.....

مقدمة

الانزيمات عوامل حفز بايولوجية وظيفتها انجاز مختلف التفاعلات في الكائنات الحية والانظمة المشابهة لها، وتتميز بانها عالية التخصص وتنجز عملها بوجود تراكيز قليلة منها وتحتاج الى ظروف معتدلة، وغالبا تعمل على مادة اساس واحدة (واحيانا مجموعة ضيقة من المركبات المتشابهة) لتعطي ناتجا معينا، اي ان النواتج العرضية تكون قليلة. كما ان الانزيمات تقلل كلف الطاقة المبذولة، ولانها من مصدر نباتي فلا يوجد قلق من استخدامها في تصنيع الاغذية، لكن بعضها ينتج من مصادر مايكروبية (بكتريا وفطريات) وفي هذه الحالة من الواجب التاكد من عدم وجود مركبات او سموم مرافقة لهذه الانزيمات.ولهذه الاسباب يلاحظ ان الانزيمات تستخدم في تطبيقات متعددة في الاغذية وفي تفاعلات مختلفة قد تستغرق دقائق او عدة ايام.

تاريخ استخدام الانزيمات في تصنيع الاغذية

استخدمت الانزيمات في الاغذية منذ ازمنة قديمة، وكان استخدامها يعتمد على الخبرة والمشاهدة دون توفر الاسس العلمية للاستعمال كما في حالة التجبن بالطريقة القديمة واضافة المصادر النشوية المتحللة في بعض المنتجات وتطرية اللحوم باستعمال بعض المنتجات الطبيعية.

يمثل اكتشاف الانزيمات الحجر الاساس في فهم الكثير من التغيرات الحاصلة في صناعة الاغذية، وقد مر علم الانزيمات بعدة مراحل من التطور، كانت في مقدمتها اعداد مستحضرات البابين لاستخدامها في التطرية، وكان من ابرزها اكتشاف الاميليز(الذي سمي Ptyalin في وقتها) من قبل العالم Leuchs عام ١٨٣١ وانزيم الببسين من قبل العالم Schwann عام ١٨٣٦ وتوالت الاكتشافات في هذا المجال.

التطبيقات الرئيسية للانزيمات في الاغذية

١- انتاج غذاء جديد.
٢- تحوير نسجة بعض الاغذية كما في تطرية اللحوم
٣- تحسين نكهة بعض الاغذية.
٤- زيادة الحلاوة.
٥- ترويق العصائر والمشروبات.
٦- تحسين خواص معينة مثل انتاج الحليب الخالي من اللاكتوز.
٧- تمثل الانزيمات حجر اساس في عملية التصنيع كما في حالة الخبز والمعجنات.

وتنقسم الانزيمات المستخدمة في التصنيع الغذائي الى ثلاث مجموعات :

(١) انزيمات محللة Hydrolases (٢) انزيمات الاكسدة والاختزال Oxidoreductases
(٣) انزيمات التشابه Isomerases

ان معظم الانزيمات المستعملة مثل البروتييزات والاميليز والبكتينيز والسيلييزات هي من نوع الانزيمات المحللة، وتنتج عادة باستعمال نوعين رئيسيين من الاحياء المجهرية هما بكتريا Bacillus وفطر Aspergillus ، والكثير من هذه الانزيمات هي خارجية (Extracellular) مما يسهل استخلاصها بفصلها عن الخلايا.

رغم اهمية الاستخدام الا ان الكمية المستخدمة من الانزيمات في تصنيع الاغذية لاتزال صغيرة ويعود السبب في ذلك الى نقص المعلومات وتجاهل الاهمية بالاضافة الى الجانب الاقتصادي.

ادى التقدم في التقنيات الحيوية والتخمرات الى تطور انتاج الانزيمات المايكروبية، وقد كان لادخال انزيم البروتييز القاعدي في تركيبة مساحيق التنظيف اثر كبير في زيادة الدراسات حول الانتاج المايكروبي للانزيمات والذي بدأ بالنمو بسرعة منذ ستينات القرن الماضي، وتم التركيز على المصادر المايكروبية للانزيمات لاسباب كثيرة تجعلها المفضلة على الانزيمات من المصادر النباتية او الحيوانية، وتطورت عمليات الانتاج مع تقدم تقنيات الهندسة الوراثية مثل اعادة ارتباط الحامض النووي الدي اوكسي رايبوزي وعمليات نقل الجينات والتطفير و PCR ، واصبح بالامكان ليس زيادة الانتاج فقط وانما تحسين صفات الانزيم المنتج من كائن معين. ان استخدام الهندسة

الوراثية مع الانزيمات ادى الى تقسيم الانزيمات الى مجموعتين : الاولى هي التي يكون تطبيقها خارج الكائن الحي (in vitro) مثل البروتييزات والانزيمات المحللة لبعض انواع الكاربوهيدرات، وقد تم السماح باستخدام العمليات الوراثية في تحسين وزيادة انتاج هذه الانزيمات، والثانية هي الانزيمات ذات الفعل داخل الكائن الحي (in vivo) وهذه المجموعة تخضع الى محددات كثيرة لانها اكثر خطرا من المجموعة السابقة.

ظهر بعد ذلك مفهوم هندسة البروتين الذي سهل فهم الهيئات الفراغية لجزيئات الانزيمات وتوفير بيانات مهمة عن الحفز الانزيمي وقياس الفعالية الانزيمية وطبيعة الموقع الفعال والعوامل المؤثرة على نشاط الانزيم. ويخضع انتاج الانزيم الى خطوات تسلسلية ليكون من الممكن انتاجه ويوضح الشكل التالي الفقرات الرئيسية لهذه الخطوات.

تقييد الانزيمات:

تستخدم الانزيمات في تصنيع الاغذية عادة بشكل انزيم حر غير مقيد كما في اضافة البروتييزات الى خثرة الجبن لغرض الانضاج. في هذه الحالة يستخدم الانزيم مرة واحدة ويكون من الصعب استخدامه مرة اخرى، لذلك تم اللجوء الى تقنية التقييد (Immobilization) والتي تتضمن ربط الانزيم الى مادة ساندة صلبة للسماح بعمل الانزيم دون فقدانه.

محاسن التقييد

١- تقليل كمية الانزيم الفعلية المستخدمة.

٢- المقدرة على اعادة الاستخدام عدة مرات.

٣- عدم ترك بقايا الانزيم في الناتج النهائي.

٤- زيادة ثباتية النزيم.

٥- تحسين الفعل الانزيمي.

٦- سهولة التحول الى النمط المستمر في انجاز العملية.

٧- تقليل الكلفة.

٨- امكانية استخدام الانظمة متعددة الانزيمات.

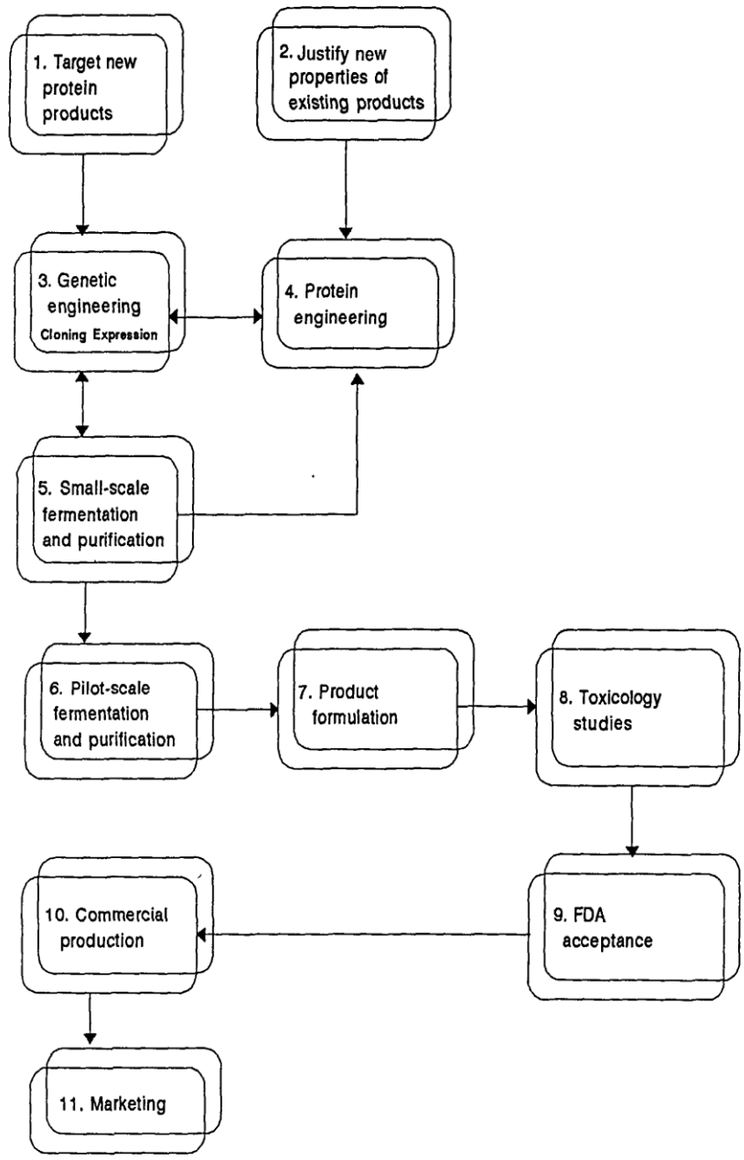


FIGURE 1. Flowchart for commercial development of recombinant food-processing enzymes and food additives. (Adapted from Lin, Y. L., *Food Technol.*, 41(10), 104, 1987.)

coded the glucoamylases. Cellulases from both bacterial and fungal sources have been cloned. There are reports of cloning of genes from organisms that code for protease production. One example is the cloning of a thermostable neutral protease gene from *Bacillus stearothermophilus* and its expression in *B. subtilis*. The gene coding for calf chymotrypsin (rennin), a proteolytic en-

سلبيات التقييد:

١- كلفة عملية القييد.

٢-تحتاج مهارة عالية.

٣- مشاكل التعقيم والسمية.

٤- احتمال فقدان فعالية الانزيم جزئيا او كليا.

مواد التقييد

هناك نوعان من المادة الساندة (Support) الصلبة المستخدمة لتقييد الانزيمات هما:

١-المواد الساندة العضوية وتشمل السكريات المتعددة والبروتينات الليفية، البوليمرات المصنعة، المستحضرات الهلامية والالياف المجوفة.

٢- المواد الساندة غير العضوية كالالومينا والسيراميك .

ويتم تقييد الانزيمات على المساند بعدة تقنيات تشمل الادمصاص او الربط التساهمي او الاقتناص او تكوين الكبسولات المجهرية.

امثلة عن التطبيقات الانزيمية في الاغذية

١- صناعة الالبان:

أ. انزيم الرنين: وهو من اوسع التطبيقات الانزيمية في الصناعات الغذائية فهو الاساس في صناعة الجبن، واكثر مايستخدم من هذا الانزيم هو المنتج من انواع جنس Mucor لاسيما *M. miehei* و *M. pusillus* وهناك انواع تنتج من البكتريا الا انها اقل انتشارا. الاسم العلمي لانزيم الرنين هو الكايموسين ولهذا الانزيم القدرة على تحويل الحليب الى خثرة (Curd) اي جبننتيجة الفعالية التحللية التي يملكها تجاه بروتين الحليب (الكازين). في الوقت الحاضر تنتج مستحضرات انزيمية لها فعل تخثري يستمر الى فترة الانضاج التي قد تمتد عدة اشهر في بعض انواع الاجبان.

ب. اللاكتيز: يتكون سكر الحليب (اللاكتوز) من كالاكتوز وكلوكوز مرتبطين باصرة استرية من نوع الفا ١ ــ ٤ . ان اكثر من ٧٠% من سكان العالم يفتقدون الى اللاكتيز في الجهاز الهضمي، وهذا يعني عدم القدرة على تحليل هذا السكر الثنائي الى مكوناته مما يسبب حالة عدم تحمل اللاكتوز. لذلك يتم انتاج المنتجات التي تمت معاملتها سابقا بانزيم اللاكتيز لغرض تحويل السكر الثنائي الى مكوناته وتقليل تاثيره على هذه الشريحة. يستخلص اللاكتيز من مزارع عدد من الاحياء المجهرية مثل فطر الاسبرجلس وخميرة كلوفيرومايسز، وكذلك من مصادر اخرى تكون غنية بهذا الانزيم مثل اللوز.احدى التطبيقات التصنيعية يطلق عليها Tetra Lacta System وتتضمن تعقيم الحليب بنظام UHT ثم يمزج مع محلول الانزيم المعقم وذلك بتراكيز واطئة ، ويحدث تحلل اللاكتوز في الحليب اثناء مدة الخزن اذ يتحلل اكثر من ٨٠% من اللاكتوز الموجود في الحليب خلال اسبوع واحد من الخزن.واستخدم الانزيم بشكل حبوب يمكن تناولها.

مستقبل استخدام الانزيمات في صناعة الالبان:

حققت الهندسة الوراثية تقدما واسعا في انتاج الانزيمات لاستخدامها في تصنيع الاغذية لكن تقدم الابحاث في مجال استخدام الانزيمات في منتجات الالبان كان بطيئا بسبب صعوبة التعامل مع بكتريا الالبان ونقص المؤشرات التي يمكن استخدامها في انتخاب النتائج الجيدة. ومن التطبيقات المهمة التي تدخلت بها الهندسة الوراثية في بكتريا البادىء مؤخرا هو زيادة المقاومة للاصابة بالبكتريوفاج وزيادة نسبة الحموضة المتكونة وتنوع مركبات النكهة التي تستطيع البكتريا انتاجها، وقد بدأت نتائج عمليات التحسين الوراثي تعطي ثمارها منذ سنة ١٩٨٢ حين نجح الباحثان Kondo و McKay بالقيام بعملية نقل البلازميدات بطريقة التحول (Transformation) في بكتريا المكورات المسبحية اللبنية.

٢- تحوير البروتينات

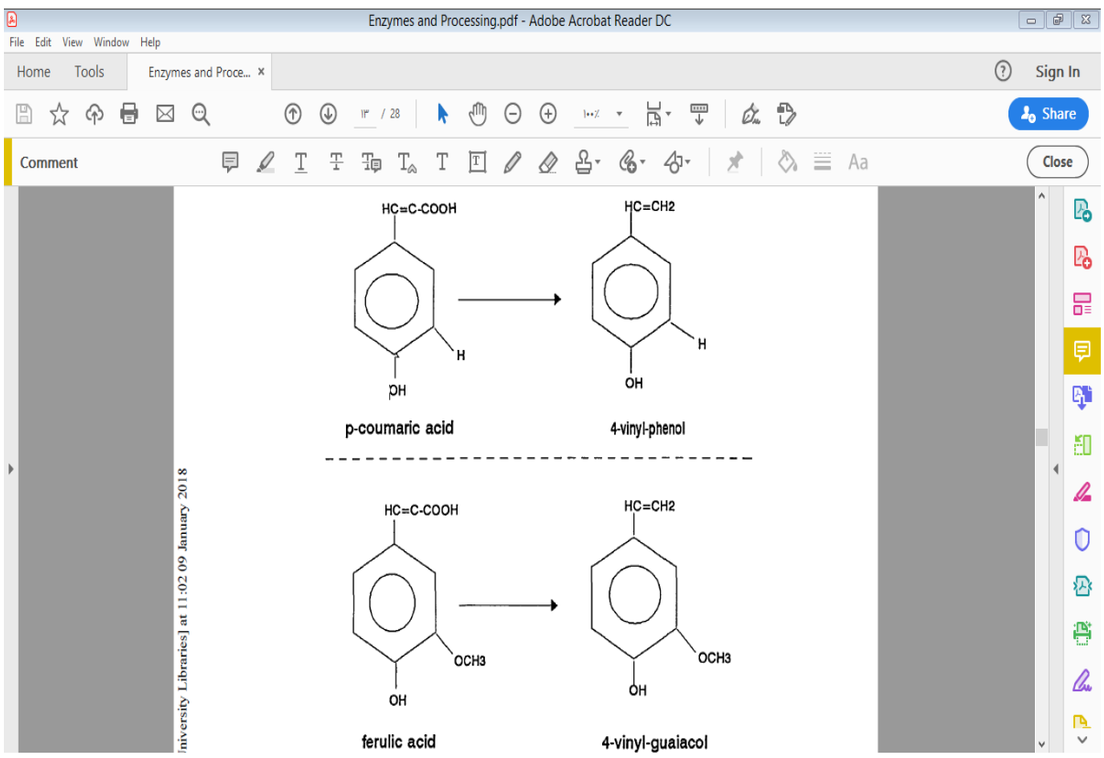
افضل مثال على استخدام الانزيمات المايكروبية في تحوير البروتين هو في صناعة الخبز. ان الكلوتين القوي المتميز بقلة قابلية التمدد يسبب انخفاضا في حجم المنتوج المخبوز، وتم معالجة ذلك باستعمال بروتينيزات فطرية تسبب درجة مقبولة من التحلل مما يؤدي الى حصول ضعف قليل ولكنه مرغوب في قوة الكلوتين للحصول على منتوج بصفات جيدة، ويعد تحوير البروتينات في صناعة الحلويات من الامور المهمة اذ تهدف هذه العملية الى تحسين خصائص الاستحلاب والخفق وتكوين الرغوة للمنتوج.

مثال على تحوير البروتينات: متحللات فول الصويا Soy protein hydrolysates

تؤدي معاملة بروتينات فول الصويا المعزولة او طحين فول الصويا بالبروتييزات اى انتاج بروتينات ذات خصائص وظيفية محورة، مثل زيادة الذائبية عند نقطة التعادل الكهربائي وقابلية الاستحلاب، وهذه البروتينات يمكن ادخالها في صناعة العديد من الاغية للحصول على الخواص المطلوبة في المنتوج النهائي.

المشكلة الرئيسية التي تواجه استخدام متحللات فول الصويا هو تكوين الببتيدات ذات الطعم المر في عملية التحلل، وتتناسب شدة المرارة مع درجة التحلل البروتيني.

ومن اهم المنتجات الناتجة في هذا الباب هو متحلل بروتين الصويا الذائب المتعادل كهربائيا
Isoelectric soluble soya protein hydrolysate (ISSPH)
ومن المنتجات المعروفة للصويا هو حليب فول الصويا الذي يتم الحصول عليه بنقع حبوب فول الصويا لمدة لاتقل عن ثلاث ساعات حسب درجة حرارة الماء المستعمل في النقع، ثم تهرس الحبوب المنقوعة مع الماء (١ : ١٠) ويرشح الناتج ثم يسخن الراشح مدة ٣٠ دقيقة لتحسين القيمة الغذائية للناتج (التخلص من مثبطات التربسين). يمتلك الناتج نكهة بقولية بسبب الاكسدة التي تحدث للبيدات بواسطة انزيم اللايبيز اثناء عمليات التحضير. لقد وجد ان معاملة حليب فول الصويا ببعض البروتييزات تؤدي الى تحسين نوعية الناتج وتقلل من لنكهة غير المرغوبة، ومع ذلك تبقى هناك اثار من هذه النكهة غير المرغوبة بسبب تعدد مصادر تلك النكهة، ومنها حوامض السيرينجيك والفانيليك والفيروليك والساليسيليك والكوماريك والكلوروجينيك، فمثلا حامض الفيروليك وحامض بارا كوماريك هما الاساس في تكوين بعض المركبات ذات النكهة غير المرغوبة مثل ٤ – فاينيل كواياكول و ٤ – فاينيل فينول.



٣- صناعة النشا

أ. شراب الذرة عالي الفركتوز

تم اكتشاف وتطوير عملية تحليل النشا بالطريقة الحامضية لتكوين كلوكوز من قبل العالم الروسي كريشهوف عام ١٨١١، وتم نشر اول دراسة عن انتاج شراب الذرة في عام ١٨١٥.

بالرغم من ان التحلل الحامضي للنشا تطبيق مهم على المستوى الصناعي الا ان هناك محددات في استخدامه بسبب بعض المشاكل مثل تكوين بعض النواتج العرضية اثناء خطوات التحضير، وفي الاونة الاخيرة تم الحصول على شراب الذرة يحوي على ما لايقل عن ٩٠% كلوكوز من السكريات الموجودة، ويطلق مصطلح مكافيء الدكستروز (Dextrose equivalent – DE) على نسبة التحلل في المنتوج النهائي، وتم تحسين نوعية منتوج شراب الذرة بتحويله الى شراب الفركتوز عالي الحلاوة باستعمال انزيم فركتوز ايزوميريز، اذ ان الفركتوز اكثر حلاوة من الكلوكوز حيث تبلغ حلاوة الكلوكوز ٧٠ والفركتوز ١٧٠ مقارنة بالسكروز ١٠٠. ان اهم عمليات التحسين التي اجريت في تصنيع المنتوج هي استخدام انزيم كلوكوز ايزوميريز المقيد، اما انزيم الفا اميليز وكلوكواميليز فانهما يستخدمان بصورتهما الذائبة غير المقيدة. وعادة يسبق خطوة التحلل بضعة معاملات اولية من اهمها فصل البروتين. هذا ويقوم انزيم الاميليز المنتج من بكتريا *Bacillus amyloliquefaciens* بالعمل في درجة حرارة ٧٠ م وهي المثلى لعمله على اسالة النشا وتكسير السلاسل الطويلة الى دكسترينات صغيرة، ويقوم انزيم كلوكواميليز المنتج من الفطر *A. niger* بتحويل الدكسترينات الى كلوكوز بعملية التحلل الكامل التي يطلق عليها مصطلح التسكير (Saccharification)، ثم تجري عملية التحويل الى الفركتوز للحصول على الناتج النهائي وهو شراب الذرة عالي الفركتوز (HFCS).

ب. انتاج المالتوز

طور الباحثون طريقة لتحليل النشا تتضمن تحويله الى مالتوز باستخدام انزيمات خاصة منتجة من كائنات محورة وراثيا، والانزيم المسؤول عن هذه العملية هو β – amylase ، ويتميز المالتوز بانه اكثر اعتدالا في الطعم الحلو من السكروز والفركتوز، ويمكن الحصول على شراب يحوي على اكثر من ٨٠% مالتوز من مجموع السكريات الكلية في المنتوج.

٤- تحوير اللبيدات

ينتج انزيم اللايبيز من قبل عدة انواع من النباتاتوالحيوانات والاحياء المجهرية، ولم تنجح اللايبيزات النباتية في التطبيقات التجارية، بينما كان النجاح الكبير لاستخدام لايبيزات الاحياء امجهرية يليها اللايبيزات من المصادر الحيوانية. ينتج اللايبيز من قبل بعض اجناس البكتريا مثل

Pseudomonas , Achromobacter , Staphylococcus

وبعض اجناس الخمائر مثل

Candida , Torulopsis

وبعض انواع الاعفان مثل

Rhizopus , Aspergillus , Geotricum

الاستخدام المهم للايبيز هو اجراء عملية الاسترة الداخلية (Interesterification) لبعض اللبيدات عن طريق فعله في التحلل الدهني حيث يقوم بفصل الاحماض الدهنية عن الكليسرول، وفي هذا المجال تقسم اللايبيزات الى مجموعتين استنادا الى التخصص في الموقع الى :

أ. مجموعة اللايبيزات غير المتخصصة، وهي تحرر الاحماض الدهنية من المواقع الثلاثة لجزيئة الكليسرول، ولذلك فهي تحلل الكليسيريدات الثلاثية بصورة كاملة الى كليسرول واحماض دهنية.

ب. مجموعة اللايبيزات المتخصصة، وتقوم هذه الانزيمات بفصل الحامض الدهني من الموقع الاول و / او الموقع الثالث وتعطي حوامض دهنية مع كليسيريدات احادية وثنائية.

وافضل مثال على ذلك تحسين نوعية زيت النخيل الاستوائي حيثيوجد في الموقعين ١ و ٣ حامض البالمتيك الذي يمكن استبداله كليا او جزئيا بالستياريك، والناتج يمثل بديل زبدة الكاكاو، وتتم عملية الاستبدال بخلط زيت النخيل مع كليسيريد ثلاثي هو ثلاثي الستيارين ويضاف اللايبيز المناسب حيث تتم اعادة ترتيب وتوزيع الاحماض الدهنية على جزيئة الكليسرول، ويطلق على هذه العملية الاسترة البينية Transesterification.

من الضروري السيطرة على التحلل الدهني وتوجيه العملية بالاتجاه المرغوب، فمثلا في الانضاج يقوم اللايبيز بتحليل الكليسيريدات الثلاثية وانتاج الاحماض الدهنية التي تتاكسد الى مركبات نكهة ضرورية ليكون المنتوج بافضل نوعية.

فيما يلي بعض التطبيقات الشائعة لاستخدام اللايبيزات:

أ. انتاج الكليسيريدات الاحادية التي تعتبر عوامل استحلاب جيدة.

ب. انتاج الحوامض الدهنية الحرة لاسيما غير المشبعة لاستخدامها في اغراض صحية مثل اميكا – ٣.

٥- صناعة الخبز والمعجنات

يتمثل دور الانزيمات في صناعة الخبز والمعجنات بالنقاط الاتية:

أ. تحسين نوعية الطحين.

ب. تاخير التجلد.

ج. تحسين خواص العجينة.

د. المساعدة في العمل الميكانيكي خاصة الاسلوب المستمر.

الانزيمات يمكن ان تحسن اللون والنكهة وخواص العجن وتحسن النوعية التغذوية للمنتوج

امثلة على الانزيمات المستخدمة في التوجهات الحديثة لصناعة الاغذية

١. الانيولينيز Inulinase : يتكون الانيولين من الفركتوز، ونظرا لاهمية الفركتوز في صناعة الاغذية فقد تم انتاج الفركتوز من الانيولين باستخدام هذ الانزيم الذي يحلل الانيولين الى مكوناته وبنسبة تصل الى ٩٩%.

٢. تحديد نوعية بعض الاغذية البحرية: يستخدم انزيم Xanthine oxidase لقياس جودة الاسماك. ينتج عن تحطم ATP المركب Hypoxanthine، ويقوم هذا الانزيم باكسدة الهايبوزانثين الى حامض اليوريك الذي يمكن قياس كميته بالاعتماد على خاصية الامتصاص الضوئي باستعمال جهاز المطياف.

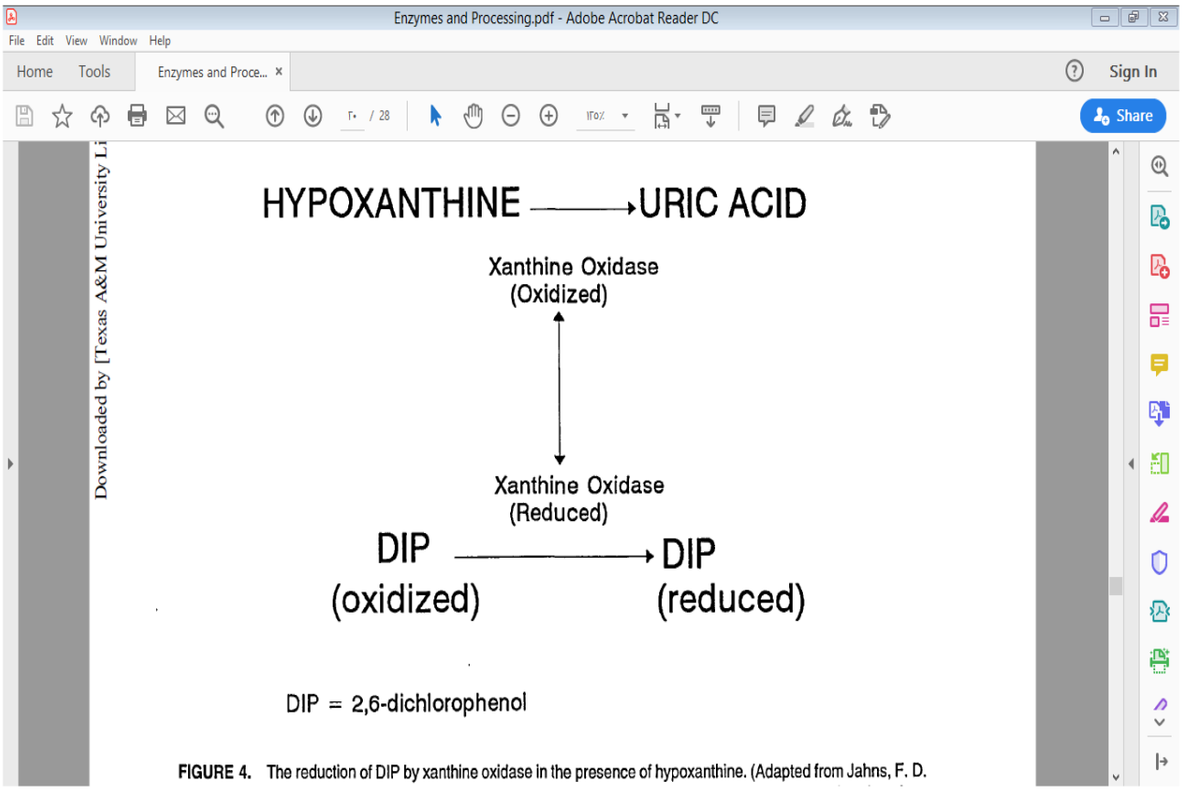


FIGURE 4. The reduction of DIP by xanthine oxidase in the presence of hypoxanthine. (Adapted from Jahns, F. D.

٣. يمكن استخدام الانزيمات للكشف عن تلوث منتجات الالبان واللحوم والاسماك والدواجن بالبكتريا، فمثلا يتم الاعتماد في ذلك على مستوى فعالية انزيم الكاتاليز، وقد تم تصميم جهاز متخصص لانجاز هذا العمل يسمى Catalasemeter . يتمكن هذا الجهاز من قياس كمية انزيم الكاتاليز في بضعة دقائق حيث تشير القيمة العالية الى وجود مستوى عال من التلوث.

٤. الانزيمات المضادة للميكروبات: تلعب الانزيمات دورا هاما في اطالة مدة حفظ الاغذية عن طريق منع او تاخير نمو الميكروبات المسببة للتلف، ويتحقق ذلك بعدة وسائل اهمها:

أ. التسبب بمشاكل ايضية للاحياء المجهرية، كما في حالة استخدام انزيم كلوكوز اوكسيديز.

ب. انتاج مركبات غير ضارة للانسان لكنها قاتلة او موقفة للنمو للبكتريا مثل انزيمات الاوكسيديز التي تقوم بتوليد بيروكسيد الهيدروجين القاتل للبكتريا.

ج. تحطيم الجدار او الغشاء الحيوي للكائنات المجهرية مثل اللايسوزايم والبروتييزات والفينوليزات.

د. تثبيط انزيمات اساسية في البكتريا باستخدام مايسمى الانزيمات القاتلة، وهذه الانزيمات على نوعين:

النوع الاول البروتييزات التي تسبب تحلل الانزيمات.

النوع الثاني انزيمات اكسدة مجموعة السلفهايدريل SH التي تهاجم الانزيمات الاخرى فتسبب تغير في التركيب الثالثي للانزيم.

٥- البروتييزات :

تنتج البروتييزات من مصادر نباتية وحيوانية ومجهرية، وماتزال بروتييزات الحيوانات البحرية تحت التجربة لعدة اسباب اهمها:

أ. قلة الدراسات.

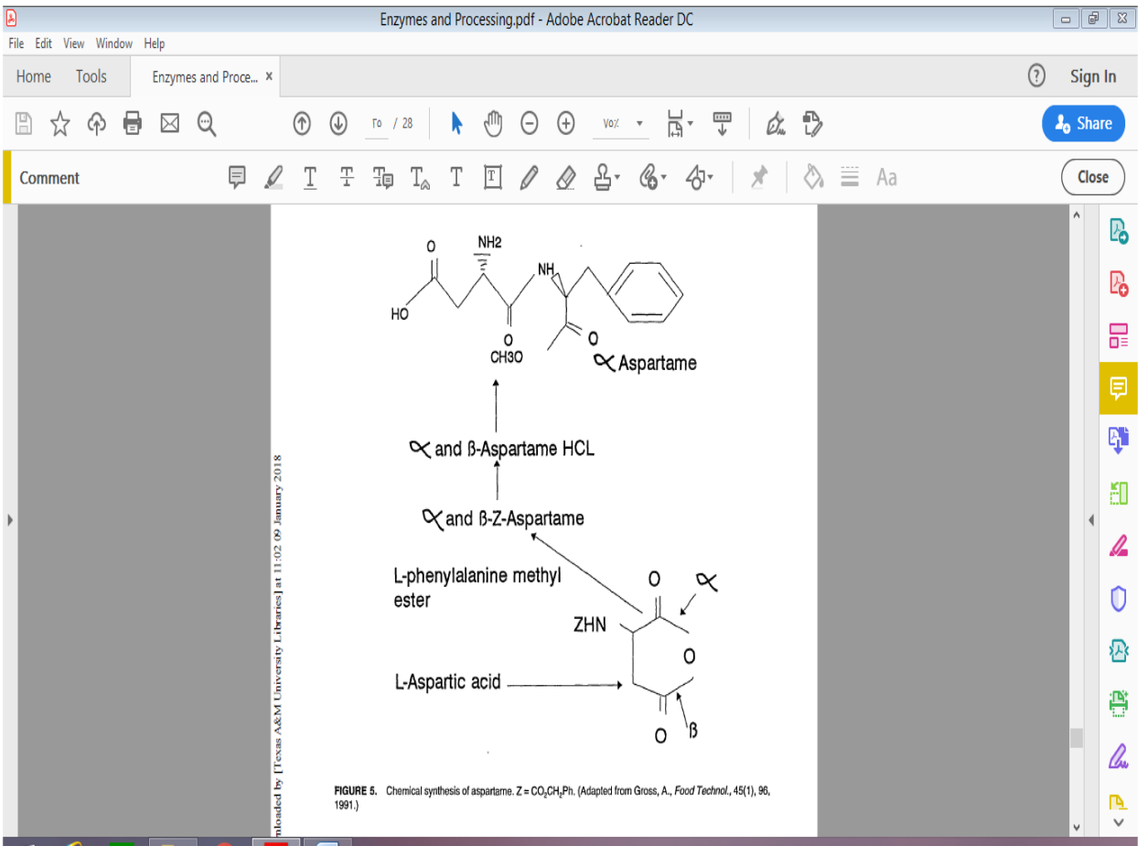
ب. التقلبات في التواجد لاسباب موسمية

ج. رائحة معظم الحيوانات البحرية والاسماك غير مرغوبة.

مع ذلك تستخلص انزيمات التربسين والببسين من الاسماك وتستخدم في تطبيقات مختلفة خاصة انتاج متحللات بروتين السمك.

٦- المحليات الصناعية : الاسبارتام Aspartame

يتناول مرضى السكر المحلي الصناعي اسبارتام الذي هو عبارة عن ناتج ارتباط استر المثيل لحامض الاسبارتيك مع الفنيل الانين، ويعرف في الاسواق باسم Nutrasweet . الخطوة الرئيسية في انتاج الاسبارتام هو تكوين الاصرة الببتيدية بين مجموعة الكاربوكسيل لحامض الاسبارتيك مع فنيل الانين المرتبط بمجموعة استر المثيل، ويتم انجاز هذا التفاعل بواسطة انزيم متخصص بهذا التفاعل يسمى ميتالو بروتييز.



المصادر :

١- الحكيم ، صادق واخرون ، ١٩٩٠ ، تصنيع الاغذية ، الجزءالاول ، مطابع دار الحكمة ، بغداد، العراق.

٢- الشبيبي ، محسن ، ١٩٩٠ ، اسس تصنيع الاغذية ، مطابع وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، بغداد، العراق.

٣- دلالي ، باسل كامل ، ١٩٩٥، الانزيمات في التصنيع الغذائي، مطابع جامعة الموصل ، الموصل ، العراق.

٤- Jennylynd James , Benjamin K. Simpson & Dr. Maurice R. Marshall (1996) Application of enzymes in food processing, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 36:5، ٤٣٧-٤٦٣، DOI: 10.1080/10408399609527735

٥- Robert J. Whitehurst and Maarten van Oort . ٢٠١٠ .Enzymes in Food Technology. Blackwell Publishing Ltd . Iowa , USA.