miel del municipio de Huimanguillo que correspondió a un color ámbar, según se observa en la Fig. 2.

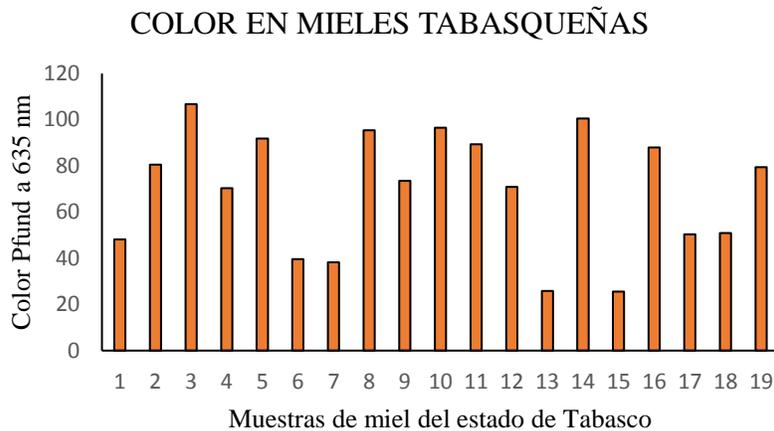


Figura 2. Color en mieles tabasqueñas

El color de las mieles que predominaron fueron el ámbar extra claro y ámbar claro, que van en un rango desde 34 a 85 mm de Pfund.

Se caracterizaron mieles de color Blanco, Ámbar Extra Claro, Ámbar Claro y Ámbar, lo cual se esperaba, ya que en el estado de Tabasco se encuentra una gran variedad de flora, que le imparte los diferentes colores y tonalidades a la miel. Así mismo, de las mieles de Tacotalpa, el 80% fueron ámbar extra claro, el 80% de las mieles de Centro y Cunduacán, fueron ámbar claro, y el 100% de Huimanguillo y Teapa fueron color ámbar, y el 75% en cárdenas, fueron color blanco. No fue posible caracterizar el color de la miel para las diferentes regiones del estado como fueron Chontalpa, Centro y Los Ríos, ya que las muestras analizadas procedían de mieles multiflorales y la flora existente es muy variada. *Vit et al* (2009), reportaron valores máximos de 131 Pfund y mínimos de 74 Pfund para mieles Argentinas y máximos de 126 Pfund y mínimos de 86 Pfund, para mieles de Paraguay.

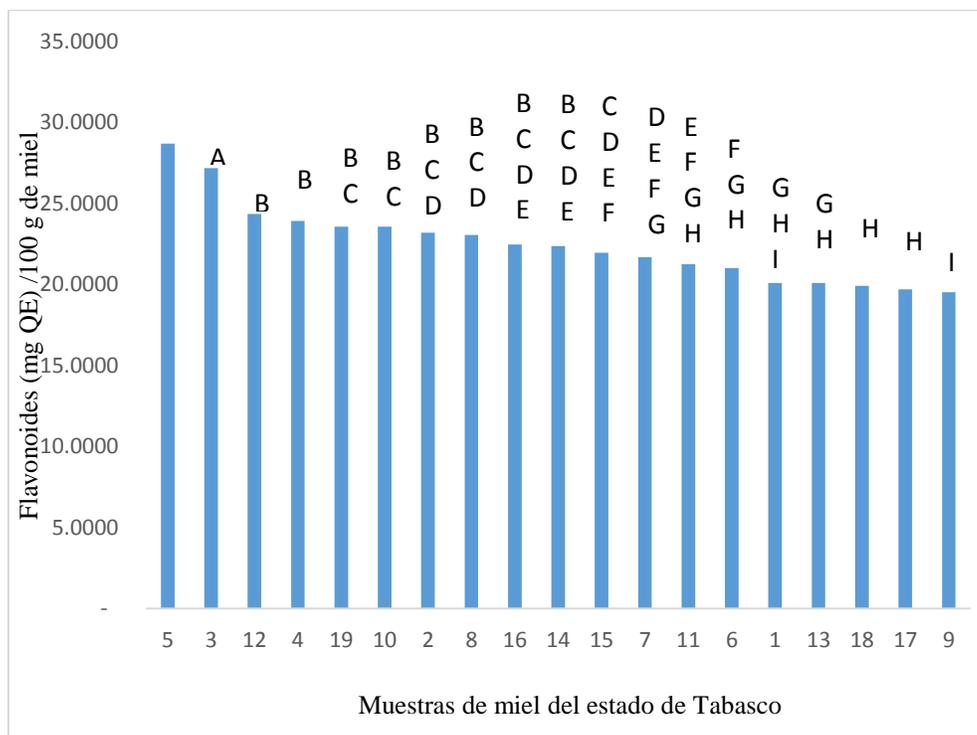


Figura 3. Comparativo de medias de Tukey a $\alpha = 0.05$ de las diferentes mieles del estado de Tabasco

Con respecto a los valores de las variables de color y contenido de compuestos flavonoides obtenidos en esta investigación, presentaron una correlación positiva ($R^2 = 0.8648$), Fig. 4, lo cual es aceptable para investigaciones del área agropecuaria. Vit, *et al* (2008) reportaron un coeficiente de correlación para estas variables de $R^2 = 0.649$ y Ciappini *et al* (2013) $R^2 = 0.93$.

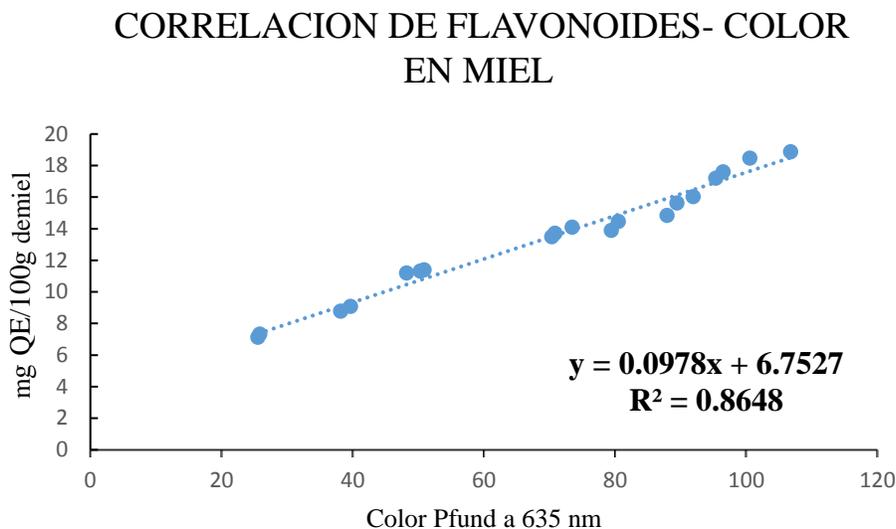


Figura 4. Correlación del contenido de flavonoides y el color obtenido en mieles tabasqueñas

CONCLUSIÓN

La relación entre los valores de color y contenido de compuestos flavonoides en las mieles estudiadas, indica que estos compuestos están directamente relacionados y que a medida que la miel es mas oscura, se incrementa el valor de los flavonoides.

El contenido de flavonoides osciló entre 7.325 y 18.876 mg QE/100 g de miel, correspondiendo a miel blanca del municipio de Cárdenas y miel ámbar para el municipio de Huimanguillo.

Con respecto a los valores de las variables de color y contenido de compuestos flavonoides obtenidos en esta investigación, los datos se ajustan a una correlación lineal positiva ($R^2 = 0.8648$), lo cual es aceptable para investigaciones del área agropecuaria.

Los resultados obtenidos permitieron cumplir con los objetivos planteados, en esta investigación.

BIBLIOGRAFÍA

- Arráz D., Gómez A., Gómez M., Segura A. & Fernández A. (2006). Identificación de compuestos fenólicos en miel de romero mediante extracción en fase sólida por electroforesis capilar de ionización por electrospray-espectrometría de masas. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. (41), 1648-1656.
- Bogdanov S., Ruoff K. & Persano Oddo. (2004). Physico-chemical methods for the characterization of unifloral honey: A review. *Apidologie*. 35, S4-S17
- Cabrera M., Pérez M., Gallez L., Andrada A., Balbarrey G. (2017). Colour, antioxidant capacity, phenolic, and flavonoid content of honey fom the humid Chaco Region Argentina. *International Journal of experimental Botany*. 86, 124-130
- Chang Chia-Chi., Ming-Hua Yang., Hwei-Mei Wen. & Jing-Chuan Chern. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*. 10(3), 178-182.

- Ciappini C. M., Gatti B. M. & Di Vito V. M. (2013). El color como indicador del contenido de flavonoides en miel. *Revista de Ciencia y Tecnología* 15(19), 59-63.
- Córdova C., Ramírez A., Martínez H. & Zaldívar C. (2013). Caracterización Botánica de Miel de Abeja (*Apis mellifera L.*) de cuatro regiones del Estado de Tabasco, México, mediante técnicas Melisopalinológicas. *UNAM. Universidad y Ciencia. Trópico Húmedo.* 29 (1), 163-178.
- Delmoro J., Muñoz D., Nadal V., Clementz A. & Pranzetti V. (2010). El color en los alimentos: Determinación de color en mieles. *Invenio.* 13(25), 145-152.
- Domínguez M. A. (2014). Métodos analíticos para el control de calidad de productos apícolas. Tesis doctoral en Química.
- <http://repositoriodigital.uns.edu.ar/bitstream/123456789/2360/1/TESIS%20DOCTORAL%20Marina%20Dominguez.pdf>. Fecha de acceso 24 de abril 2018
- Escamilla Jiménez I., Cuevas Martínez E., & Guevara Fonseca J. (2009). Flavonoides y sus acciones antioxidantes. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM.* 52(2), 73-75.
- Grajales C., Velázquez A., Rincón R. & Sánchez G. (2013). Caracterización fisicoquímica de mieles de *Apis Mellifera* de tres paisajes forestales de Chiapas. Centro de Biociencias. *Quehacer Científico en Chiapas.* 8(2), 12-17.
- Guerrero Legarreta I., López Hernández E., Armenta López R. & Barrientos García R. (2013). *Pigmentos. En Química de los Alimentos.* Badui D. S., Pearson. México. 5° Ed. 379-427.
- Gutiérrez M. G., Eunice E., Lusco L., Rodríguez- Malaver A., Persano O. L. & Vit P. (2008). Caracterización de mieles de *Melipona beecheii* y *Melipona solani* de Guatemala. *Revista de la Facultad de Farmacia y Bioquímica.* 50(1), 2-6.
- Kaškonienė V., Maruška A. & Kornyšova O. (2009). Quantitative and qualitative determination of phenolic compounds in honey. *Cheminė Technologija. Nr.* 3(52), 74-80.
- López-Hernandez. E., Hernández-Pérez J., Valadez Villarreal A., Corzo Sosa C. A., & López-Naranjo J. I. (2015). Evaluación de la calidad fisicoquímica en miel de abeja *Apis mellifera* procedente del estado de Tabasco. En *Aportaciones al estudio de las ciencias biotecnológicas y alimentarias.* Editado por López Hernández E., Ochoa Flores A. A., Cano Molina G., Pavón Jiménez M. E., & López Naranjo J. I. UJAT. Tabasco. México 1, 146-153
- Moguel Y., Echazarreta C., Mora R. (2005) Calidad Fisicoquímica de la Miel de Abeja *Apis Mellifera* Producida en el Estado de Yucatán Durante Diferentes Etapas del Proceso de Producción y Tipos de Floración. *Técnica Pecuaria en México.* 43(003), 323-324.
- Montenegro G., Santander F., Jara C., Núñez G. & Fredes C. (2013). Actividad antioxidante y antimicrobiana de mieles monoflorales de plantas nativas chilenas. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, Santiago, Chile.* 12(3), 257-268.
- Negueruela I. & Pérez C. (2000). Color Measurement of rosemary honey in the solid state by reflectance spectroscopy with black background. *Journal of AOAC International.* 83(3), 669-674.
- Norma IRAM 15941-2, (2007).
- Orantes B. F., Torres C. C., Serra J. & Kumazawa S., (2007). Capacidad antioxidante y contenido en polifenoles del propóleo en Andalucía. *Vida Apícola.* 142, 41-46.
- Perna A., Simonetti, A., Intaglietta, I. & Gambacorta E.. (2013). Antioxidant properties, polyphenol content and colorimetric characteristics of different floral origin honeys from different areas of Southern Italy. *Journal of Life Sciences.* 7, 428-436
- Quezada-Moreno W., Gallardo I. & Torres M. (2016). El color en la calidad de los edulcorantes de la agroindustria panelera. *Revista de Química teórica y aplicada.* 73 (573) 26-30

- Rajalakshmi P. & Kalaiselvi S. (2010). Effect of sample preparation and TLC methods on the quantitation of quercetin content in asthma weed. *International Journal Of Drug Development And Research*. 2(1), 15-19.
- Terrab A., Escudero M., Gonzalez M. & Heredia F. (2004). Colour characteristics of honeys as influenced by pollen grain content a multivariate study. *Journal Of The Science Of Food and Agriculture*. 84, 380-386.
- Vattuone M., Quiroga E., Sgariglia M., Soberón J., Jaime G., Martínez A., Marta E. & Sampietro D. (2007). Compuestos fenólicos totales, flavonoides, prolina y capacidad captadora de radicales libres de mieles de *Tetragonisca Angustula*. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas (BLACPMA)*. 6(5), 299-300.
- Vela, I., De Lorenzo, C. & Pérez, R. A. (2007). Antioxidant capacity of Spanish honeys and its correlation with some physico-chemical parameters and polyphenolic content. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 87, 1069-1075
- Vit, P., Gutiérrez, M. G., Titera, D., Vendar, M. & Rodríguez Malaver, A. J. (2008). Mieles checas categorizadas según su capacidad antioxidante, *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. 42 (2) 237-24
- Vit P., Gutiérrez M. G., Rodríguez-Malaver J. A., Aguilera G., Fernández-Díaz, C., & Tricio A. E. (2009). Comparación de mieles producidas por la abeja yateí (*Tetragonisca fiebrigi*) en Argentina y Paraguay. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. 43 (2), 219-26