

DONNEES MORPHOMETRIQUES BIOCHIMIQUES ET PHYSICOCHIMIQUES DU POIVRE SAUVAGE (*Piper guineense* ; PIPERACEAE) DE LA FORET GABONAISE

[MORPHOMETRIC BIOCHEMICAL AND PHYSICOCHEMICAL DATA OF WILD PEPPER (*Piper guineense*; PIPERACEAE) OF THE GABONES FOREST]

Alexis Nicaise LEPENGUE¹, Stéphane MOMBO¹, Aurélien MOKEA-NIATY¹, Bert Davis MBOUNGOU MBADOU MOU¹, Dhert Souviens Tshi-Tshi ONTOD¹, Ephrem NZENGUE¹, Alain SOUZA², and Bertrand MBATCHI¹

¹Laboratoire des Phyto-alicaments, Département de Biologie, Université des Sciences et Techniques de Masuku (USTM), Franceville, Gabon

²Laboratoire de Physiologie Animale-Pharmacologie, Département de Biologie, Université des Sciences et Techniques de Masuku (USTM), Franceville, Gabon

Copyright © 2019 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: Gabon contains the richest and most diverse forest block in the Congo Basin. More than 50 non-timber forest products are listed. Despite this natural advantage, Gabon continues to import many forest products, including spices. The present work was initiated to study some morphometric, physicochemical and biochemical characteristics of a species of local wild pepper (*Piper guineense*), in order to domesticate and commercialize it. The results obtained showed that the leaves of this pepper had average leaf area of 106.71 cm². These organs contained 87.57% moisture content, 17.13% dry matter and 3.4% crude ash. At the biochemical level, the wild pepper leaves of Gabon contain 26.04 g/ 100 g of protein DM, 21.48 g/ 100 g of total sugar DM and 244 g/ 100 g of chlorophyll Pigment FM. This plant is also rich in polyphenols (0.6 g/ 100 g DM) and ascorbic acid (3.58 g/ 100 g DM). It is not very pungent and contains only one (1) digital unit of Scoville. All these physicochemical and biochemical characteristics bring this morphotype closer to other types of pepper imported from Central America or Asia. Gabon's wild pepper can therefore be domesticated and marketed to reduce the country's food dependency.

KEYWORDS: *Piper guineense*; Forest; Gabon; Biochemistry; Nutrition; Domestication.

RÉSUMÉ: Le Gabon renferme le bloc forestier le plus riche et le plus diversifié de tout le bassin du Congo. Plus de 50 produits forestiers non ligneux y sont recensés. Malgré cet avantage naturel, le Gabon continue à importer de nombreux produits forestiers, notamment les épices. Le présent travail a été initié pour étudier quelques caractéristiques morphométriques, physicochimiques et biochimiques d'une espèce de poivre sauvage local (*Piper guineense*), en vue de la domestiquer et la commercialiser. Les résultats obtenus ont montré que les feuilles de ce poivre avaient des surfaces foliaires moyennes de 106,71 cm². Ces organes renfermaient 87,57% de teneur hydrique, 17,13% de matières sèches et 3,4% de cendres brutes. Au niveau biochimique, les feuilles du poivre sauvage du Gabon contiennent 26,04 g/100 g de MS de protéines, 21,48 g/100 g de MS de sucres totaux et 244 g/100 g de MF de pigments chlorophylliens. Cette plante est également riche en polyphénols (0,6 g/100 g de MS) et en acide ascorbique (3,58 g/100 g de MS). Il est peu piquant et ne renferme qu'une (1) unité numérique de Scoville. Toutes ces caractéristiques physicochimiques et biochimiques rapprochent ce morphotype des autres types de poivre importés d'Amérique Centrale ou d'Asie. Le poivre sauvage du Gabon peut donc être domestiqué et commercialisé pour réduire la dépendance alimentaire du pays vis-à-vis de l'extérieur.

MOTS-CLEFS: *Piper guineense*; Forêt; Gabon; Biochimie; Nutrition; Domestication.

1 INTRODUCTION

La forêt gabonaise fait partie des zones équatoriales sempervirentes du Bassin du Congo qui regroupe plus de 10 pays d'Afrique Centrale et constitue le second bloc forestier mondial après l'Amazonie. Il couvre plus de 20% des forêts tropicales, devant le massif forestier Sud-asiatique [1].

La forêt gabonaise ne représente que moins de 1% de la superficie totale du Bassin du Congo, mais constitue l'une des zones les plus riches et les diversifiées en espèces floristiques et faunistiques. Le Gabon compte, en effet, parmi les pays à fort taux d'endémisme floristique au monde [2]. Parmi ces espèces, on y rencontre de nombreux produits forestiers non ligneux (PNLF), dont au moins 24 unités d'origine végétale. Les PNLF constituent une véritable source alimentaire et économique des populations rurales voire urbaines du pays. Ils sont destinés à l'autoconsommation, après cueillette ou transformation préalable. Ils représentent à ce titre des moyens efficaces de lutte contre la pauvreté [3].

Le poivre sauvage (*Piper guineense* Schumach & Tonn ; Piperaceae) fait partie de ces nombreux produits forestiers non ligneux rencontrés dans toutes les 9 provinces du Gabon. C'est une plante grimpante, volubile et épicée, pouvant dépasser 10 m de longueur, dont les fruits de couleurs rouge ou orangée à maturité, sont consommés pour leur profil aromatique, et leur goût légèrement piquant [4]. Les feuilles de cette plante, découpées très finement ou pilées sont également utilisées comme légume dans la conception des mets locaux. Mais contrairement aux autres espèces de ce genre (*Piper umbellatum*, *P. nigrum*...) étudiées dans différentes zones tropicales [5], le morphotype *Piper guineense* du Gabon n'a, à notre connaissance jamais été étudié. Les quelques données disponibles sur cette plante ne concernent que les aspects de délimitation géographique ou de répartition écologique, et ne renseignent aucunement sur les potentialités alimentaires du végétal. C'est pour répondre à cette préoccupation que le présent travail a été réalisé. Il vise à déterminer la richesse alimentaire de cette plante par l'analyse de quelques-unes de ses caractéristiques morphométriques, biochimiques et physicochimiques. L'hypothèse d'étude suggère que *Piper guineense* du Gabon contient plusieurs potentialités nutritionnelles pour être domestiqué et servir à la consommation et la commercialisation à grande échelle. La réalisation de ce projet devrait aboutir à la réduction des importations de différents types de poivre (de Cayenne, d'Asie, d'Océanie...), assurer l'autosuffisance alimentaire en épices, et rééquilibrer la balance commerciale déficitaire aujourd'hui dans ce domaine.

2 MATERIEL ET METHODES

2.1 MATERIEL

Le matériel végétal est constitué du poivre sauvage du Gabon (*Piper guineense* Schumach & Tonn ; Piperaceae). C'est une plante lianescente volubile grimpante, rencontrée en pleine forêt gabonaise. Les feuilles de cette plante ont été récoltées dans les forêts denses de la région de Bakoumba (01°82'10''S ; 13°00'09''E), au Sud-Est du Gabon.

2.2 METHODES

2.2.1 ETUDE DES PARAMÈTRES MORPHOMÉTRIQUES ET PHYSICO-CHIMIQUES

Après la récolte en forêt, les échantillons de plantes ont été transportés au laboratoire pour être rincés avec de l'eau de robinet [6]. Ils ont été desséchés au papier buvard, et les longueurs et largeurs de 100 unités foliaires mesurées à l'aide d'une règle graduée. Après avoir déterminé leur masse fraîche par pesée (balance, Ohaus Analytic 60 ; USA), les feuilles ont été séchées à l'étuve (JP Selecta 96 ; Spain) pendant 5 jours à la température fixe de 60 °C [7]. La masse sèche de chaque organe a été mesurée par pesée. Les cendres brutes ont été obtenues par incinération de 50 g de matière sèche dans un four de calcination (Nabertherm-3000 °C ; Germany) pendant 5h à la température de 600 °C [6]. Les teneurs en eau et en cendres brutes ont été calculées suivant les méthodes proposées par Lépengué *et al* [8].

2.2.2 ANALYSE DES PARAMÈTRES BIOCHIMIQUES

- Dosage des glucides

Pour extraire les sucres totaux, 1 g de matière sèche a été broyé dans 10 ml de méthanol 90 % [7]. La solution a ensuite été purifiée par addition de 2 ml d'acétate de plomb 10% et neutralisée avec 2 ml d'acide oxalique 10% [7]. Après évaporation sur un bain de sable chauffant, les composés glucidiques ont été dosés par la méthode au phénol sulfurique par

spectrophotométrie UV-Visible (Unico 1100, UK) à la longueur d'onde de 490 nm [6]. Un (1) ml d'extrait glucidique a été utilisé, et la courbe étalon réalisée à partir d'une solution-mère de glucose concentrée à 1 mg/ml.

- Dosage des protéines

L'extraction des protéines a été réalisée par broyage de 1 g de matière sèche dans 10 ml de tampon phosphate pH 6,8 en présence de 0,2 g de PVP [6]. Le broyat a été centrifugé pendant 10 minutes à 5000 rpm, et les solutions obtenues dosées au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 470 nm, par les techniques colorimétriques de Folin-Ciocalteu [8]. Un (1) ml d'extrait protéique a été utilisé, et la droite étalon établie à partir d'une solution-mère de BSA de concentration 1 mg/ml [6].

- Dosage de l'acide ascorbique (vitamine C)

L'acide ascorbique des feuilles de *Piper guineense* a été extrait par broyage de 100 g de matière sèche dans 100 ml d'eau distillée, à l'aide d'un mixer (Waring Blendor 1L, Italy) pendant 10 minutes à la vitesse de 20 000 rpm [9]. Après deux filtrations successives du broyat sur papier wathmann n°2 et sur un filtre millipore de 0,22 µm de diamètre, le filtrat a été dosé par les techniques iodométriques, en utilisant 5 ml d'extrait liquide [7].

- Dosage des polyphénols

Pour extraire les composés phénoliques, 10 g de matière séchée de *Piper guineense* ont été broyés dans un mortier avec 20 ml de méthanol 70° et une pince de Polyclar T, et de sable de Fontainebleau [10]. Après 24 h d'incubation à l'obscurité et au frais (4 °C), les préparations ont été centrifugées pendant 30 minutes à 15000 [10]. Les teneurs phénoliques ont été déterminées par les techniques colorimétriques de Folin et Ciocalteu [8]. Le spectrophotomètre a été calibré à la longueur d'onde de 470 nm, en utilisant 1 ml de solution phénolique standard, pour la droite étalon.

- Dosage des chlorophylles totales

Les chlorophylles totales ont été dosées sur des organes frais, par enregistrement direct des valeurs à l'aide d'un appareil numérique de type Chlorophyll-meter (AtLeaf+, 0131 ; USA). Le principe de fonctionnement de cet appareil repose sur une technique non intrusive d'émissions des radiations infrarouges traversant les organes frais, sans endommagement [11].

- Mesure du caractère piquant de *Piper guineense*

Le caractère piquant a été déterminée en utilisant les techniques décrites par Scoville [12]. Pour cela 10 g de matière sèche de *Piper guineense* ont été broyés dans 10 ml d'eau distillée et filtrés sur un papier Wathmann n° 2 [10]. Un (1) ml de cette solution a été dilué par addition de 9 ml de saccharose dans un tube à essai. Après des dilutions successives, une série de 10 tubes à essai, avec des solutions de dilutions comprises entre 1 et 10⁻¹⁰ a été réalisée. Dix (10) dégustateurs professionnels ont été sollicités pour déterminer la limite de disparition de la saveur piquante de *Piper guineense* entre les 10 solutions.

3 RESULTATS

3.1 CARACTÉRISTIQUES MORPHOMÉTRIQUES ET PHYSICOCHIMIQUES DES FEUILLES DE *PIPER GUINEENSE*

Les résultats de cette étude ont montré que les feuilles de *Piper guineense* avaient des longueurs moyennes de 13,24 cm et des largeurs de 8,06 cm, correspondant à des surfaces médianes de 106,71 cm² (Tableau 1). Elles pesaient en moyenne 137,84 g et renfermaient de grandes quantités d'eau (120,71 g, soit 87,57% de la matière fraîche). Les matières sèches de ces feuilles ne représentaient donc que 17,13 g des masses foliaires fraîches de cette plante. Au niveau physicochimique, les feuilles de *Piper guineense* ont donné des masses de 0,59 g, autrement dit des teneurs en cendres brutes équivalant à 3,48% de matière sèche des organes.

Tableau 1. Valeurs de quelques paramètres morphométriques et physico-chimiques des feuilles de *Piper guineense* récoltées dans les forêts de Bakoumba au Sud-Est du Gabon

	Paramètres morphométriques et physicochimiques de <i>Piper guineense</i>						
	Longueur (cm)	Largeur (cm)	Surface foliaire (cm ²)	Cendres (% de MS)	Matières fraîches (g)	Matières sèches (g)	Teneur en eau (% de MF)
Valeurs numériques moyennes	13,24±1,2	8,06±2;1	106,71±3,1	3,48±0,9	137,84±3,6	17,13±1,5	87,57±1,4

3.2 CARACTÉRISTIQUES BIOCHIMIQUES DES FEUILLES DE *PIPER GUINEENSE*

Les analyses biochimiques des constituants de la matière ont montré que les feuilles de *Piper guineense* renfermaient des teneurs moyennes de 20,06 g/100 g de MS de protéines, et de 21,48 g/100 g de MS de glucides (Tableau 2). Les études pigmentaires ont révélé que ces feuilles contenaient des concentrations de 244,05 g/100 g de MF de chlorophylles totales. Les teneurs des polyphénols et de la vitamine C ont respectivement été évaluées à 0,62 g/100 g de MS et 3,58 g/100 g de MS. Au niveau de la saveur, les feuilles de cette plante ont présenté un goût légèrement piquant, de valeur égale à 1 unité Scoville.

Tableau 2. Valeurs numériques de quelques paramètres biochimiques des feuilles de *Piper guineense* récoltées dans les forêts de Bakoumba au Sud-Est du Gabon

Paramètres mesurés	Paramètres biochimiques de <i>Piper guineense</i>					
	Protéines (g/100 g de MS)	Glucides (g/100 g de MS)	Polyphénols (g/100 g de MS)	Chlorophylles totales (g/100 g de MF)	Vitamine C (g/100 g de MS)	Force Scoville (US)
Valeurs numériques moyennes	26,04±1,9	21,48±2,7	0,62±0,1	244±3,8	3,58±1,1	1,00±0,2

4 DISCUSSION

Les résultats de cette étude ont montré que les feuilles de *Piper guineense* étaient très riches en molécules d'eau (87,57%). Ces résultats sont en accord avec de nombreux travaux menés sur les plantes des forêts équatoriales qui leur attribuent des taux d'humidité relativement élevés [13]. C'est le cas des feuilles d'oseille (*Hibiscus sabdariffa*; Malvaceae) de niébé (*Vigna unguiculata*; Fabaceae) ou de la corète potagère (*Corchorus olithorus*; Tiliaceae), qui présentent des teneurs hydriques supérieures à 80% [14]. Ces résultats corroborent ceux de Mouganga [15] qui a rapporté que *Piper guineense* avait des taux d'humidité moyens de 80,6%, en République Démocratique du Congo (RDC). Ces teneurs sont en revanche supérieures à celles rapportées par Tchiégang et Tiktil [14] sur une espèce apparentée, *Piper umbellatum* (73,6%) au Cameroun.

Les valeurs élevées en cendres brutes (3,48%) laissent suggérer l'existence de nombreux éléments minéraux (macroéléments et oligoéléments) variés, intéressant en nutrition humaine ou animale [16]. Ces résultats sont assez proches de ceux rapportés par Mouganga [15] sur *Piper guineense* (14,5%) en République Démocratique du Congo.

Les analyses biochimiques de constituants de la matière ont révélé que les feuilles de *Piper guineense* contenaient 26,04 g/100g de MS de protéines et 21,48 g/100 g de MS de glucides. Les valeurs protéiques indiquent que cette plante a un fort potentiel en composés protéiques fonctionnels et structuraux, comparativement aux nombreuses autres plantes alimentaires telles que *Moringa oleifera* (23,93 g/100 g de MS), *Hibiscus sabdariffa* (18,39 g/100 g de MS) ou *Cerathotheca sesamoides* (25,25 g/100 g de MS) [14]. Ces valeurs sont cependant inférieures à celles rapportées par Tchatchambe [17] sur *Piper umbellatum* (30,9 g/100 g de MS) au Cameroun.

Les valeurs en glucides (21,48 g/100 g de MS) des feuilles de *Piper guineense* sont relativement faibles en comparaison à celles des feuilles des plantes amylacées à fort potentiel énergétique telles que le manioc (*Manihot esculenta*; Euphorbiaceae), la patate douce (*Ipomoea batatas*; Convolvulaceae) ou l'igname (*Dioscorea alata*; Dioscoreaceae), présentant des teneurs supérieures à 100 g/100 g de MS [18]. Cette plante paraît en revanche intéressante en formulation alimentaire dans le cadre de la prise en charge et le suivi des régimes antidiabétiques ou de gestion de la glycémie. Les valeurs glucidiques de cette plante sont proches de celles rapportées (0,56 g/100 g de MS) par Tchiégang et Mbougoung [19] sur la même plante au Cameroun.

Les résultats de cette étude ont également révélé que les feuilles de *Piper guineense* contenaient des valeurs moyennes de 0,62 g/100 g de MS de composés phénoliques. Ces teneurs constituent des valeurs relativement élevées, en comparaison à celles de nombreuses autres plantes alimentaires telles que *Thalinum triangulare* (0,23 g/100 g de MS), *Hibiscus cannabinus* (0,47 g/100 g de MS) et *Momordica charantia* (0,49 g/100 g de MS) [14]. Etant donné le rôle fondamental de ces composés dans la composition de nombreuses molécules antimicrobiennes (acide salicylique, acide caféique, acide chlorogénique), les feuilles de *Piper guineense* sont susceptibles de renfermer d'importantes propriétés médicinales. Ces résultats concordent avec les conclusions des travaux de Othman *et al.* [12] qui lui ont attribué des vertus thérapeutiques antimicrobiennes.

Les analyses du caractère piquant des feuilles de *Piper guineense* ont montré que ce goût disparaissait rapidement après une dilution au 1/10^e de son jus brut. De tels résultats indiquent que ces feuilles n'ont qu'une force de valeur de une (1) unité

sur l'échelle numérique de Scoville. Ces résultats corroborent ceux de Tchatchambe [17] qui classe *Piper guineense* et *Piper umbellatum* dans la catégorie des épices douces, dont la force se situe entre 1 et 10 unités Scoville. Ce caractère piquant est conféré par une molécule de la classe des alcaloïdes appelée la pipérine [12]. C'est un composé largement étudié pour multiples propriétés, notamment antifongique, antibiotique, antioxydant, hépatoprotecteur et anticancéreux [20].

5 CONCLUSION

Le poivre sauvage du Gabon (*Piper guineense*) a pratiquement les mêmes caractéristiques nutritionnelles (glucides, protéines, polyphénols, vitamine C, chlorophylles...) que les autres espèces ou variétés de poivre importées des Antilles de l'Amérique latine ou d'Asie. Il constitue donc une source alimentaire intéressante, et pourrait être domestiqué et produit en grande quantité pour être commercialisé et supplanter les conditionnements de poivres importés. Cette initiative permettra de créer des emplois, réduire le chômage et abaisser la dépendance et l'ampleur des importations alimentaires des épices au Gabon.

REFERENCES

- [1] Ernst, C., Verheggen, A., Mayaux, P., Hansen, M. and Defourny, P. *Cartographie du couvert forestier et des changements du couvert forestier en Afrique Centrale*. Edition Office des publications de l'Union Européenne, Luxembourg ; 346 p. 2012.
- [2] Breteler, F.J. *Gabon's evergreen forest : the present status and its future*. Paper presented at the 12th Plenary Meeting of AETFAT in Hambourg, Germany. 1988.
- [3] Boupoya, AC. *Flore et végétation des clairières intraforestières sur sol hydromorphe dans le parc national de l'Ivindo (Nord-Est du Gabon)*. Thèse de doctorat, université Libre de Bruxelles, Belgique ; 210p. 2010.
- [4] Bacis, M. *Volatile compounds in food Ashanti Pepper TVO*, Zeist Netherlands Edts, 408 p., 1999.
- [5] Neuwinger, HD. *African Traditional Medicine* ; Medpharm Edts, Stuttgart, 402 p., 2000.
- [6] Lepengué, AN., Souza, A., Yala, JF., Lebamba, J., Mavoungou, JF., and Mbatchi, B. "Etude de quelques caractéristiques physicochimiques et biochimiques de Wavé-forest, un complément alimentaire naturel du Gabon". *European Scientific Journal* 12(33) : 508-520 ; 2016.
- [7] Lepengué, AN., Yala, JF., Lebamba, J., Mouaragadja, I., Koné, D., and Mbatchi, B. "Impact de *Phoma sabdariffae* Sacc. sur quelques paramètres de la fructification des cultivars de roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa*) au Gabon." *International Journal of Innovation and Applied Studies* 4 (1) : 155-164 ; 2013.
- [8] Lepengué, AN., Mouaragadja, I., Aké, S. and Mbatchi, B. "Quelques aspects biochimiques de la réaction de la roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa*) au stress salin." *Journal of Applied Biosciences* 49: 3452-3458 ; 2012.
- [9] Lepengué, AN., Yala, JF., Mouaragadja, I., Ontod Tshitshi, DS., Mbadoumou, NB., Mokea, NA., Aké, S., Mbatchi, B. "Rôle de l'acide borique dans la synthèse de quelques composés biochimiques de la roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa*) au Gabon." *Revue du CAMES, Sciences et Médecine* 12 (2) : 216-220 ; 2011.
- [10] Lepengué ; AN., Mouaragadja, I., Mbatchi, B. and Aké, S. "Effet du Chlorure de sodium (NaCl) sur la germination et la croissance du maïs (*Zea mays* L. Poaceae) au Gabon". *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 4 (5) : 1602-1609 ; 2010.
- [11] Ontod Tshi-tshi, DS., Lepengué, AN. and Mbatchi B. "Effet de la toxicité manganifère sur les paramètres morphométriques de la roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.var.*sabdariffa*) au Gabon." *European Scientific Journal* ; 9 (15) 203-218 ; 2013.
- [12] Othman, ZA., Badjah, YHA., Abdelaty, M. and Ghafar AA." Determination of capsaicin and dehydrocapsaicin in Capsicum fruit simple using HPLC." *Molecules*, 8919-8929 ; 2011.
- [13] Stevels, JMC. *Légumes traditionnels du Cameroun : une étude agrobotanique*. Wageningen Agricultural University papers, 90-1, 262 p., 1990.
- [14] Tchiégang, C and Kitikil, A. "Données ethnonutritionnelles et caractéristiques physico-chimiques des légumes-feuilles consommés dans la savane de l'Adamaoua (Cameroun)." *Tropicicultura*, 22 (1) : 11-18 ; 2004.
- [15] Muganga, C. *Contribution à l'analyse chimique et nutritionnelle de deux plantes alimentaires sauvages consommées dans le district de Tshopo (*Piper guineensis* et *Crassocephalum bumbense*)*. Mémoire de Master 2. UNIKIS-Kinsangani, RD Congo, 72p. 2005.
- [16] Ursell, A. *Guide pratique des vitamines et minéraux*. Editions Hachette, Montréal, Québec, 128 p., 2001.
- [17] Tchatchambe, M. *Contribution à l'analyse chimique et nutritionnelle de quatre plantes alimentaires sauvages consommées à Kinsangani et ailleurs*. Mémoire de Master 2. UNIKIS-Kinsangani, RD Congo, 78 p., 2009.
- [18] FAO. *La sécurité alimentaire dans le contexte des réformes des politiques économiques et commerciales : Le point de la situation à partir des expériences nationales*. CCP/05/11. 2005.

- [19] Tchiégang, C. and Mbougueng, D. "Composition chimique des épices utilisées dans la préparation du na'a poh et du kui de l'Ouest Cameroun". *Tropicultura*, 23 (4) : 193-200 ; 2005.
- [20] Zaraii, Z., Boujelbene, E., Salem, NB., Gargouri, Y. and Sayari A. "Antioxydant and antimicrobial activities of various solvent extracts, piperine and piperic acid from *Piper nigrum*." *Food Science and Technology*. 50 (2) : 634-641. 2013.