

# MODELACIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL SALCHICHÓN TIPO DANÉS DURANTE SU ELABORACIÓN

## Modeling of Chemical Composition of Salchichón Type Danish During its Processing

Otoniel Corzo<sup>1</sup>, Nelson Bracho<sup>2</sup>, René Velásquez<sup>1</sup> y Máryuri Núñez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Tecnología de Alimentos. <sup>2</sup>Departamento de Estadística.

Universidad de Oriente, Edo. Nueva Esparta, Venezuela. E-mail: otocorzo@cantv.net, bracho@ne.udo.edu.ve

### RESUMEN

El proceso de fabricación del salchichón fermentado tipo Danés requiere de una etapa de secado y otra de fermentación, para obtener cambios en su composición química que determinan su calidad. Los objetivos de este trabajo fueron analizar y modelar los cambios en la composición química, durante cada etapa del proceso de elaboración del salchichón tipo Danés. Un diseño experimental jerárquico con dos factores seleccionados al azar (lote y muestra), un factor fijo y cruzado (tiempo), fue utilizado para analizar los efectos del tiempo, lote, muestra y condiciones del proceso. Para ello, se tomaron dos lotes de producción, en diferentes días, constituidos por 200 salchichones cada uno, después del embutido de la mezcla, en una industria de productos cárnicos. Dos muestras fueron sacadas, al azar, de cada lote en diez intervalos de tiempo durante el secado y la maduración, para determinar el contenido de: humedad, proteína, grasa, ceniza y sal. Mediante un análisis de varianza se encontró que las variaciones de la composición química dependían significativamente del tiempo de proceso (secado y maduración) y que no había diferencias significativas de ellas entre los lotes. Mediante la regresión lineal simple se encontraron modelos en función del tiempo, que no mostraron falta de ajuste y que explicaban el 91,39-94,58% de la variabilidad en la composición química del producto durante el secado y el 91,57- 96,82% de la variabilidad durante la maduración.

**Palabras clave:** Modelación, salchichón, composición química.

### ABSTRACT

The process of manufacturing of fermented sausage type Danish requires one stage of drying and other stage of fermentation for obtain changes in its chemical composition which determine his quality. The objectives of this work were analyze and modeling the changes in chemical composition during each stage of process of manufacturing of sausage type Danish. A hierarch experimental design with two randomized factors (batch and sample), one fix and crossed factor (time), were used to analyze the effect of time, batch, sample and conditions of processing. Two different batches, on different days of processing of 200 sausage each one, were taken after of the inlay of the mixture, in a meat industry. Two samples were removed at random of each batch at ten intervals of time during the drying and maturation stages, for determine the moisture, protein, fat, ashes and salt contents. Analysis of variance shows that variation in chemical composition is significantly affected by process time (drying and maturation) but not by the batches. Applying simple linear regression was found models in function of time, without lack of fit that explained the 91.39-94.58% of variability in the chemical composition of product during the drying stage and the 91.57-96.82% of variability during maturation stage.

**Key words:** Modeling, sausage, chemical composition.

### INTRODUCCIÓN

El salchichón tipo Danés constituye un producto con sabor y aroma característico, elaborado a base de carne de porcino, bovino o mezclas de ambos, adicionando tocino y/o grasa de cerdo, sales de curado, especias, condimentos y otros ingredientes. La mezcla es embutida en tripas naturales o artificiales, sometándose a un proceso de secado y otro de maduración, con o sin ahumado [6].

Durante las etapas de secado y maduración ocurre una serie de cambios químicos, físicos y microbiológicos, que definen la calidad final del producto y que dependen de la temperatura, humedad relativa, velocidad del aire en las cavas y de la cantidad y tipo de carbohidratos en la mezcla [1, 2, 7, 9].

El salchichón debe tener una composición química determinada, la cual es establecida por normas de calidad nacionales e internacionales [3]. En la industria charcutera, el paso de una etapa a otra o la finalización del proceso total, lo decide el maestro charcutero de acuerdo a su experiencia sin regirse por un patrón de trabajo estandarizado, por lo que la tendencia actual en la industria de alimentos es conseguir la racionalización y estandarización en la fabricación de los productos, sustituyendo la producción empírica por el control de los procesos mediante el conocimiento de los valores físicos, químicos y microbiológicos.

Para lograr un proceso estandarizado que permita producir los salchichones con una composición química similar, se requiere entre otros aspectos, de una herramienta matemática invariable. Dado que en Venezuela hay un notable aumento en el consumo de embutidos y el salchichón Danés es uno de los más económicos, se hace necesario analizar los cambios que experimenta este producto alimenticio para así modelar el proceso y facilitar la toma de decisiones para lograr un producto de calidad estándar.

Los objetivos de este trabajo fueron analizar y modelar la variación en el contenido de humedad, proteína, grasa, ceniza, y sal en el salchichón tipo Danés durante las etapas de secado y maduración en su proceso de elaboración.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Selección de las muestras

Se utilizó salchichón producido en una industria charcutera situada en el estado Miranda, Venezuela. Se tomaron dos lotes diferentes en distintos días de producción constituidos por 200 salchichones cada uno, después del embutido de la mezcla. Cada uno de los salchichones se enumeró antes de introducirlos en los cuartos de refrigeración tanto para el proceso de secado (temperatura entre 13-20°C y humedad relativa entre 70-80%) como de maduración (temperatura entre 12-14°C y humedad relativa entre 70-80%). Se seleccionaron al azar dos salchichones/día de cada lote en la etapa de secado a los 1, 2, 3, 6 y 7 días y otros dos salchichones/día de cada lote en la etapa de maduración a los 3, 6, 13, 20 y 27 días. La etapa de secado duró 7 días y la de maduración 27 días. A cada muestra se le determinó el contenido de humedad, proteína, grasa, ceniza y sal, por duplicado, de acuerdo a lo estipulado por las Normas Covenin [5].

### Análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental factorial jerárquico cruzado con dos factores jerárquicos aleatorios (lote y muestra) y

un factor fijo y cruzado (tiempo), para analizar el efecto de los lotes, tiempo del proceso y etapa del proceso.

Los datos obtenidos fueron analizados utilizando el modelo [8] para la variable respuesta  $Y_{ijkl}$  (contenido de humedad, proteína, grasa, cenizas, o sal):

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_{k(l)} + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\gamma)_{ik(l)} + \varepsilon_{(ijk)l} \quad (1)$$

donde  $i = 1, 2, \dots, a$ ;  $j = 1, 2$ ;  $k = 1, 2$ ;  $l = 1, 2$ ;  $\alpha_i$  es el efecto del tiempo sobre la variable respuesta;  $a$  es igual a 5 para el secado y a 6 para la maduración;  $\beta_j$  es el efecto del lote sobre la variable respuesta;  $\gamma_{k(l)}$  es el efecto de la muestra  $k$  dentro del lote sobre la variable respuesta;  $(\alpha\beta)_{ij}$  es el efecto conjunto del tiempo y el lote sobre la variable respuesta;  $(\alpha\gamma)_{ik(l)}$  es el efecto conjunto del tiempo y la muestra dentro del lote sobre la variable respuesta; y  $\varepsilon_{(ijk)l}$  es el error.

Se aplicó la regresión lineal simple, para estimar los coeficientes de los modelos explicativos de la variación de la composición química. Para todos los análisis se tomó un nivel de significancia de al menos 5% ( $P < 0,05$ ). Para los diferentes análisis se utilizó el paquete estadístico Statgraphics 5,0.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores promedio encontrados para humedad, proteína, grasa, ceniza y sal en los diferentes tiempos de secado y de maduración se muestran en la TABLA I. El contenido de humedad disminuyó marcadamente de 45,20 a 38,31% durante el secado y lentamente hasta 30,53% durante la maduración. El porcentaje de proteína aumentó de 12,35 a 14,68% durante el secado, y hasta 15,37% durante la maduración. El contenido de grasa aumentó de 35,35 a 40,00% durante el secado y hasta 48,18% durante la maduración. El contenido de cenizas aumentó de 3,52 a 4,43 durante el secado, y hasta 4,97% durante la maduración. El contenido de sal aumentó de 2,62 a 3,30 durante el secado, y hasta 4,27% durante la maduración.

Estos resultados concuerdan con los de otros investigadores para salchichón normal [7, 10], pepperoni elaborado al vacío [4], y salchichón elaborado con mezclas de carne de diferente calidad [11].

### Variación de la composición química

**Variación del contenido de humedad.** Tanto en la etapa de secado como en la de maduración, se encontró diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) en el contenido de humedad durante el tiempo, en las muestras dentro de cada lote y en la interacción del tiempo con las muestras dentro de cada lote, más no entre los lotes de producción (TABLAS II y III). Las diferencias con el tiempo son obvias, porque se trata de un proceso de deshidratación facilitado por las condiciones del cuarto de refrigeración. Las diferencias existentes entre las mues-

**TABLA I**

**CONTENIDOS DE HUMEDAD, PROTEÍNA, GRASA, CENIZA Y SAL DEL SALCHICHÓN DURANTE LAS ETAPAS DE SECADO Y MADURACIÓN / MOISTURE, PROTEIN, LIPID, ASHES AND SALT CONTENTS OF SALCHICHÓN DURING DRYING AND MATURATION STAGES**

Tiempo (días)	Humedad (%)	Proteína (%)	Grasa (%)	Ceniza (%)	Sal (%)
<b>Secado</b>					
1	45,20 ± 0,60	12,35 ± 0,26	35,35 ± 0,12	3,52 ± 0,12	2,62 ± 0,06
2	43,81 ± 0,60	13,20 ± 0,35	38,83 ± 0,14	3,81 ± 0,10	3,00 ± 0,08
3	42,60 ± 0,56	13,84 ± 0,21	39,16 ± 0,22	3,97 ± 0,10	3,17 ± 0,09
6	39,68 ± 0,66	14,44 ± 0,23	39,89 ± 0,30	4,37 ± 0,14	3,28 ± 0,05
7	38,31 ± 0,65	14,68 ± 0,11	40,00 ± 0,30	4,43 ± 0,05	3,30 ± 0,08
<b>Maduración</b>					
3	38,79 ± 0,54	14,19 ± 0,11	42,05 ± 0,78	4,45 ± 0,05	3,51 ± 0,07
6	36,83 ± 0,74	14,44 ± 0,20	42,45 ± 0,25	4,54 ± 0,04	3,77 ± 0,07
13	34,27 ± 0,76	14,92 ± 0,14	44,85 ± 0,93	4,64 ± 0,04	3,99 ± 0,08
20	31,85 ± 0,56	15,14 ± 0,18	47,04 ± 0,49	4,74 ± 0,05	4,20 ± 0,06
17	30,52 ± 0,39	15,37 ± 0,10	48,18 ± 0,46	4,97 ± 0,03	4,27 ± 0,09

Valores promedio de ocho determinaciones.

**TABLA II**

**ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA HUMEDAD, PROTEÍNA, GRASA, CENIZA, Y SAL DEL SALCHICHÓN EN LA ETAPA DE SECADO / ANALYSIS OF VARIANCE OF MOISTURE, PROTEIN, LIPID, ASHES AND SALT OF SALCHICHON DURING DRY STAGE**

Fuente de Variación	gL	Humedad		Proteína		Grasa		Ceniza		Sal	
		SS	Valor P	SS	Valor P	SS	Valor P	SS	Valor P	SS	Valor P
t	4	217,713	0,0151	24,3130	0,0656	113,78	0,0015	5,5277	0,0207	2,9953	0,0126
L	1	0,1404	0,8678	0,5736	0,5735	2,2420	0,1930	1,2532	0,1000	0,4752	0,1268
M(L)	2	7,8950	0,0076	2,5796	0,0138	1,2010	0,0279	0,0254	0,8241	0,0389	0,0000
txL	4	17,0664	0,4058	4,5004	0,4019	2,6660	0,4562	0,5170	0,5607	0,5445	0,6367
txM(L)	8	30,0914	0,0005	7,8646	0,0051	5,2749	0,0023	1,3013	0,0457	0,6255	0,0000
Residual	20	12,5349		4,8209		2,7913		1,2981		0,1723	

t = tiempo. L = lote. M (L) = muestra dentro del lote. SS = Suma de cuadrados.

**TABLA III**

**ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA HUMEDAD, PROTEÍNA, GRASA, CENIZA, Y SAL DEL SALCHICHÓN EN LA ETAPA DE MADURACIÓN / ANALYSIS OF VARIANCE OF MOISTURE, PROTEIN, LIPID, ASHES AND SALT OF SALCHICHON DURING FERMENTATION STAGE**

Fuente de Variación	gL	Humedad		Proteína		Grasa		Ceniza		Sal	
		SS	Valor P	SS	Valor P	SS	Valor P	SS	Valor P	SS	Valor P
t	5	491,807	0,0005	16,9271	0,0790	397,485	0,0002	3,6307	0,0241	5,7165	0,0126
L	1	0,0397	0,9308	2,6649	0,0079	1,3167	0,3776	1,9927	0,0251	1,3703	0,1268
M(L)	2	8,2573	0,0007	0,0423	0,7688	2,0827	0,0002	0,1039	0,3539	0,4269	0,0000
txL	5	12,2441	0,6777	4,2830	0,0142	6,3103	0,3636	0,4990	0,4524	0,5801	0,6367
txM(L)	10	38,5053	0,0000	1,6906	0,0636	10,2567	0,0000	0,9728	0,0753	1,6601	0,0000
Residual	24	9,8552		1,9110				1,1495		0,2669	

t = tiempo. L = lote. M (L) = muestra dentro del lote. SS = Suma de cuadrados.

tras dentro de los lotes se pueden atribuir a que los salchichones fueron colgados en hileras dentro de los carros, de secado y maduración, con lo cual los de las hileras externas se ponían en mayor contacto con el aire de las cavas y se les eliminaba mayor agua, que los de las hileras internas.

**Variación del contenido de proteína.** En la etapa de secado se observaron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) en el contenido de proteína en las muestras dentro de los lotes y en la interacción del tiempo con las muestras dentro de los lotes (TABLA II). En la etapa de maduración hubo diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) en el contenido de proteína en las muestras dentro de los lotes y en la interacción del tiempo con los lotes (TABLA III). Las diferencias entre las muestras dentro de los lotes se pueden atribuir a la distribución no homogénea de la proteína en la pasta, y las debidas a la interacción a la disminución de la humedad a medida que transcurre el tiempo de proceso ya que ésta afecta directamente el contenido de proteína expresado en base húmeda, y a la posición de los salchichones dentro del carro donde fueron colocados.

**Variación del contenido de grasa.** Tanto en la etapa de secado como en la de maduración, se encontraron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) en el contenido de grasa en el tiempo, en las muestras dentro de cada lote y en la interacción del tiempo con las muestras dentro de cada lote, más no entre los lotes de producción (TABLAS II y III). Estas diferencias concuerdan con los mismos efectos de la variación de la humedad, ya que ésta afecta directamente el contenido de grasa expresado en base húmeda.

**Variación del contenido de ceniza.** En la etapa de secado se encontraron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) en el contenido de ceniza en el tiempo, en los lotes, y en la interacción del tiempo con las muestras dentro de los lotes (TABLA II). En la etapa de maduración hubo diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) en el contenido de ceniza en el tiempo y entre los lotes (TABLA III). Las diferencias en el tiempo se deben a

la disminución del contenido de humedad, tal como ocurre con los otros contenidos, y las debidas a los otros efectos se pueden atribuir a la falta de homogeneidad de la pasta.

**Variación del contenido de sal.** En la etapa de secado se observaron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) en el contenido de sal en los lotes, y en la interacción del tiempo con las muestras dentro de los lotes (TABLA II). En la etapa de maduración hubo diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) en el contenido de sal en el tiempo, las muestras dentro de los lotes y en la interacción del tiempo con las muestras dentro de los lotes (TABLA III). Las diferencias se deben a los cambios de humedad tal como ocurre con los otros contenidos, y a la falta de homogeneidad de la pasta.

**Modelos de predicción para la etapa de secado**

Los análisis de regresión para la variación de la composición química del salchichón durante la etapa de secado permitieron encontrar los modelos presentados en la TABLA IV. Ninguno de los modelos presentó falta de ajuste, autocorrelación, datos con desviación mayor de 3, o datos influyentes. Los modelos ajustados explicaron entre el 91,39 y 94,58% de la variabilidad de las variables respuesta con un 99% de nivel de confianza.

Los modelos ajustados y los valores obtenidos del contenido químico del salchichón durante la etapa de secado se presentan en la FIG. 1. Estos modelos permiten determinar el valor de la variable respuesta transcurrido un tiempo de secado, o determinar el tiempo requerido para que el salchichón tenga un valor deseado de la variable respuesta. De esta forma se dispone de una herramienta útil para decidir: la composición al cabo de un tiempo dado, o el tiempo para tener una composición deseada y pasar a la otra etapa.

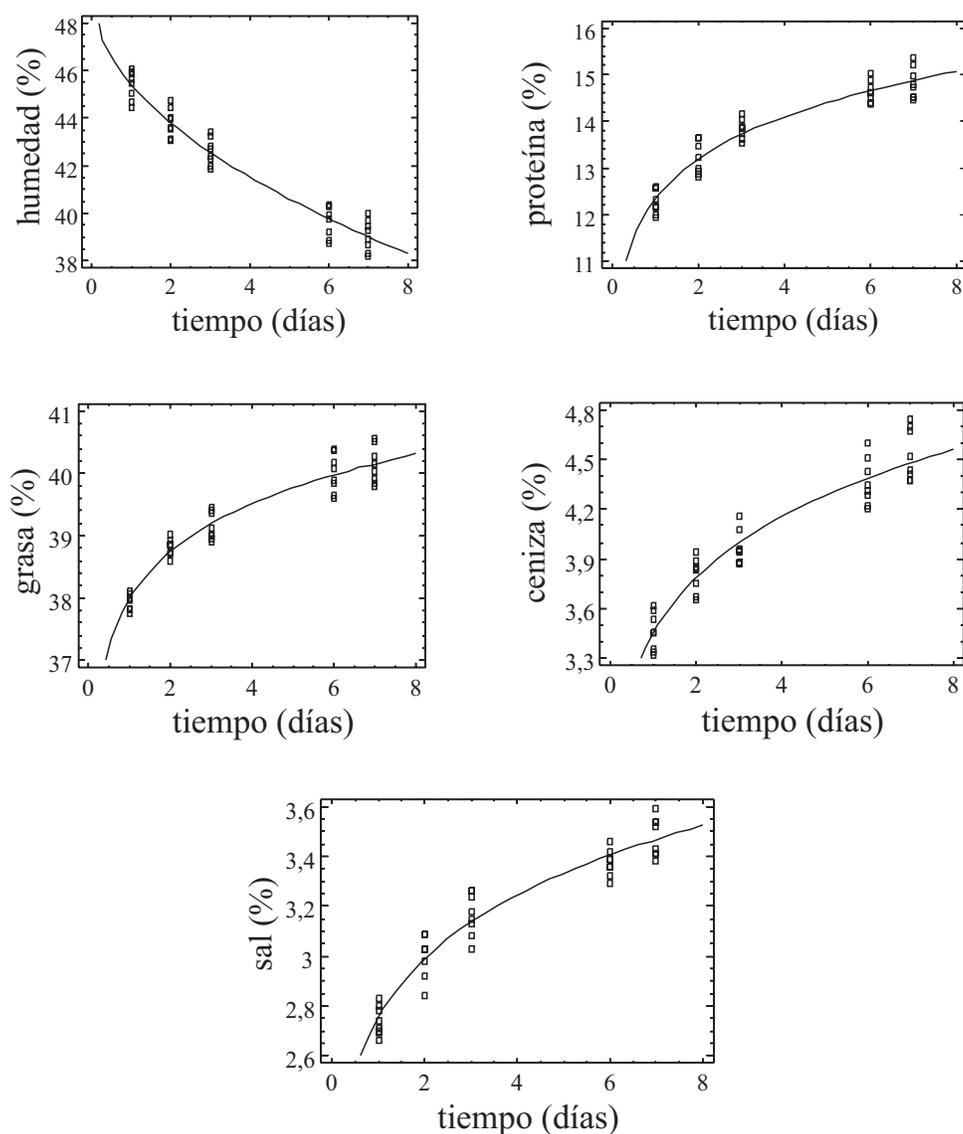
**Modelos de predicción para la etapa de maduración**

Los análisis de regresión para la variación de la composición química del salchichón durante la etapa de maduración

TABLA IV  
ANÁLISIS DE REGRESIÓN LINEAL SIMPLE PARA EL CONTENIDO DE HUMEDAD, PROTEÍNA, GRASA, CENIZA Y SAL DEL SALCHICHÓN DURANTE LA ETAPA DE SECADO / ANALYSIS OF SIMPLE LINEAR REGRESSION FOR MOISTURE, PROTEIN, LIPID, ASHES AND SALT CONTENTS OF SALCHICHON DURING DRYING STAGE

Variable respuesta	Modelo	Estimado	Estadístico t	Valor P	R <sup>2</sup>
Humedad	$a+b\sqrt{t}$	a= 49,303 b= 3,892	167,325 -25,750	0,0000 0,0000	0,9458
Proteína	$a t^b$	a= 2,513 b= 0,096	423,695 21,318	0,0000 0,0000	0,9228
Grasa	$a t^b$	a= 3,637 b= 0,096	2213,160 22,990	0,0000 0,0000	0,9329
Ceniza	$a t^b$	a= 1,239 b= 0,134	140,818 20,080	0,0000 0,0000	0,9139
Sal	$a t^b$	a= 1,013 b= 0,119	147,056 22,708	0,0000 0,0000	0,9314

a y b son constantes de los modelos.



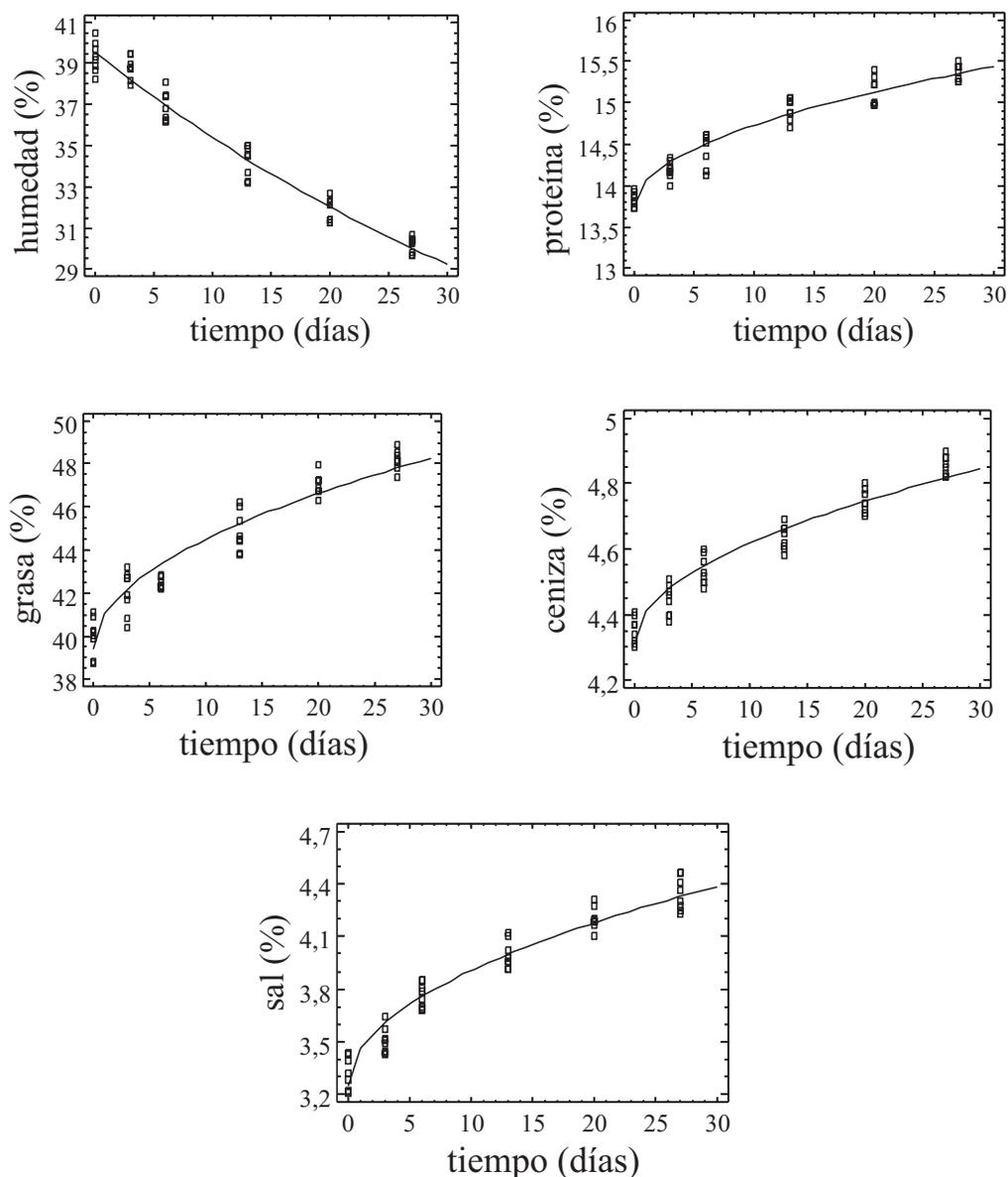
**FIGURA 1. VALORES EXPERIMENTALES Y AJUSTADOS DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL SALCHICHÓN DURANTE LA ETAPA DE SECADO / EXPERIMENTAL AND FITTED VALUES OF CHEMICAL COMPOSITION FOR SALCHICHON DURING DRYING STAGE.**

**TABLA V**

**ANÁLISIS DE REGRESIÓN LINEAL SIMPLE PARA EL CONTENIDO DE HUMEDAD, PROTEÍNA, GRASA, CENIZA Y SAL DEL SALCHICHÓN DURANTE LA ETAPA DE MADURACIÓN / ANALYSIS OF SIMPLE LINEAR REGRESSION FOR MOISTURE, PROTEIN, LIPID, ASHES AND SALT CONTENTS OF SALCHICHON DURING MATURATION STAGE**

Variable respuesta	Modelo	Estimado	Estadístico t	Valor P	R <sup>2</sup>
Humedad	1/(a+bt)	a= 0,0253	212,513	0,0000	0,9682
		b= 0,0003	37,346	0,0000	
Proteína	a+b√t	a= 13,7517	332,237	0,0000	0,9327
		b= 0,3081	25,240	0,0000	
Grasa	a+b√t	a= 39,3701	159,800	0,0000	0,9157
		b= 1,6234	22,346	0,0000	
Ceniza	a+b√t	a= 4,3119	314,638	0,0000	0,9261
		b= 3,8920	24,002	0,0000	
Sal	a+b√t	a= 3,2490	124,935	0,0000	0,9409
		b= 0,2076	27,064	0,0000	

a y b son constantes de los modelos.



**FIGURA 2. VALORES EXPERIMENTALES Y AJUSTADOS DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL SALCHICHÓN DURANTE LA ETAPA DE MADURACIÓN / EXPERIMENTAL AND FITTED VALUES OF CHEMICAL COMPOSITION FOR SALCHICHON DURING MATURATION STAGE.**

permitieron encontrar los modelos presentados en la TABLA V. Ninguno de los modelos presentó falta de ajuste, auto correlación, datos con desviación mayor de 3, o datos influyentes. Los modelos ajustados explicaron entre el 91,57 y 96,82% de la variabilidad de las variables respuesta con un 99% de nivel de confianza.

Los modelos ajustados y los valores obtenidos del contenido químico del salchichón durante la etapa de secado se presentan en la FIG. 2. Estos modelos permiten determinar el valor de la variable respuesta transcurrido un tiempo de maduración, o determinar el tiempo requerido para que el salchichón tenga un valor deseado de la variable respuesta. Así se dispone de una herramienta útil para decidir: en qué momento el proceso se debe terminar, si se requiere prolongar el proce-

so una vez que ha transcurrido un tiempo dado, o si esta prolongación es factible económicamente debido al tiempo requerido para lograr un valor deseado.

## CONCLUSIONES

El contenido de humedad, grasa, proteína, ceniza y sal del salchichón tipo Danés varía durante el tiempo correspondiente a las etapas de secado y maduración. La composición química del salchichón durante las etapas del proceso de elaboración se puede modelar mediante una expresión simple en función del tiempo, lo cual permite tomar decisiones para lograr un proceso estandarizado que produzca un producto final homogéneo en su composición, cada vez que éste se lleve a cabo.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] BAUMGARTNER, P.A.; KLETTNER, P.G.; RODEL, W. The influence of temperature on some parameters for dry sausage during ripening. **Meat Sci.** 4: 191-201. 1980.
- [2] BERIAIN, M.J.; CHASCO, J.; LIZASO, G. Relationship biochemical and sensory quality characteristics of different commercial brands of salchichón. **Food Control.** 11: 231-237. 2000.
- [3] CURT, C.; TRYSTRAM, G.; NOGUEIRA-TERRONES, H.; HORSENLOPP, J. A method for the analysis and control of sensory properties during processing-application to the dry sausage process. **Food Control.** 15(5): 341-349. 2004.
- [4] CHIN, K.B.; KEETON, J.T.; LACEY, R.E. Reduction of drying time for pepperoni by vacuum-drying. **J. Food Sci.** 61: 142-148. 1996.
- [5] Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Determinación del contenido químico del salchichón. Normas 1218, 1219, 1220, 1223. Ministerio de Fomento. Caracas. 1980.
- [6] Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Salchichón. Norma 1410. Ministerio de Fomento. Caracas. 1993.
- [7] LIZASO, G.; CHASCO, J.; BERIAIN, M.J. Microbiological and biochemical changes during ripening of salchichón, a Spanish dry cured sausage. **Food Microbiol.** 16: 219-228. 1999.
- [8] MOMGOTMERY, D.C. **Diseño y Análisis de Experimentos.** Editorial Iberoamericana, S. A. México. 405-408 pp.1991.
- [9] PÉREZ-ALVAREZ, J.A.; SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, M.E.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; GAGO-GAGO, M.A.; RUIZ-PELUFFO, M.C.; ROSMINI, M.R.; PAGÁN-MORENO, M.J.; LÓPEZ-SANTOVEÑA, F.; ARANDA-CATALÁ, V. Chemical and colour characteristics of lomo embuchado during salting seasoning. **J. Muscle Food.** 84(4): 395-411. 1997.
- [10] SERRANO, M.A. Evolución de varias microfloras y su interdependencia con las condiciones físicoquímicas durante la maduración del salchichón. **Alimentaria.** 100: 39-56. 1979.
- [11] TOWNSEND, W.E.; DAVIS, C.E.; LYON, C.E.; MESCHER, S.E. Effect of pork quality on some chemical, physical, and processing properties of fermented dry sausage. **J. Food Sci.** 45: 622-626. 1980.