

Capacidad antioxidante de harina de fruto completo de plátano con potencial para elaborar productos nutracéuticos

M.M. Sánchez-Rivera, L.A. Bello-Pérez y O. Patiño-Rodríguez

Departamento de Desarrollo Tecnológico, Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Instituto Politécnico Nacional. labellop@ipn.mx

RESUMEN: Las harinas de fuentes vegetales alternativas y libres de gluten constituyen una fuente innovadora para formular alimentos con propiedades nutraceuticas. La harina de plátano representa una fuente importante de compuestos fenólicos, nutrientes, almidón resistente, fibra dietética, minerales, vitaminas y antioxidantes naturales. Sin embargo, como consecuencia del eficiente manejo postcosecha, se pierden grandes cantidades de plátano durante su comercialización. La piel o cáscara del fruto es el principal subproducto de desecho, y se ha demostrado que podría ser una fuente importante de compuestos bioactivos con gran potencial para uso en alimento humano, por sus carbohidratos, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante (CAO). El objetivo del trabajo consistió en caracterizar harina de fruto completo de plátano (*Musa paradisiaca* L.) en estado inmaduro en cuanto a composición química proximal, contenido de polifenoles extraíbles y no extraíbles, evaluación de la capacidad antioxidante y análisis de metabolitos por LC-MS/MS. La CAO se evaluó por los métodos de ABTS, DPPH y FRAP de polifenoles solubles, taninos condensados, y taninos hidrolizables obtenidos a partir de una extracción secuencial de etanol: agua y acetona:agua. La harina estudiada presentó potencial para aportar nutrientes, carbohidratos no digeribles, y CAO para secuestrar radicales libres, demostrando efectos benéficos para la salud.

Palabras clave: Harina, polifenoles, capacidad antioxidante.

ABSTRACT: Flours from alternative vegetable sources and gluten-free are an innovative source to formulate foods with nutraceutical properties. Platain flour represents an important source of phenolic compounds, nutrients, resistant starch, dietary fiber, minerals, vitamins and natural antioxidants. However, as a result of efficient postharvest handling, large quantities of plantain are lost during its commercialization. The skin or peel of the fruit is the main by-product of waste, and it has been shown that it could be an important source of bioactive compounds with great potential for use in human food, for its carbohydrates, phenolic compounds and antioxidant capacity (AC). The objective of the work consisted in characterizing whole banana flour (*Musa paradisiaca* L.) in an immature state in terms of proximal chemical composition, extractable and non-extractable polyphenol content, evaluation of antioxidant capacity and analysis of metabolites by LC-MS/MS. The AC was evaluated by the ABTS, DPPH and FRAP methods of soluble polyphenols, condensed tannins, and hydrolysable tannins obtained from a sequential extraction of ethanol: water and acetone: water. The studied flour presented potential to provide nutrients, non-digestible carbohydrates, and AC to sequester free radicals, demonstrating beneficial effects for health.

Keywords: Flours, polyphenols, antioxidant capacity.

Área: Desarrollo de nuevos productos

INTRODUCCIÓN

El plátano se consume en estado maduro y como consecuencia del deficiente manejo postcosecha se pierden grandes cantidades durante su comercialización (Juárez-García *et al.*, 2006). Este fruto es una fuente importante de compuestos fenólicos (Passo-Tsamo *et al.*, 2015) y la pulpa además de nutrientes, presenta almidón resistente (AR), fibra dietética, minerales, vitaminas, provitaminas y antioxidantes naturales (Anyasi *et al.*, 2018; Agama-Acevedo *et al.*, 2016; Dong *et al.*, 2016). La piel o cáscara del fruto (alrededor del 35-40% del peso del fruto, b.s), es el principal subproducto de desecho, y se ha demostrado que podría ser una fuente importante de compuestos bioactivos con gran potencial para uso en alimento humano, debido a la presencia de carbohidratos, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante (CAO) (Agama-Acevedo *et al.*, 2016; Fernández-Aquino *et al.*, 2016; Aboul-Enein *et al.*, 2016), con efectos benéficos para la salud (Passo-Tsamo *et al.*, 2015; Aboul-Enein, *et al.*, 2016). Los

compuestos fenólicos poseen un amplio uso terapéuticos, como agentes antioxidantes, antimutagénicos, anticarcinogénicos, con actividad para captar radicales libres (RL), y disminuyen complicaciones cardiovasculares (Shodehinde & Oboh, 2013; Baskar *et al.*, 2011; Segundo *et al.*, 2017; Passo-Tsamo *et al.*, 2015). El fruto inmaduro también ha demostrado alta actividad antidiabética, comparado con un alimento estándar, cuando se incorporó en un alimento para ratas (Eleazu & Okafor, 2015). Por lo que se ha demostrado su potente actividad antioxidant por los compuestos activos que contiene que suprime la formación de RL, protegiendo a las células contra el daño oxidativo (Ovando-Martínez *et al.*, 2008).

Debido a los beneficios que producen los antioxidantes en la salud, en los últimos años se ha promovido el consumo de alimentos que contengan constituyentes con propiedades antioxidantes, porque se ha observado una relación positiva entre su consumo y la baja incidencia de enfermedades como el cáncer, enfermedad atribuida a un desequilibrio entre la producción de RL y la capacidad del propio organismo para secuestrarlos. Los compuestos fenólicos son reportados por los nutricionistas como componentes benéficos de alimentos funcionales (Dong *et al.*, 2016; Baskar *et al.*, 2011) y por su CAO, son de interés desde un punto de vista tecnológico y nutricional (Berra *et al.*, 1995). Por otra parte, la harina de trigo ampliamente utilizada como materia prima en la industria alimentaria, por sus proteínas de reserva (prolaminas y gluteninas) con funcionalidad tecnológica (Pérez, 2003); sin embargo, desde 1950, se ha identificado que las prolaminas de los cereales de trigo, cebada, centeno, triticale y avena, están relacionadas con la enfermedad celíaca, patología, descrita como una enteropatía autoinmune, que afecta el intestino delgado, atrofiando las vellosidades de la mucosa y generando mala absorción de los nutrientes, siendo este uno de los principales motivos para impulsar el desarrollo de productos libres de gluten (Thompson, 2009). El objetivo de la presente investigación consistió en evaluar harina de plátano (*Musa paradisiaca L.*) (pulpa y cáscara) en estado inmaduro, y determinar su composición química, CAO de compuestos fenólicos e identificación de metabolitos por LC-MS/MS. Se encontró que la harina presenta carbohidratos indigeribles de importancia para la salud, así como compuestos fenólicos con CAO y metabolitos con actividades farmacológicas, por lo que podría ser utilizada como un ingrediente en matrices alimenticias con propiedades nutracéuticas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se obtuvo harina de plátano (*Musa paradisiaca L.*) completo en estado inmaduro (Ovando-Martínez *et al.*, 2009). Se obtuvo la harina (Ovando-Martínez *et al.*, 2009) con pequeñas modificaciones. Los frutos lavados y sin los extremos anterior y posterior, se hicieron en rodajas se dejaron en ácido cítrico al 0.3 % w/v, se secaron a 45 °C por 72 horas. Las rodajas secas se molieron en un molino de turbina (INMIMEX, M200, México), el polvo se tamizó con una zaranda (RWU, *Testing Equipment*) y se pasó en malla No. 50 (U.S.A *Standard Test Sieve*, ASTM, E-11 *Specification*). Se determinó almidón total (AACC, 2000), almidón resistente (AOAC, 2002) con kit enzimático de Megazyme® y almidón disponible (Holm *et al.*, 1986).

Extracción de compuestos fenólicos (Saura-Calixto & Goñi, 2006). Se realizó una extracción secuencia de etanol-agua (50:50 v/v), y acetona:agua (70:30 v/v). La extracción de taninos condensados, se obtuvieron por hidrólisis ácida (Hartzfeld *et al.*, 2002) con ácido sulfúrico-agua (9:1) por 20 h a 85 °C y los taninos solubles con n-butanol/HCl (95:5, v/v) y cloruro férrico (FeCl₃.7H₂O 20 mM.) a 100 °C/3 horas (Reed *et al.*, 1982). Los fenoles solubles (extraíbles) y taninos condenados se cuantificaron por el método de Folin-Ciocalteau (Singleton *et al.*, 1999), utilizando ácido gálico (AG) (Sigma-Aldrich) como estándar y los taninos solubles con una curva patrón de cianidrina-3-glucósido.

Capacidad antioxidant

Métodos de DPPH (Brand-Williams *et al.*, 1995) a partir de una solución madre de DPPH (1-1-difenil-2-picrilhidrazilo), y 16 min de reacción, a 517 nm en un espectrofotómetro ultravioleta-visible. La curva de calibración se hizo con Trolox a diferentes concentraciones. Los resultados se expresaron

como porcentaje de decoloración de DPPH• con la siguiente ecuación: % inhibición de DPPH• = (Abs._{final}-Abs. _{inicial}) / Abs. _{inicial} *100; donde Abs._{final}= absorbancia a 517 nm a los 16 minutos; Abs._{inicial}= absorbancia a 517 nm a tiempo 0.

Método ABTS (Re *et al.*, 1999), haciendo reaccionar el ABTS (2,2'-azino-bis-(3-etylbenzotiazolina ácido-6-sulfónico) 7 mM con persulfato de potasio 2.45 mM en ausencia de luz durante 16 h y diluido en etanol hasta una absorbancia de 0.700±0.200 a 734 nm en un espectrofotómetro ultravioleta-visible, al minuto 0 y al 6. Se utilizó la curva de Trolox y la ecuación utilizados para DPPH.

Método FRAP (Benzie & Strain, 1996). La solución de trabajo se preparó con 10 mM de TPTZ (tripiridil-s-triazina) en HCl (40 mM) y una solución de cloruro férrico 20 mM en agua, adicionando regulador de acetato 0.3 M (pH 3.6) (10:1:1), a 6 minutos de reacción y a una absorbancia de 593 nm en un espectrofotómetro UV/visible. Se utilizó una curva de Trolox como estándar. Los resultados se expresaron en g Trolox /100 g de extracto seco (ms).

Análisis de metabolitos por LC-MS/MS

El medio de extracción fue etanólica (Patiño-Rodríguez *et al.*, 2018), se utilizó un micrOTOF-Q (Bruker®) en modo de ionización positiva ESI, el rango de masas fue 50-3000 m/z, la fase móvil (5% de ácido fórmico-agua desionizada) (solv. A) y metanol (solv. B) y columna C-18 calentada a 40 °C, y el enfriador del inyector automático ajustada a 8 °C fueron usados. La identificación se realizó con la base de datos (MassBank: <http://www.Massbank.jp, mzCloud: https://www.mzcloud.org/>).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla I, se muestra la composición química de la harina de plátano con cáscara (HPCC), que presentó contenido de proteína similar al reportado por Becerra *et al.*, (2013), para harinas de plátano verde con cáscara y sin cáscara (4.1% y 4.3%, respectivamente), así como el de lípidos (0.45% y 0.70%, respectivamente) y cenizas (1.08% y 2.72%, respectivamente). Flores-Silva *et al.*, (2014) reportaron en harina de plátano (*M. paradisiaca* L.) en estado verde, 2.39% de cenizas, atribuido al alto nivel de potasio presente en el fruto. El alto contenido de almidón total (AT) encontrado en la HPCC, muestra que esta harina es una fuente importante de almidón. Flores-Silva *et al.*, (2014), reportaron 80.8% AT, 76.8% fue reportado por Rodríguez-Ambriz *et al.*, 2008 y 77% por Faisan *et al.*, 1995. Además, el plátano representa un alimento con alto contenido de AR, como se encontró en este estudio, mayor al reportado por Flores-Silva *et al.*, (2014) de 38.3%, atribuido al estado de madurez del fruto, demostrando que el plátano inmaduro representa una fuente de carbohidratos no digeribles de importancia para la salud. El AR se caracterizan por su bajo contenido calórico con efectos fisiológicos similares a la fibra dietaria (Delcour & Erlingen, 1996). Becerra *et al.*, (2013), reportaron AR en harinas de plátano con cáscara y sin cáscara de 40.1 y 33.9%, respectivamente. En cuanto al almidón disponible (AD), este fue menor al AT y AR, bajos niveles de AD es una característica nutraceútica deseable en productos alimenticios libres de gluten, y podría estar relacionado con niveles bajos de glucosa en sangre postprandial (Flores-Silva *et al.*, 2014).

Tabla I. Composición química (%) y contenido de compuestos fenólicos (mg EAG/100 g) en harina de plátano verde con cáscara.

Proteína	4.00 ± 0.00
Lípidos	1.04 ± 0.06
Cenizas	3.25 ± 0.02
Almidón total	76.89 ± 0.52
Almidón resistente	56.44±0.15
Almidón disponible	20.45±0.31
Polifenoles	119.32±2.27
Taninos solubles	117.67±9.37

Tabla II. Capacidad actividad antioxidante por los métodos ABTS y DPPH (%) y FRAP (mg Trox. /100 g) de harina de plátano verde con cáscara.

PF-ABTS	47.08±1.52
PF-DPPH	53.25±0.79
PF-FRAP	1619.43±29.5
TS-ABTS	6.90±0.70
TS-DPPH	39.22±2.29
TS-FRAP	227.58±43.21
TC-ABTS	15.71±0.14
TC-DPPH	87.42±1.53

Taninos condensados	0.492±0.048	TC-FRAP	311.34±8.16
---------------------	-------------	---------	-------------

En cuanto al contenido de polifenoles (Tabla I), los taninos solubles (TS) y polifenoles (PF), presentaron valores muy cercanos entre sí, a diferencia de los taninos condensados (TC). Sin embargo, los TC presentaron mayor CAO que los TS (Ovando-Martínez *et al.*, 2008), responsables del sabor astringente (proantocianidinas) en el plátano verde, y en la pulpa se encuentran como catequinas y galocatequinas (Ovando-Martínez *et al.*, 2008). Con el método de DPPH, se observó mayor CAO que con el método de ABTS, demostrando que los compuestos fenólicos de la HPCC presentaron mayor capacidad de captar estos RL; mientras que con el método FRAP, los PF mostraron mayor CAO para reducir iones Fe⁺² que los TS o los TC. Someya *et al.*, (2002) reportaron compuestos antioxidantes en plátano (*Musa cavendish*), como galocatequina, antioxidante abundante en la cáscara (158 mg/100 g de ms) más que en la pulpa (29.6 mg/100 g de ms). Los polifenoles se caracterizan por no ser accesibles en el intestino delgado, sino que llegan al colon, donde podrían ser fermentados, proporcionando un medio ambiente antioxidante en el tramo final del tracto digestivo (Saura-Calixto *et al.*, 2007). Algunos de los metabolitos encontrados en la HPCC, fueron la naringina, fenilacetilglutamina, hesperidina y rutina con propiedades nutracéuticas bien documentadas, como la miricetina, relacionado estructuralmente con compuestos fenólicos con propiedades antioxidantes (Kumar-Semwal *et al.*, 2016), y variedad de actividades farmacológicas (antiinflamatorio, analgésicos, antitumorales, actividades hepatoprotectoras y antidiabéticas) (Ong *et al.*, 1997). La naringina, flavonoide con actividades farmacológicas (Ng *et al.*, 1996), CAO (Jeon *et al.*, 2001), efecto reductor de lípidos (Jung *et al.*, 2006), citotóxico (Kanno *et al.* 2004), antiinflamatorio (Amaro *et al.*, 2009) y actividad hepatoprotectora (Pari *et al.*, 2011). La hesperidina, una flavonona, con propiedades antialergénicas, anticancerígenas, antihipotensivas, antimicrobianas y vasodilatadoras (Garg *et al.*, 2001). La rutina, con amplia gama de propiedades farmacológicas, explotado en la medicina y nutrición humana, y como agente antimicrobiano, antifúngico y antialérgico (Al-Dhabi *et al.*, 2015).

CONCLUSIÓN

La HPCC resulta de interés en términos de nutrientes esenciales, AR, compuestos fenólicos, CAO y libre de gluten que podría ser utilizada como ingrediente novedoso para el desarrollo de alimentos funcionales con efectos nutracéuticos.

BIBLIOGRAFÍA

- Aboul-Enein, *et al.* 2016. Identification of phenolic compounds from banana peel (*Musa paradaisica* L.) as antioxidant and antimicrobial agents. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 8(4):46-55.
- Agama-Acevedo, E., *et al.* 2016. Potential of plantain peels flour (*Musa paradisiaca* L.) as a source of dietary fiber and antioxidant compound. *CyTA-Journal of Food*, 14(1):117-123. DOI: 10.1080/19476337.2015.1055306
- Al-Dhabi N. A., *et al.* 2015. An up-to-date review of rutin and its biological and pharmacological activities. *EXCLI J.* 14: 59–63.
- Amaro M. I., *et al.* 2009. Anti-inflammatory activity of naringin and the biosynthesis naringenin by naringinase immobilized in microstructured materials in a model of DSS-induced colitis in mice. *Food Research International*. 42-8:1010-1017.
- Anyasi, T.A., *et al.* 2018. Phenolics and essential mineral profile of organic acid preteated unripe banana flour. *Food Research International*, 104:100-109.
- Baskar, R., *et al.* 2011. FNS Antioxidant potential of peel extracts of banana varieties (*Musa sapientum*). *Food and Nutrition Sciences*, 2:1128-1133. doi:10.4236/fns.2011.210151.
- Becerra-Vieira, C., *et al.* 2013. Nutritional potential of Green banana flour obtained by drying in spouted bed. *Revista Brasileira de fruticultura Jaboticabal*, 35(4), 140-1146.
- Berra, B., *et al.* 1995. Antioxidant properties of minor polar components of olive oil on the oxidative processes of cholesterol in human LDL. *Rivista Italiana Delle Sostanza Grasse*, 72, 285- 291.
- Benzie, I.F. & Strain, J.J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239 (1): 70-6.

- Brand-Williams, *et al.* 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 28: 25-30.
- Delcour, J.A., & Erlingen, R.C. 1996. Analytical implication on the classification of resistant starch as dietary fiber. *Cereal Foods World*, 41, 85-86.
- Dong, Ch., *et al.* 2016. Metabolism of flavonoids of flavonoids in novel banana germplasm during fruit development. *Front Plant Sci.* 7: 1291 doi: [10.3389/fpls.2016.01291](https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01291)
- Eleazu, Ch.O. & Okafor, P. 2015. Use of unripe plantain (*Musa paradisiaca*) in the management of diabetes and hepatic dysfunction in streptozotocin induced diabetes in rats. *Interventional Medicine & Applied Science*, 7 (1): 9-16.
- Faisant, N., *et al.* 1995. Banana starch breakdown in the human small intestine studied by electron microscopy. *European Journal of Clinical Nutrition*, 49, 98-104.
- Fernández-Aquino, C., *et al.* 2016. Carbohydrates, phenolic compounds and antioxidant activity in pulp and peel of 15 banana cultivars. *Rev. Bras. Frutic. Jaboticabal*, 38(4): <http://dx.doi.org/10.1590/0100-29452016090>
- Flores-Silva, P., *et al.* 2014. Gluten-free spaghetti made with chickpea, unripe plantain and maize flours: functional and chemical properties and starch digestibility. *International Journal of Food Science and Technology*, 49, 1985-1991.
- Garg A., *et al.* 2001. Chemistry and pharmacology of the citrus bioflavonoid hesperidin. *Phytother. Res.* 15: 655-669.
- Hartzfeld, *et al.* 2002. Determination of hydrolysable tannins (gallotannins and ellagitannins) after reaction with potassium iodate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 1785-90.
- Holm, J., *et al.* 1985. Starch availability *in vitro* and *in vivo* after flaking, steam-cooking and popping of wheat. *Journal of Cereals Science*, 3, 193-206.
- Juárez-Bernal, B. S. 2014. Evaluación de la capacidad antioxidante de extractos acuosos y etanólicos de diversas variedades de maíz del Estado de México, sobre ABTS^{•+} y peróxido de hidrógeno como especie reactiva de oxígeno. Universidad del Estado de México, Toluca, México.
- Jeon S. M., *et al.* 2001. Antioxidant activity of naringin and lovastatin in high cholesterol-fed rabbits. *Life Sci.* 69:2855-2866.
- Jung U. J., *et al.* 2006. Effect of citrus flavonoids on lipid metabolism and glucose-regulating enzyme mRNA levels in type-2 diabetic mice. *Intl J Biochem Cell Biol.* 38:1134-1145.
- Kanno S., *et al.* 2004. Effects of naringin on cytosine arabinoside (Ara-C)-induced cytotoxicity and apoptosis in P388 cells. *Life Sci.* 75: 353-365.
- Kumar-Semwal D., *et al.* 2016. Myricetin: A Dietary Molecule with Diverse Biological Activities. *Nutrients*. 8, 90: 1-31.
- Ng T.B., *et al.* 1996. Examination of coumarins, flavonoids and polysaccharopeptide for antibacterial activity. *Gen. Pharmacol.* 27: 1237-1240.
- Ong, K.C. & Khoo, H.E. 1997. Biological effects of myricetin. *Gen. Pharmacol.* 29, 121-126.
- Ovando-Martínez, M., *et al.* 2008. Banana flour ingredient increase the undigestible carbohydrates to pasta. ISEKI_FOOD 2008- Bridging Training and Research for Industry and the Wider Community- 1st International ISEKI FOOD Conference, Porto, Portugal, 10th-12th September.T2/P1, Pg 73.
- Ovando-Martinez, M., *et al.* 2009. Unripe banana flour as an ingredient to increase the undigestible carbohydrates of pasta. *Food Chemistry*, 113, 121-126.
- Pari L., & Amudha K. 2011. Hepatoprotective role of naringin on nickel-induced toxicity in male Wistar rats. *European Journal of Pharmacology*.650: 364-370.
- Passo-Tsamo, C.V., *et al.* 2015. Phenolic profiling in the pulp and peel of nine plantain cultivars (*Musa* sp.). *Food Chemistry*, 167: 197-204.
- Patiño-Rodríguez, O., *et al.* 2018. Physicochemical properties and metabolomic profile of gluten-free spaghetti prepared with unripe plantain flours. *LWT-Food Science and Technology*, 90:297-302.
- Perez, O. 2003. Influencia de las mezclas de harina de trigo (*Triticum vulgare*) y chachafruto (*Erythrina edulis trianae*), en la composición y las características organolépticas del pan. Tesis. Facultad de Ingeniería Agroindustrial. Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira.
- Re, R., *et al.* 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*. 26 (9-10): 1231-7
- Reed, J., *et al.* 1982. Condensed tannins: a factor limiting the use of cassava forage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 33: 213-220.
- Rodríguez-Ambriz, S.L., *et al.* 2008. Characterization of a fibre-rich power prepared by liquefaction of unripe banana flour. *Food chemistry*, 107, 1515-1521.

- Saura-Calixto, F. & Goñi, I. 2006. Antioxidant capacity of the Spanish Mediterranean diet. *Food Chemistry*, 94: 442-47
- Saura-Calixto, F., et al. 2007. Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chemistry*, 101, 2: 492-501
- Segundo, C., et al. 2017. Mechanically fractionated flour isolated from green bananas (*M. cavendishii* var. *nanica*) as a tool to increase the dietary fiber and phytochemical bioactivity of layer and sponge cakes. *Food Chem* 219:240-248
- Shodehinde, S.A. & Oboh, G. 2014. Distribution and antioxidant activity of polyphenols in boiled unripe plantain (*Musa paradisiaca*) pulps. *Journal of Food Biochemistry*, 38: 293–299.
- Singleton, V. L., et al. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteau reagent. *Methods of Enzymology*, 299: 152-178
- Someya, S., et al. 2002. Antioxidant compounds from banana (*Musa Cavendish*). *Food Chemistry* 79: 351-354.
- Thompson, T. 2009. The Nutritional Quality of Gluten-Free Foods. In: Gluten-Free Food Science and Technology. Eimear Gallagher (Editor). United Kingdom. Wiley-Blackwell Publishing. (2009). ISBN: 978-1-405-15915-9. 42-43 pp.