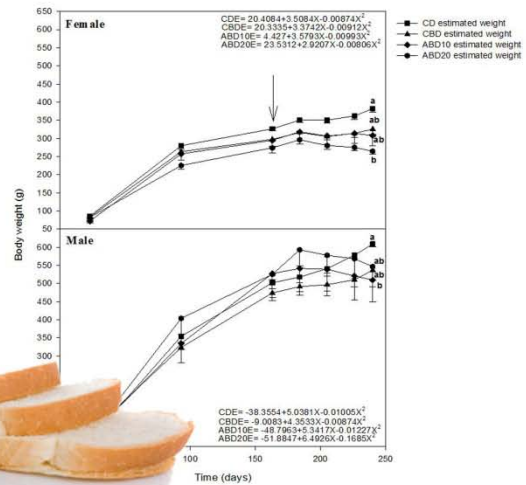


Tesis Doctoral

Keyla Carolina
Montero Quintero



Efectos del consumo de panes integrales elaborados con harina de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. y harina de trigo en ratas con síndrome metabólico



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA



TITULO: *Efectos del consumo de panes integrales elaborados con harina de Amaranthus dubius Mart. ex Thell. y harina de trigo en ratas con síndrome metabólico*

AUTOR: *Keyla Carolina Montero Quintero*

© Edita: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba. 2014
Campus de Rabanales
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A
14071 Córdoba

www.uco.es/publicaciones
publicaciones@uco.es



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

DEPARTAMENTO DE BROMATOLOGÍA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

Efectos del consumo de panes integrales elaborados con harina de *Amaranthus dubius* Mart.
ex Thell. y harina de trigo en ratas con síndrome metabólico

Memoria presentada por la Magister Scientiarum Keyla Carolina Montero
Quintero para optar al Grado de Doctora por la Universidad de Córdoba

Directores

Dra. Adriana Beatriz Sánchez Urdaneta

Dr. Rafael Moreno Rojas

CÓRDOBA 15 de julio de 2014

INFORME RAZONADO DE LOS DIRECTORES DE LA TESIS

La Tesis Doctoral "Efectos del consumo de panes integrales elaborados con harina de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. y harina de trigo en ratas con síndrome metabólico" de la doctorando D. Keyla Carolina Montero Quintero se ha desarrollado correctamente en tiempo y en forma bajo nuestra dirección y tutela y ha dado lugar a cinco artículos. El primer artículo "Composición química de *Amaranthus dubius*: una alternativa para la alimentación humana y animal" ha sido publicado en la Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia (LUZ) 2011, 28(Supl. 1):644-652 con índice de Impacto de 0,129 y posición 76/78 (cuarto cuartil) de la categoría "Agronomy"^(*). El segundo artículo "Chemical composition and digestibility of *Amaranthus dubius* mart. Ex Thell. A promising source of nutrients" ha sido enviado y se encuentra en revisión en la Revista Cereal Chemistry con índice de Impacto de 1,251 y posición 39/71 (tercer cuartil) de la categoría "Chemistry, Applied"^(*). El tercer artículo "Evaluación de panes enriquecidos con amaranto para regimenes dietéticos" ha sido enviado y se encuentra en revisión en la Revista Interciencia, con índice de Impacto de 0,280 y posición 130/136 (cuarto cuartil) de la categoría "Ecology"^(*). El cuarto artículo "Efecto del consumo de panes integrales con amaranto (*Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.) sobre la respuesta glicémica y parámetros bioquímicos en ratas *Sprague dawley*" ha sido enviado y se encuentra en revisión en la Revista Nutrición Hospitalaria, con índice de impacto de 1,305 y posición 57/76 (tercer cuartil) de la categoría "Nutrition & Dietetics"^(*). El quinto artículo "Hypolipidemic and hypoglycemic effect of wholemeal bread with amaranth on *Sprague dawley* rats" ha sido enviado y se encuentra en revisión en la revista European Journal of Lipid Science and Technology, con índice de impacto 2.266 con posición 31/124 (primer cuartil) de la categoría "Food Sciencie & Technology"^(*) y posición 33/76 (segundo cuartil) de la categoría "Nutrition & Dietetic"^(*).

Por todo ello, se autoriza la presentación de la Tesis Doctoral.

Maracaibo, y Córdoba, 10 de julio de 2014.

Firma de los directores:



Dra. Adriana Sánchez Urdaneta
Universidad del Zulia-Venezuela



Dr. Rafael Moreno Rojas
Universidad de Córdoba -España

*Journal Citation Reports (Science Edition, año 2012)

Omnipotente, altísimo, bondadoso Señor, tuyas son la alabanza, la gloria y el honor; tan sólo tú eres digno de toda bendición, y nunca es digno el hombre de hacer de tí mención.

Alabado seas por toda criatura, mí Señor, y en especial seas bendecido por el hermano sol, que alumbraba, y abre el día, y es bello en su esplendor, y lleva por los cielos noticia de su autor.

Y por la hermana luna, de blanca luz menor, y las estrellas claras, que tu poder creó, tan limpias, tan hermosas, tan vivas como son, y brillan en los cielos: ¡bendito seas mí Señor!

Y por la hermana agua, preciosa en su candor, que es útil, casta, humilde: ¡alabado seas mí Señor! Por el hermano fuego, que alumbraba al irse el sol, y es fuerte, hermoso, alegre: ¡bendito seas mí Señor!

Y por la hermana tierra, que es toda bendición, la hermana madre tierra, que da en toda ocasión las hierbas y los frutos y flores de color, y nos sustenta y rige: ¡alabado seas mí Señor!

Y por los que perdonan y aguantan por tu amor los males corporales y la tribulación: ¡felices los que sufren en paz con el dolor, porque les llega el tiempo de la consolación!

Y por la hermana muerte: ¡bendito seas mí Señor!. Ningún viviente escapa de su persecución; ¡hay sí en pecado grave sorprende al pecador!. ¡Dichosos los que cumplen la voluntad de Dios!

¡No probarán la muerte de la condenación!. Servidle con ternura y humilde corazón. Agradeced sus dones, cantad su creación. Las criaturas todas, bendecid a mí Señor. Amén.

San Francisco de Asís

La hermana naturaleza me permitió hacer uso de ella para buscar el bien de los hombres que sufren males corporales.

*Para ustedes hijas, quienes siempre serán mi norte para seguir
luchando por un buen vivir*

PAULA ANDREA

ARIANNA PAOLA

AGRADECIMIENTOS

Gracias a Dios por la vida y de haberme permitido aprender de esta experiencia,
Risa, llanto, incertidumbre, alegría muchas vivencias fortalecedoras que gracias a
Amisgos, familiares, colegas y directores fueron orientadas y superadas para
Culminar la tesis doctoral. Sin su apoyo no hubiera logrado esta meta.
Inicie este proyecto hace ocho años como un sueño, que hoy se hace realidad, el
Amaranto me permitió aprender y brindar posibles soluciones a una población
Saboreando las delicias del trabajo de la panadería y
Aprendiendo no solo a hacer pan, sino valorando la profesión.
Tantas cosas por las que agradecer, y tantos momentos vividos que no
Olvidare, junto a mi directora Adriana y mi amigo Edgar. Solo
Dios sabe las lecciones aprendidas en este recorrido.
Oscuro y claro ha sido el camino, pero me ha dejado una gran
Satisfacción en mi vida.

Especialmente:

A mis padres José e Isabel la vida no me alcanzará para agradecerles sus enseñanzas y su apoyo incondicional.

A la Dra. Adriana Beatriz Sánchez Urdaneta un ejemplo a seguir, gran parte de mi formación investigadora se la debo a usted. Gracias por sus consejos y por esas ganas de aprender conmigo algo que desconocía, sus palabras me dieron fuerza para continuar.

Al Dr. Rafael Moreno Rojas por creer hace ocho años que este proyecto era posible, gracias a su empuje inicial hoy ese sueño es realidad. Gracias por

buscar tiempo a pesar de sus múltiples compromisos para guiarme en el proceso.

Al Dr. Pedro González Redondo, su disposición a ayudarme en esos pequeños pero significativos momentos, siempre me permitieron ver un rayito de sol en los momentos de oscuridad.

Al Dr. Edgar Alí Molina gracias por ser mi compañero en el viaje de la investigación y ese punto de apoyo necesario para mover el mundo, tú me demostraste que en un equipo de trabajo las derrotas y los éxitos se comparten y en este momento estamos celebrando el logro de este sueño; ser Doctores.

Al Sr. Máximo Colina y la Dra Marinela Vega del proyecto LOCTI de Panadería de la Escuela de Nutrición por creer en este proyecto y lograr enamorarme del maravilloso mundo de la panadería.

A mi esposo Jorge Sibada, por apoyarme siempre en mis proyectos y tener esa palabra clave en la ayuda de mis decisiones.

A la Dra. Judith Aular de Duran, Vicerrectora Académica por el apoyo institucional que la Universidad me brindo a través de usted, tanto desde el punto de vista económico como administrativo para el logro de este objetivo, obtener el título de doctora.

Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES-LUZ) por el apoyo financiero otorgado para la ejecución de los proyectos de investigación.

ÍNDICE

Informe razonado de los directores de la tesis.....	III
Agradecimientos	IX
Organización de la Tesis Doctoral	19
Resumen.....	21
Palabras clave:.....	23
Abstract	25
Key words:.....	27
Introducción	29
<i>Amaranthus dubius</i>	32
Síndrome metabólico.....	37
Alimentos funcionales.....	41
Objetivos	44
Objetivo general.....	44
Objetivos específicos.....	44
CAPÍTULO I Composición química de <i>Amaranthus dubius</i> : una alternativa para la alimentación humana y animal.....	45
Resumen.....	45
Abstract.....	45
Introducción	46
Materiales y métodos	47
Recolección y procesamiento de las muestras	47
Métodos analíticos.....	48
Análisis estadísticos	48
Resultados y discusión	49
Conclusiones	52
Agradecimiento.....	52
Literatura citada.....	53
CAPÍTULO II Chemical composition and digestibility of <i>Amaranthus dubius</i> Mart. ex Thell. A promising source of nutrients.....	55
Resumen.....	56

Abstract	57
Introduction.....	58
Materials and methods	60
Sample selection and processing	60
Analysis of samples	61
Statistical analysis.....	61
Results and discussion.....	62
Chemical composition.....	62
Digestibility <i>in vitro</i>	74
Conclusions.....	76
Acknowledgement.....	76
Literature cited.....	77
CAPÍTULO III Evaluación de panes enriquecidos con amaranto para regimenes dietéticos.....	83
Resumen.....	83
Abstract	84
Abreviaturas	85
Introducción	86
Materiales y métodos.....	88
Harina de amaranto	88
Formulación y preparación de los panes	88
Análisis químicos	89
Análisis físicos.....	89
Preparación de las dietas	89
Evaluación biológica.....	90
Análisis estadístico	91
Resultados y discusión.....	91
Evaluación química.....	91
Evaluación física	94
Evaluación biológica	96
Conclusiones.....	99
Agradecimientos.....	100

Literatura citada	100
CAPÍTULO IV Efecto del consumo de panes integrales con amaranto (<i>Amaranthus dubius</i> Mart. ex Thell.) sobre la respuesta glicémica y parámetros bioquímicos en ratas <i>Sprague dawley</i>	105
Resumen.....	106
Abstract.....	107
Abreviaturas.....	108
Introducción.....	108
Materiales y métodos	111
Obtención de la harina de amaranto.....	111
Preparación del pan	111
Preparación de la dieta	112
Animales.....	112
Análisis bioquímico del suero	113
Análisis estadístico	114
Resultados y discusión	115
Conclusiones	121
Agradecimientos	121
Literatura citada.....	121
CAPÍTULO V Hypolipidemic and hypoglycemic effect of wholemeal bread with amaranth on <i>Sprague dawley</i> rats.....	125
Resumen.....	126
Abstract.....	127
Practical application.....	128
Abbreviations	128
Introduction	129
Material and methods.....	132
Obtaining amaranth flour	132
Bread preparation.....	132
Preparation of diets	132
Animals.....	133
Induction of hyperglycaemia and hyperlipidemia	134

Efectos del consumo de panes integrales elaborados con harina de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.
y harina de trigo en ratas con síndrome metabólico

Experimental diet	134
Biochemical analysis of serum	135
Statistical analysis.....	135
Results	136
Induction of the hyperglycaemia and hyperlipidemia	136
Effect of bread consumption on zoometric parameters.....	137
Effect of bread consumption on biochemical parameters	139
Discussion	142
Induction of the hyperglycaemia and hyperlipidemia	142
Effect of bread consumption on zoometric and biochemical parameters	142
Conclusions.....	144
Acknowledgement.....	144
Literature cited.....	144
Conclusiones.....	151
Literatura citada	153
Anexo.....	163

Relación de Figuras

Introducción

- Figura 1. Fotografía en campo de una planta de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell 34
- Figura 2. Fotografía de la inflorescencia de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. 35

Capítulo II

- Figure 1. Interaction effect between the parts of the plant and the collecting season (● rainy and ■ dry) on the content of dry matter, crude protein, ether extract, nitrogen free extract and total digestible nutrients in *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell..... 65
- Figure 2. Interaction effect between the parts of the plant and the collecting season (● rainy and ■ dry) on the content of acid detergent fiber, acid detergent lignin, dietetic fiber, digestibility of the organic matter and digestibility of the neutral detergent fiber in *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. 69

Capítulo III

- Figura 1. Panes elaborados con diferentes proporciones de harina de trigo y harina de amaranto..... 96

Capítulo IV

- Figura 1. Peso corporal en ratas machos *Sprague dawley* que consumieron PA0, PA10 y PA20 monitoreado por un mes..... 116
- Figura 2. Respuesta glicémica postprandial de ratas macho *Sprague dawley* en ayuno y a los 40, 80, y120 minutos después del consumo de 3g de cada dieta: PA0, PA10 y PA20 en el día 29 del protocolo. Cada valor es la media $n = 10$. Letras diferentes en cada tiempo indican diferencia significativa ($P < 0,05$)..... 120

Capítulo V

- Figure1. Body weights (means \pm SD) of CD(S) (square) CBD (triangle) ABD10 (diamond) ABD20 (circles) rats during 240 days of the protocol. 140

Relación de Tablas

Introducción

Tabla 1. Criterios para el diagnóstico clínico de síndrome metabólico de acuerdo a la AHA/NHLBI.....	39
--	----

Capítulo I

Cuadro 1. Composición proximal, contenido mineral y de sustancias tóxicas y antinutricionales en hojas, tallos y panículas de <i>Amaranthus dubius</i> Mart. ex Thell.....	50
--	----

Capítulo II

Table I. Chemical composition (g·kg ⁻¹) of <i>Amaranthus dubius</i> Mart. ex Thell. according to the part of the plant and the collecting season.....	64
Table II. Crude fiber and neutral detergent fiber contents (g·kg ⁻¹) of <i>Amaranthus dubius</i> Mart ex Thell. in different parts of the plant.....	70
Table III. Crude fiber and neutral detergent fiber content (g·kg ⁻¹) of <i>Amaranthus dubius</i> Mart ex Thell. collected in different seasons.	70
Table IV. Fiber content and digestibility (g·kg ⁻¹) of <i>Amaranthus dubius</i> Mart ex Thell. according to the part of the plant and the collecting season.	71

Capítulo III

Tabla I. Análisis proximal y contenido mineral de panes elaborados con harina de trigo y harina de amaranto.....	92
Tabla II. Análisis físico de panes elaborados con harina de trigo y harina de amaranto.	95
Tabla III. Digestibilidad aparente, digestibilidad verdadera, nitrógeno consumido, nitrógeno absorbido y utilización de la proteína de panes elaborados con harina de trigo y harina amaranto.....	98

Capítulo IV

Tabla 1. Consumo de las dietas experimentales y ganancia en peso de ratas <i>Sprague dawley</i> durante la fase experimental (21 días).	115
Tabla 2. Efecto de las dietas experimentales sobre parámetros bioquímicos en ratas <i>Sprague dawley</i> luego de 10 semanas de consumo.....	117

Capítulo V

Table 1. Composition of breads made with amaranth flour, commercial bread and experimental diets.....	133
Table 2. Biochemical profile and zoometric parameters in control rats and rats consuming sucrose water for 23 weeks.....	136
Table 3. Effect of consumption of bread prepared with amaranth on zoometric parameters in rats after 8 weeks of consumption.	138
Table 4. Effect of consumption of bread prepared with the biochemical profile of amaranth in rats after 8 weeks of consumption.....	141

ORGANIZACIÓN DE LA TESIS DOCTORAL

El presente trabajo de Tesis Doctoral está organizado en cinco (5) capítulos, todos relacionados con el uso del *Amaranthus dubius* Mart ex Thell. como ingrediente en la elaboración de panes y el efecto de su consumo sobre parámetros biológicos, bioquímicos y zoométricos en ratas Sprague dawley.

La introducción corresponde a la presentación de generalidades relacionadas con *A. dubius*; así como la exposición de la problemática situación de enfermedades no transmisibles asociadas al síndrome metabólico; y la necesidad de buscar alimentos funcionales para ser utilizados como coadyuvantes de la prevención y tratamiento de estas enfermedades.

Se exponen los objetivos que dieron origen a cinco protocolos de investigación; los cuales se presentan como capítulos en esta tesis. El artículo publicado se colocó en el formato utilizado en la revista y en los manuscrito en revisión se utilizó un formato común, con el fin de facilitar la comprensión lectora y homogeneizar la presentación.

El capítulo I corresponde al primer protocolo de la investigación, que resultó en la publicación titulada “Composición química de *Amaranthus dubius*: una alternativa para la alimentación humana y animal”, publicada en la Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ).

El capítulo II corresponde al segundo protocolo de la investigación, que resultó en el manuscrito titulado “Chemical composition and digestibility of *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. A promising source of nutrients”, enviado para arbitraje a la Revista Cereal Chemistry.

El capítulo III corresponde al tercer protocolo de la investigación, que



resultó en el manuscrito titulado “Evaluación de panes enriquecidos con amaranto para regímenes dietéticos”, enviado para arbitraje a la Revista Interciencia.

El capítulo IV corresponde al cuarto protocolo de investigación, que resultó en el manuscrito titulado “Efecto del consumo de panes integrales con amaranto (*Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.) sobre la respuesta glicémica y parámetros bioquímicos en ratas *Sprague dawley*”, enviado para arbitraje a la Revista Nutrición Hospitalaria.

El capítulo V corresponde al quinto protocolo de investigación, que resultó en el manuscrito titulado “Hypolipidemic and hypoglycemic effect of wholemeal bread with Amaranth on *Sprague dawley* rats”, enviado para arbitraje a la Revista European Journal Lipids Science and Technology.



RESUMEN

El género *Amaranthus* se caracteriza por su alto contenido de nutrientes comparables a los alimentos de origen animal. Sin embargo, la especie *Amaranthus dubius*, la cual está diseminada en Venezuela, se considera un arvense de cultivos de subsistencia, como el maíz, sorgo y leguminosas; esto impulsó la investigación sobre la posible aplicación del amaranto venezolano para la alimentación humana.

El estudio se inició con la evaluación de la composición proximal, el contenido mineral, las sustancias tóxicas y antinutricionales de muestras recolectadas en una siembra experimental en el estado Miranda, Venezuela; así mismo, se evaluó el contenido de fibra y la digestibilidad de cada una de las partes de la planta en dos épocas de recolecta. Se concluyó que *A. dubius* presentó alta concentración de proteínas y minerales; especialmente Ca, Mg y Fe, bajas concentraciones de sustancias tóxicas y antinutricionales, y no se detectó la presencia de metales pesados como Cd y Pb. Por tanto, podría ser considerado una prometedora fuente de nutrientes para la alimentación humana y animal por sus altos niveles de proteínas, especialmente en las hojas y las panículas, que se ve favorecida por la alta digestibilidad de la materia orgánica y su alto contenido de fibra, lo cual sugiere que podría ser utilizado en la preparación de alimentos funcionales o en la fabricación de alimentos para el ganado.

La incorporación de ingredientes funcionales como el amaranto (*A. dubius*) en la elaboración de panes podría ser una estrategia para mejorar su calidad nutricional debido al aporte de proteínas, minerales y fibras; por tanto, se determinó la composición proximal y contenido mineral; así como, la

evaluación biológica de panes elaborados con diferentes proporciones de harina de trigo y amaranto. Se concluyó que el pan con un 10% de amaranto presentó las mejores características visuales y la mayor composición nutricional especialmente, proteínas, lípidos y minerales. Además, presentó una alta digestibilidad comparado con la caseína. Las ratas alimentadas con la dieta de pan de amaranto al 10% mantuvieron su peso corporal. Por tanto, el uso de harina de amaranto constituye una alternativa viable para mejorar el valor nutricional de los panes y ser utilizado como coadyuvante en regímenes dietéticos hipocalóricos e isocalóricos.

La última fase de la investigación se basó en evaluar el efecto del consumo de panes elaborados con harina de trigo y amaranto sobre la respuesta glicémica y algunos parámetros bioquímicos en ratas *Sprague dawley* sanas. Así mismo, se estudió el efecto hipoglicémico e hipolipémico del consumo de los panes en ratas *S. dawley* con enfermedades asociadas al síndrome metabólico. En conclusión, el consumo de panes con harina integral de amaranto se podría asociar con el mantenimiento del peso en los regímenes normocalóricos, así como, a una relación adecuada entre el HDL-C y LDL-C lo cual se asocia a mejor salud cardiovascular. El pan con amaranto produjo una respuesta postprandial de la glucosa más estable, produciendo picos hiperglicémicos más bajos. Por lo que, el amaranto podría ser utilizado como un ingrediente funcional para mejorar las características nutricionales del pan de molde, aumentando el consumo de fibra dietética en los regímenes alimenticios normocalóricos e hipocalóricos mejorando la respuesta glicémica postprandial y el perfil lipídico de los consumidores.

Al estudiar el uso de pan en ratas con síndrome metabólico se concluyó que el consumo de pan con harina de amaranto podría estar asociado con un mejor perfil lipídico, lo que reduce el riesgo de ataques al corazón y/o alta la presión arterial. Por tanto, el pan enriquecido con amaranto podría ser utilizado como coadyuvante en la regulación de glucosa en sangre, el control de peso y otros parámetros zométricos, gracias a su contenido de fibra dietética.

El uso del amaranto como ingrediente en la elaboración de panes podría ser una alternativa para mejorar la calidad nutricional del mismo y obtener un alimento funcional debido a su aporte de fibra que podría ser utilizado en regímenes dietéticos hipocalóricos y normocalóricos, además de ayudar a la prevención y tratamiento de enfermedades cardiovasculares y metabólicas debido a su efecto hipoglicemiante e hipolipemiante.

PALABRAS CLAVE:

Amaranthus dubius, análisis proximal, época del año, digestibilidad, pan, ratas, efecto hipoglicémico, efecto hipolipémico.



ABSTRACT

The genus *Amaranthus* is characterized by its high content comparable to animal food nutrients. However, the species *Amaranthus dubius*, which is widespread in Venezuela, is considered a weed of subsistence crops such as the maize, sorghum and legumes; this impetus to research on the possible application of Venezuelan amaranth for human consumption.

The study began with the evaluation of the proximal composition, mineral content, toxic substances and antinutritional samples collected in an experimental planting in Miranda State, Venezuela; likewise, the fiber content and digestibility of each plant parts harvested two times evaluated. It was concluded that *A. dubius* showed high concentration of proteins and minerals; especially Ca, Mg and Fe, low concentrations of toxic and antinutritional substances, and heavy metals such as Cd and Pb was detected. Therefore, it could be considered a promising source of nutrients for human and animal consumption and for its high levels of protein, especially in leaves and panicles, which is favored by the high digestibility of organic matter and high in fiber, which suggests that it may be used in the preparation of functional food or in the manufacture of animal feeds.

The incorporation of functional ingredients like amaranth (*A. dubius*) in bread making could be a strategy to improve their nutritional quality due to the intake of proteins, minerals and fiber; therefore, the proximal and mineral composition was determined content; as well as biological evaluation of breads made with different proportions of wheat flour and amaranth. It was concluded that 10% bread amaranth presented the best visual features and the best especially nutritional composition, proteins, lipids and minerals. Also



showed a high digestibility compared with casein. Rats fed the diet bread amranto 10% maintained their body weight. Therefore, the use of amaranth flour is a viable option for improving the nutritional value of bread and used as an adjunct in low calorie alternative and isocaloric dietary regimens.

The last phase of the research was based on evaluating the effect of consumption of breads made with wheat flour and amaranth on glycemic response and some biochemical parameters in healthy *Sprague dawley* rats. Likewise, the hypoglycemic effect and hypolipemic bread consumption in *S. dawley* with diseases associated with metabolic syndrome was studied. In conclusion, consumption of breads with whole amaranth flour could be associated with weight maintenance in normocalorics regime and at a suitable relationship between HDL -C and LDL -C which is associated with better cardiovascular health. The bread with amaranth produced a postprandial response of glucose stable, producing lower hyperglycemic peaks. So, amaranth could be used as a functional ingredient to improve the nutritional characteristics of bread, increased consumption of dietary fiber in diet normocalorics and low-calorie dietary regimes improving postprandial glycemic response and lipid profile of consumers.

By studying the use of bread in rats with metabolic syndrome concluded that consumption of bread with amaranth flours it might be associated with a better lipid profile, reducing the risk of heart attack and/or high blood pressure. Therefore, bread enriched with amaranth could be used as an adjunct in the regulation of blood glucose, weight control and other zoometric parámetros due to its dietary fiber content.

The use of amaranth as an ingredient in making bread could be an alternative to improve the nutritional quality of it and get a functional food due to its content of fiber that could be used in low-calorie dietary regimes and normocalorics also help prevention and treatment of cardiovascular and metabolic diseases due to its hypoglycemic and lipid lowering effect.

KEY WORDS:

Amaranthus dubius, proximal analysis, time of year, digestibility, bread, rats, hypoglycemic effect, hypolipemic effect.

INTRODUCCIÓN

La Declaración Universal de los Derechos Humanos de 1948 reconoce el derecho a la alimentación como parte de los requisitos necesarios para propiciar un nivel de vida adecuado. A partir de 1996, las cumbres mundiales sobre la alimentación han ido reafirmando el derecho de toda persona a tener acceso a alimentos sanos y nutritivos para conseguir cumplir el derecho fundamental de que ninguna persona padezca hambre (FAO-UN, 2012; FAO, 2013).

El derecho a la alimentación es reconocido en la Declaración Universal de los Derechos Humanos de 1948 como parte de propiciar un nivel de vida adecuado; y en las cumbres mundiales sobre la alimentación que se han realizado desde 1996 se ha reafirmado el derecho de toda persona a tener acceso a alimentos sanos y nutritivos en consonancia con una alimentación apropiada y con el derecho fundamental de toda persona a no padecer hambre (FAO-UN, 2012; FAO, 2013).

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, hay más de 1.000 millones de personas desnutridas y casi 6 millones de niños mueren todos los años de malnutrición o enfermedades relacionadas (FAO-UN, 2012). Galisteo (2008) indicó que cerca de la mitad de todas las muertes se pueden prevenir a través de una buena alimentación.

La mayoría de los países de Latinoamérica y del Caribe se encuentran en diferentes etapas de la transición demográfica, epidemiológica y nutricional, pero es en esta última donde se manifiestan los problemas de malnutrición en todas sus formas, no solo se ven afectados por el hambre, en el sentido estricto

del déficit de consumo energético, sino también por el consumo de dietas inadecuadas, que generan sobrepeso y obesidad. Este exceso de reservas grasas afecta a todos los estratos sociales. La existencia conjunta de desnutrición y obesidad en muchos países, conocida como la «doble carga» de la malnutrición, ocasiona que la preocupación actual de los países se enfoque además del hambre, en la obesidad y sus efectos negativos en la instauración de enfermedades no transmisibles (ENT), como problemas cardiovasculares, enfermedades respiratorias crónicas y diabetes (FAO, 2013b).

Como posible remediadora de los problemas relacionados con las enfermedades no transmisibles, la OMS ha propuesto incentivar el consumo de frutos y verduras (FAO, 2014). En este sentido, las verduras tradicionales representan una fuente económica de nutrientes en los grupos menos favorecidos de la población, especialmente donde la desnutrición es generalizada. Existen plantas tradicionales que crecen en forma silvestre y están fácilmente disponibles en el campo, ya que no requieren ningún cultivo formal. Sin embargo, la disponibilidad de estas verduras silvestres ha disminuido drásticamente por el excesivo cultivo de los campos de variedades tradicionales, la eliminación de especies silvestres por el uso de herbicidas y el cambio de hábitat. Esta disminución en el uso de vegetales silvestres por muchas de las comunidades rurales ha dado lugar a una alimentación más monótona y con ello un aumento en la incidencia de los trastornos por deficiencia nutricional (Odhav *et al.*, 2008).

No obstante, los grandes y pequeños cambios en la dieta han tenido impacto nutricional desde la prehistoria. Por ejemplo, han producido variación en la estatura y composición corporal, como consecuencia de los cambios en

los patrones alimentarios, correlacionada con factores económicos, sociales, religiosos, ambientales-ecológicos y de salud (Martínez-Álvarez *et al.*, 2002).

En los últimos años los cambios en la dieta se producen por un aumento en la oferta de alimentos procesados, ricos en azúcares, grasas y sal, acompañados con la disminución en el consumo de alimentos saludables como frutos y verduras. En ese proceso, coexisten las carencias y un progresivo aumento en el sobrepeso u obesidad, siendo estos factores de riesgo en el aumento de la prevalencia de enfermedades crónicas.

En efecto, las profundas transformaciones en los patrones alimentarios de las últimas décadas, se han traducido en que a la malnutrición por déficit (alimentación insuficiente) ahora se le suma la provocada por un consumo excesivo de alimentos procesados, altos en calorías y bajos en nutrientes, normalmente más accesibles para los hogares de menores recursos respecto de otros alimentos saludables, resultando en un rápido aumento en la prevalencia de exceso de peso en niños y adultos. Ambos problemas afectan con mayor fuerza a los grupos de menor nivel socioeconómico. En consecuencia, países en desarrollo que aún se enfrentan a los costos de la malnutrición por déficit (insuficiencia de peso, malnutrición de las madres, déficit de micronutrientes, inadecuadas prácticas de lactancia materna, entre otros), ahora deben asumir también los costos de la malnutrición por exceso y sus consecuencias por enfermedades crónicas (FAO, 2013b).

Partimos de la premisa de que para mejorar esa situación se deberían aprovechar cultivos totalmente ignorados por el agricultor moderno, como el amaranto, el cual fue utilizado como alimento por las poblaciones precolombinas; pero posteriormente, su consumo decreció y fue abandonado

como cultivo durante la conquista (Paredes-López, 1994). Actualmente, algunas especies son cultivadas en algunos países, donde son muy apreciadas por la excelente calidad de sus semillas, comparables nutricionalmente con los cereales (Tejeda *et al.*, 2004; Repo-Carrasco-Valencia *et al.*, 2009).

AMARANTHUS DUBIUS

El amaranto es una planta tropical de cultivo anual perteneciente a la familia Amaranaceae, la cual abarca 70 géneros y más de 850 especies de plantas herbáceas o arbustivas (Marcone *et al.*, 2003), siendo las más estudiadas *A. cruentus*, *A. caudatus*, *A. hypochondriacus* y *A. hybridus* (Marcone *et al.*, 2003; Repo-Carrasco-Valencia *et al.*, 2009). Conocido vulgarmente como kiwicha (Perú); grano inca (Bolivia); ataco, quinua de Castilla (Ecuador); alegría (México), rejgira, ramdana, Eerai (India); bledo, yerba caracas o pira (Venezuela) (Tapia, 1997; Olivares y Peña, 2007).

Es una especie dicotiledónea considerada como un pseudocereal, nativo del continente americano, de crecimiento vigoroso con bajos requerimientos hídricos (Mujica, 1992), fotosintéticamente del tipo C₄, con alta diversidad genética y alta productividad en ambientes secos de alta luminosidad y elevadas temperaturas (Teutónico y Knorr, 1986; Kaufman, 1992). Su principal ventaja es su adaptación a una gran diversidad de ambientes por su tolerancia a condiciones adversas (Nama-Medoua y Oldewage-Theron, 2001; Tejeda *et al.*, 2004; Omami *et al.*, 2006); por lo cual, presenta ventajas sobre los cultivos convencionales (Hernández y Herrerías, 1998; Brenner *et al.*, 2000; Rana *et al.*, 2007).

El amaranto se caracteriza por tener una raíz pivotante con abundantes ramificaciones y múltiples raicillas delgadas, que se extienden rápidamente

después que el tallo comienza a ramificarse, facilitando la absorción de agua y nutrientes. El tallo es cilíndrico y anguloso con gruesas estrías longitudinales que le dan una apariencia acanalada, alcanza de 0,4 a 3 m de longitud, cuyo grosor disminuye de la base al ápice, presenta distintas coloraciones que generalmente coinciden con el color de las hojas, aunque a veces se observan estrías de diferentes colores. Las hojas son pecioladas, sin estípulas de formas ovales, elípticas, opuestas o alternas con nervaduras prominentes en el envés, lisas o poco pubescentes de color verde o púrpura, cuyo tamaño disminuye de la base al ápice, presentando el borde entero, de tamaño variable de 6,5 a 15 cm (figura 1) (Morros *et al.*, 1990; Tapia, 1997).

Las inflorescencias del amaranto corresponden a panículas amarantiformes o glomeruladas muy vistosas, terminales o axilares, que pueden variar de totalmente erectas hasta decumbentes, con colores que van del amarillo, anaranjado, café, rojo, rosado, hasta el púrpura. El tamaño varía de 0,5 a 0,9 m pudiendo presentar diversas formas (figura 2) (Troiani y Ferremola, 2005).

El amaranto es un vegetal de fácil cultivo y bajo costo de producción, considerado un pseudocereal por su alto contenido proteico, que va de 15 a 18% y por la calidad nutricional de sus proteínas en comparación con algunos cereales (trigo, arroz, maíz, entre otros) y leguminosas (Yañez *et al.*, 1994; Singhal y Kulkarni, 1988), debido a su alto contenido de lisina, triptófano y aminoácidos azufrados (Álvarez y Genta, 1993; Oleszek *et al.*, 1999) esto le permite un balance casi perfecto de aminoácidos, lo cual se ve favorecido por su alta digestibilidad. Así mismo, es fuente de calorías, minerales (Ca, P, Fe Mg), vitaminas (ácido fólico, vitamina A y C), ácidos grasos esenciales (ácido

linoleico), escualeno y no contiene gluten (Lehmann, 1991; Budin *et al.*, 1996; Gorinstein *et al.*, 2000; Aletor *et al.*, 2002; Kala y Prakash, 2004; Molina *et al.*, 2011).



Figura 1. Fotografía en campo de una planta de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.



Figura 2. Fotografía de la inflorescencia de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.

El amaranto que es utilizable desde la panícula hasta la raíz, tiene múltiples usos: en la alimentación humana y animal, en la industria, en la medicina y en la ornamentación. En la alimentación humana se usa el grano entero o molido, tostado, reventado o hervido, en forma de harina, en tanto que sus hojas y tallos se consume como verdura (Ortega, 1992; Barba de la Rosa *et al.*, 2009); se emplea como planta forrajera en la alimentación de cerdos, ovinos, caprinos, vacunos, entre otros (Masoni y Ercali, 1994; Matteucci *et al.*, 1999; Piloto *et al.*, 2004; Troiani y Ferramola, 2005) y como infusiones medicinales (Saunders y Becker, 1984; Delascio-Chity, 1985; Chaturvedi *et al.*, 1993). El amaranto se ha empleado en el tratamiento de ciertas patologías, como: edemas, gastroenteritis, abscesos, inflamación, artritis, cólicos, hipercolesterolemia, desnutrición y celiaquía (Plate y Áreas, 2002; Czerwinski *et al.*, 2004; Guerra-Matías y Áreas, 2005, Hussain *et al.*, 2008).

Las especies más apreciadas debido a la calidad nutricional y la presencia de sustancias bioactivas en sus semillas son *A. cruentus*, *A. caudatus* y *A. hypochondriacus* (Tejeda *et al.*, 2004; Barba de la Rosa *et al.*, 2009; Repo-Carrasco-Valencia *et al.*, 2009; Álvarez-Jubete *et al.*, 2010). Por otro lado, en los últimos años ha aumentado el interés en el estudio de especies productoras de hojas, como *A. dubius* (Arellano *et al.*, 2004; De Troiani y Ferramola, 2005; Acevedo *et al.*, 2007; Molina *et al.*, 2011; Montero-Quintero *et al.*, 2011), *A. tricolor* (Kala y Prakash, 2005), *A. viridis* (Pandhare *et al.*, 2012) y *A. spinosus* (Hussain *et al.*, 2009).

En Venezuela, el amaranto (*A. dubius* Mart ex. Thell.) es considerado un arvense de los cultivos tradicionales (Marteucci *et al.*, 1999); sin embargo, las características nutricionales y agronómicas del género *Amaranthus*, así como la

presencia poco frecuente de factores antinutricionales comunes en cereales y leguminosas como la soja, y la no evidencia de presencia de alérgenos y enzimas inhibitorias (Gorinstein *et al.*, 2000) la convierten en una planta de potencial interés para ser usada en la industria agroalimentaria.

SINDROME METABÓLICO

Una enfermedad es definida como una condición en la que la función normal de un organismo es alterada, enlazado con un origen patogénico y donde existen rasgos, síntomas y trastornos específicos e identificables. Las principales enfermedades relacionadas con la morbilidad y mortalidad en los países occidentales y en la región de Asia y el Pacífico son las enfermedades cardiovasculares y la diabetes. Estudios epidemiológicos sugieren que los factores de riesgo más importantes de estos padecimientos incluyen la hipercolesterolemia y la hiperglucemia (Kaur *et al.*, 2002; Turlouki *et al.*, 2009).

Un síndrome es la asociación y fusión de múltiples enfermedades que no comparten necesariamente un agente causal común, proceso o mecanismo (Alemany, 2013). El síndrome metabólico (SM) se considera un grupo de rasgos patológicos relacionados a una enfermedad multiforme (asociada a la diabetes, enfermedad cardiovascular, entre otros) que se caracteriza por una amplia variación en los patrones e intensidad de los síntomas (Sorrentino, 2005; Desroches y Lamarche, 2007; Cornier *et al.*, 2008).

Los factores relacionados directamente como causales del SM son la dieta, la genética y el ambiente, con énfasis en los elementos de la dieta (Rodríguez *et al.*, 2002; Kuller, 2006; Lorincz y Sukumar, 2006). El exceso de energía en las dietas que caracteriza al SM tienen varios efectos, como la

obesidad, la resistencia a la insulina, hiperlipidemia y la hipertensión arterial (Alberti *et al.*, 2006); así como la presencia de bajas concentraciones de lipoproteína de alta densidad (HDL) en sangre y la hiperglucemia (Eckel *et al.*, 2005), los cuales son considerados críticos por formar la base para el desarrollo de numerosas patologías asociadas con esta condición.

Todas estas anormalidades que se presentan en el SM pueden aparecer de forma simultánea o secuencial en un mismo individuo, como consecuencia de la combinación de los factores antes mencionados y se asocia con un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares y diabetes (Isomaa *et al.*, 2001; Grundy *et al.*, 2004; Malik *et al.*, 2004).

La Asociación Americana del Corazón (AHA, por sus siglas en inglés) y el Instituto Nacional de los Pulmones, el Corazón y la Sangre (NHLBI, por sus siglas en inglés), presentaron su definición operacional del SM, el cual se identifica por la presencia de al menos tres de los criterios mencionados por Grundy *et al.* 2005 (tabla 1).

Si bien el estilo de vida parece ser el detonante de los factores patogénicos, los elementos genéticos están involucrados en la etiología de la diabetes. Una historia familiar positiva para el padecimiento confiere un incremento en el riesgo a padecer la enfermedad. Se ha señalado que del 15 al 25% de los sujetos con familiares afectados en primer grado desarrollaron intolerancia a la glucosa o diabetes. El riesgo a desarrollar diabetes a lo largo de la vida se ha calculado en 38%, si uno de los padres padece la enfermedad y en 60%, si ambos padres están afectados (Stumvoll, 2005).

Tabla 1. Criterios para el diagnóstico clínico de síndrome metabólico de acuerdo a la AHA/NHLBI.

Criterio		Punto de corte categórico
Perímetro de cintura	–	>102 cm (hombres)
	–	> 88 cm (mujeres)
Triglicéridos	–	> 150 mg·dL ⁻¹
HDL-C		< 40 mg·dL ⁻¹ (hombres)
		< 50 mg·dL ⁻¹ (mujeres)
Presión arterial	–	> 130 mm Hg
	–	> 85 mm Hg
Glucosa en ayuno	–	>100 mg·dL ⁻¹

Fuente: Grundy *et al.*, 2005.

El SM afecta a todo sistema y órganos que intervienen en el control de la energía, que se manifiesta de diferentes maneras y patrones, y por lo tanto, afectando a todo el cuerpo a través del suministro de energía alterado (Alemany, 2013). La prevalencia del SM es cada vez mayor en todo el mundo, tanto en adultos mayores (Meigs *et al.*, 2003; Ford *et al.*, 2004), como en niños y jóvenes (Weiss *et al.*, 2004). Todo esto relacionado o en paralelo con la epidemia mundial de obesidad y diabetes (Zimmet *et al.*, 2001). Debido a su relación con un mayor riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular y diabetes, el SM es considerando actualmente un importante problema de salud pública que exige atención urgente, tanto terapéutica como preventiva.

Actualmente, se debe hacer énfasis en mitigar aquellos factores de riesgo modificables como la obesidad, la inactividad física y una dieta aterogénica inapropiada a través de cambios en el estilo de vida (Grundy *et al.*,

2005), lo cual podría ser potencialmente modificable desde el punto de vista nutricional (Galisteo, 2008).

Se han demostrado los beneficios de una dieta con alto consumo de frutas, legumbres, verduras y cereales para disminuir la prevalencia de la diabetes y la aterosclerosis (Adams *et al.*, 2006; Bazzano *et al.*, 2008; Mirmiran *et al.*, 2009). Dichos alimentos son considerados como importantes fuentes de fibra dietética (Marlett *et al.*, 2002); la cual es componente fundamental de la dieta, y que parece ser particularmente beneficiosa en el control de la mayor parte de los trastornos agrupados en el SM (Davy *et al.*, 2003; Delzenne y Cani, 2005). Un gran número de estudios en seres humanos y en modelos experimentales han evidenciado la eficacia de la fibra dietética en la regulación del peso corporal, consumo de alimentos, la homeostasis de la glucosa, sensibilidad a la insulina y otros factores de riesgo de enfermedad cardiovascular como, el perfil lipídico en suero, la hipertensión y marcadores inflamatorios (Venn y Mann, 2004; Delzenne y Cani, 2005). Por tanto, tiene un efecto positivo sobre la prevención de la obesidad, las enfermedades cardiovasculares y/o la diabetes tipo 2, así como en otras alteraciones que se presentan en los individuos afectados por el SM (McKeown *et al.*, 2004, Sahyoun *et al.*, 2006).

ALIMENTOS FUNCIONALES

A nivel mundial se ha evidenciado la prevalencia de las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) relacionadas con la alimentación. Diversos antecedentes permiten estimar que cerca de la mitad de las muertes por enfermedades cardiovasculares (ECV) y un tercio de los casos de cáncer pueden ser evitados si se adoptan estilos de vida saludable, incluyendo una alimentación adecuada, desde etapas tempranas (OMS, 2004).

En los últimos años, las investigaciones nutricionales se han centrado en la relación entre el consumo de alimentos y su rol en la prevención de las ECNT; por tanto, la nutrición está siendo orientada al uso de los llamados alimentos funcionales que, además de los nutrientes, contienen otros compuestos biológicamente activos que aportan un beneficio adicional, tanto para mejorar el estado de salud, bienestar y/o la reducción del riesgo de alguna enfermedad (Sloan, 1999; Araya y Lutz, 2003).

La tendencia actual hacia el desarrollo de alimentos funcionales ha ganado seguidores a nivel mundial, especialmente en los productos de panadería, los cuales han sido complementados con diferentes sustancias nutritivas y protectoras que permiten disminuir la incidencia de ciertos tipos de patologías asociadas con los alimentos.

El bajo consumo de fibra se ha asociado con enfermedades coronarias, aterosclerosis y cáncer de colon, por lo que una mayor cantidad de fibra en la dieta causaría una menor incidencia de estas enfermedades (Matia *et al.*, 2007; Sanz-Penella *et al.*, 2009). Por tanto, se recomienda el incremento del consumo de frutos y vegetales por considerarse como una fuente de fibra dietética importante (Hung *et al.*, 2004, Erdman *et al.*, 2007); asimismo, estudios



epidemiológicos, confirman que el consumo de alimentos ricos en cereales y pseudocereales ayudan a prevenir enfermedades crónicas (Galisteo *et al.*, 2008).

El pan es un producto de consumo elevado en todo el mundo y contribuye en algunos casos entre el 45 al 60% de la energía de la dieta, debido al aporte de carbohidratos. Los productos de la panificación tienen gran aceptación a nivel mundial, son económicos, fáciles de empacar y transportar. Además pueden tener un gran volumen de producción, lo cual aumenta las inmensas posibilidades de elaboración de alimentos funcionales. Estos productos representan una alternativa interesante como productos saludables y/o funcionales, ya que cabe la posibilidad de transformar los productos tradicionales en alimentos funcionales, al adicionarles compuestos bioactivos de efecto reconocido, tales como ciertos tipos de fibras dietéticas, prebióticos, ácidos grasos omega-3, antioxidantes u otros (Lutz y Edel-León, 2009).

El consumo de productos de panadería, los cuales han sido complementados con diferentes sustancias nutritivas y protectoras han ganado popularidad, ya que hoy en día, una buena parte de los consumidores buscan aumentar el consumo de alimentos funcionales que permitan disminuir la incidencia de ciertos tipos de patologías asociadas con los alimentos.

La incorporación de ingredientes funcionales por su cantidad de fibra es una estrategia importante en la formulación de dietas para diabéticos, obesos, pacientes con dislipidemias, destinadas a mejorar el control metabólico de estas patologías (Jenkins *et al.*, 2002), ya que la presencia de fibra tiene efectos positivos sobre el colesterol en sangre, y la reducción de la absorción intestinal de glucosa, por tanto, ayuda con la prevención y control de enfermedades



cardiovasculares y metabólicas (Aleixandre y Miguel, 2008; Repo-Carrasco-Valencia, 2009).

Todo lo antes mencionado sugiere la posibilidad de que las plantas de amaranto pudieran ser utilizadas para obtener una materia prima que permita aumentar la calidad nutricional de algunos alimentos y en la formulación de nuevos productos, como galletas, panes, bebidas instantáneas, cremas, entre otras (Sánchez, 1983), que podrían ser utilizados como alimentos funcionales para mejorar la nutrición de la población, y contribuir al tratamiento de enfermedades comunes como hipercolesterolemia, diabetes y anemia entre otros.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto del consumo de panes integrales elaborados con harina de trigo y harina de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. en ratas *Sprague dawley* con síndrome metabólico.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar la composición proximal, contenido mineral y la presencia de sustancias tóxicas y antinutricionales de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.
2. Comparar la composición química y digestibilidad en hojas, tallos y panículas de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. cultivado en época lluviosa y seca.
3. Determinar la composición proximal, contenido mineral y calidad biológica de panes integrales con diferentes proporciones de harina de trigo y harina de amaranto.
4. Contrastar el efecto del consumo de un pan integral con harina de trigo y harina de amaranto sobre la respuesta glicémica y parámetros bioquímicos en ratas *Sprague dawley* sanas.
5. Analizar el efecto hipolipémico e hipoglicémico del consumo de un pan integral con harina de trigo y harina de amaranto en ratas con alto consumo de azúcar.
6. Comparar el efecto de la inclusión de harina de amaranto a la de trigo, sobre parámetros bioquímicos en ratas con síndrome metabólico.

CAPÍTULO I

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE *AMARANTHUS DUBIUS*: UNA ALTERNATIVA PARA LA ALIMENTACIÓN HUMANA Y ANIMAL

K. Montero-Quintero, R. Moreno-Rojas, E. Molina y A.B. Sánchez-Urdaneta.

Publicada en la Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia (LUZ) 2011, 28(Supl. 1):644-652. Índice de Impacto de 0,129 y posición 76/78 (cuarto cuartil) de la categoría “Agronomy” del Journal Citation Reports (Science Edition, año 2012).

RESUMEN

Amaranthus dubius es una especie altamente diseminada en Venezuela, se considera un arvense de cultivos de subsistencia, como maíz, sorgo y leguminosas. En general, el género *Amaranthus* se caracteriza por su alto contenido de nutrientes en hojas y semillas. Se evaluó su composición proximal, el contenido mineral, las sustancias tóxicas y antinutricionales de muestras recolectadas en una siembra experimental en el estado Miranda, Venezuela. En los análisis se utilizaron métodos analíticos clásicos. Se demostró un alto contenido de nutrientes en hojas, tallos y panículas, especialmente proteínas y minerales y bajas concentraciones de sustancias tóxicas y antinutricionales, lo cual sugiere que el *A. dubius* podría ser utilizada en la alimentación humana y animal.

Palabras clave: *Amaranthus*, composición química, sustancias tóxicas, alimentación.

ABSTRACT

Amaranthus dubius is a highly disseminated in Venezuela, is considered a weed of subsistence crops, as corn and sorghum and legumes. In general, the genus *Amaranthus*, is characterized by its high content of nutrients in leaves and seeds. Proximate composition, mineral content, toxic and antinutritional substances was evaluated, in samples recollected in an experimental planting in Miranda State, Venezuela. In the analysis used classical analytical methods. It showed a high content of nutrients in leaves, stems and panicles, especially minerals and proteins and low concentrations of toxic and antinutritional, which suggests that *A. dubius* might be used in the human and animal feeding.

Key words: *Amaranthus*, chemical composition, toxic substances, feeding.

INTRODUCCIÓN

El amaranto es una planta perteneciente a la familia Amaranaceae, género *Amaranthus*, la cual tiene más de 60 especies distribuidas en zonas tropicales y subtropicales. Es una planta fotosintéticamente del tipo C₄, con alta diversidad genética, alta productividad y se adapta a diferentes condiciones edafoclimáticas, especialmente a suelos secos y altas temperaturas (Olivares y Peña, 2009).

En Venezuela se encuentran distribuidas unas 12 especies de amaranto, conocidas como bleado o pira; siendo las principales *A. dubius*, *A. spinosus* y *A. hybridus* (Olivares y Peña, 2009), estas crecen en forma silvestre y comúnmente se consideran arvenses de varios cultivos de subsistencia, como el maíz, sorgo y algunas leguminosas (Matteucci *et al.*, 1999); sin embargo, se

usan de manera marginal en sus regiones de origen; con un interés medicinal, como verdura para la alimentación humana o como forraje complementario en la alimentación de animales (Matteucci *et al.*, 1999).

En los últimos años el amaranto ha sido ampliamente estudiado, una de las razones del renovado interés, es su excelente perfil de nutrientes; comparable con los cereales. Recientemente se ha demostrado que las semillas de amaranto tienen un alto valor nutricional, asociado con la cantidad y calidad de sus proteínas, contiene grasas, fibras, minerales y vitaminas; y además contiene compuestos bioactivos, tales como, saponinas, fitoesteroles, escualeno y polifenoles (Barba de la Rosa *et al.*, 2009).

Las cualidades nutricionales y características agronómicas de las distintas especies de amaranto las convierten en plantas de potencial interés para ser usadas en la industria agroalimentaria. En la alimentación humana se consumen sus semillas como cereal y sus hojas y tallos como verdura (Olivares y Peña, 2009); se emplea también como planta forrajera en la alimentación de cerdos, ovinos, caprinos, vacunos, entre otros (Matteucci *et al.*, 1999).

Se evaluó la composición proximal, contenido mineral y la presencia de sustancias tóxicas y antinutricionales de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. como una especie de potencial interés para uso agroindustrial.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección y procesamiento de las muestras

Las muestras de *A. dubius* se recolectaron en una siembra experimental ubicada en la finca El Néctar, sector Merecure, municipio Acevedo, estado Miranda, Venezuela. Se separaron hojas, tallos y panículas, las cuales fueron

secadas en una estufa (50 a 60 °C·40 h⁻¹) con rotación y aireación constante. Luego se molieron y tamizaron a 0,5 mm (Resh Muhle Dietz, LB1-27) y almacenaron en envases de plástico con tapa hermética y cubiertas con un saco de tela para su posterior análisis.

Métodos analíticos

La composición proximal se determinó por los métodos de la Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1997), para la concentración de oxalato se utilizó un kit de análisis (Oxalateurinalysis diagnostic kit: Procedure No. 591, Sigma, St. Louis, MO) (Ilarslan *et al.*, 1997). El contenido de fitatos se determinó por el método de la solución cromogénica y para fenoles se empleó el método de Folin Ciocalteu (Onyango *et al.*, 2005). El contenido de nitratos se determinó por técnica colorimétrica de nitración del ácido salicílico (Valdes *et al.*, 2004). El contenido de mineral se realizó por espectrofotometría de absorción y emisión atómica.

Análisis estadísticos

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con ocho repeticiones y tres submuestreos. Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza y subsecuente comparación múltiple de medias con la prueba de Tukey; para ello se utilizó el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System; 2002-2003, versión 9.1.3).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observaron diferencias estadísticas entre las diferentes partes de la planta analizadas ($P < 0,05$). El contenido de cenizas (cuadro 1) varió 13,52 a 20,18% entre las partes de la planta, siendo las hojas y las panículas las que presentaron los mayores valores. Los valores encontrados fueron altos comparados con otros vegetales de consumo convencional (Hernández *et al.*, 1987). Este importante hallazgo determina la importancia de la especie como fuente de minerales para cubrir los requerimientos en humanos y animales.

Las diferentes partes de las plantas no mostraron diferencias estadísticas en el contenido de Mg, Al y Hg ($P > 0,05$), pero hubo diferencias entre algunas partes de la planta con respecto al contenido de Na, K, Ca, Fe, Zn y Cu ($P < 0,05$; cuadro 1). Con respecto al contenido de minerales se observó que la concentración de Mg presentó una variación entre 673,84 y 455,04 $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, el Ca entre 3088,20 y 1294,50 $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ y el Fe entre 73,08 y 41,75 $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Las hojas presentaron los valores más altos de metales esenciales con respecto a los tallos y las panículas, en el caso de los metales pesados, los tallos presentaron los valores más altos de Al y Hg con 215,86 $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ y 0,38 $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, respectivamente, no se evidenció la presencia de Cd y Pb (cuadro 1).

Cuadro 1. Composición proximal, contenido mineral y de sustancias tóxicas y antinutricionales en hojas, tallos y panículas de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.

Variables	Partes de la planta		
	Hojas	Tallos	Panículas
Análisis proximal (%)			
Materia seca	89,90 ^b	91,76 ^a	91,15 ^a
Cenizas	20,18 ^a	17,35 ^b	13,52 ^c
Proteína cruda	26,34 ^a	6,41 ^c	20,53 ^b
Fibra cruda	9,24 ^c	33,28 ^a	23,02 ^b
Extracto etéreo	1,04 ^b	0,62 ^c	1,83 ^a
ELN	43,22 ^a	42,38 ^{ab}	41,12 ^b
NDT	62,68 ^c	64,28 ^b	67,75 ^a
Tóxicos y antinutricionales			
Fenoles totales (mg·100 g ⁻¹)	1,15 ^a	0,55 ^b	1,24 ^a
Fitatos(mg fitato·g ⁻¹)	2,29 ^b	1,14 ^c	6,99 ^a
Oxalato (mg oxalato·100g ⁻¹)	29,24 ^a	20,98 ^b	17,62 ^c
Nitratos (mg NO ₃ ⁻¹ ·kg ⁻¹)	135,40 ^b	255,88 ^a	220,70 ^a
Minerales(mg·100g⁻¹)			
Na	72,09 ^a	54,42 ^{ab}	38,58 ^b
K	2898,10 ^b	4184,50 ^a	2744,40 ^b
Mg	673,84 ^a	455,04 ^a	518,22 ^a
Ca	3088,20 ^a	1294,50 ^b	1559,50 ^b
Fe	73,08 ^a	41,75 ^b	60,71 ^{ab}
Zn	12,05 ^a	4,34 ^b	5,57 ^b
Cu	1,90 ^a	1,41 ^b	1,65 ^{ab}
Al	195,18 ^a	215,86 ^a	199,30 ^a
Hg	0,38 ^a	0,34 ^a	0,24 ^a

Los valores con letras diferentes en la misma fila presentaron diferencias estadísticas (P<0,05).

Nd: no se detectó la presencia de Pb y Cd.



La alta concentración de Ca, Mg y Fe en comparación con cereales, y los bajos niveles de oxalatos (29,24 a 17,62 mg oxalato·100g⁻¹ (cuadro 1) encontrados, permiten proponer al *A. dubius* como una fuente importante de minerales, su consumo podría prevenir y mejorar enfermedades como la osteoporosis, osteomalacia y anemias ferropénicas (Mahan y Escott-Stump, 2001).

Para el contenido de proteínas se encontraron diferencias estadísticas entre las partes de las plantas analizadas ($P < 0,05$). El contenido de proteínas de la especie en estudio fue mayor en las hojas (26,34%), seguido por las panículas (20,53%) y los tallos (6,41%) (cuadro 1). Los valores encontrados se consideraron elevados para un vegetal, en algunos casos duplicó la concentración reportada en otras especies de amaranto, de cereales o de vegetales consumidos habitualmente como fuente de proteínas (Hernández *et al.*, 1987; Barba de la Rosa *et al.*, 2009).

Este importante hallazgo determina la importancia de la especie como fuente de proteínas para cubrir los requerimientos en humanos y animales, una vez que se determine su calidad biológica.

Se presentaron diferencias estadísticas para los contenido de fenoles totales, fitatos, oxalatos y nitratos entre algunas partes de la planta ($P < 0,05$). Se observó que la concentración de oxalatos varió entre 29,24 mg oxalato·100g⁻¹ y 17,62 mg oxalato·100g⁻¹ siendo mayor en la hoja; el contenido de nitratos fue mayor en el tallo (255,88 mg NO₃⁻¹·kg⁻¹) seguido por la panícula (220,70 mg NO₃⁻¹·kg⁻¹), en el caso de fenoles totales y fitatos se presentaron los valores más altos en la panícula con 1,24 mg·100 g⁻¹ y 6,99 mg fitato·g⁻¹, respectivamente.

Las bajas concentraciones de sustancias tóxicas y antinutricionales y la ausencia de metales pesados como Cd y Pb; así como, los bajos niveles de Hg y Al encontrados permiten inferir que el consumo *A. dubius* no representa un riesgo para el consumo. Además los bajos contenidos de fitatos se han relacionado con efectos positivos como, el retardo de la digestibilidad del almidón, disminución de la respuesta de glucosa, hipocolesterolemia, prevención de cálculos renales, anticancerígeno (Kumar *et al.*, 2009); mientras que los fenoles han sido relacionados con actividad antioxidante (Barba de la Rosa *et al.*, 2009).

CONCLUSIONES

Amaranthus dubius presentó alta concentración de proteínas y minerales; especialmente Ca, Mg y Fe, bajas concentraciones de sustancias tóxicas y antinutricionales, y no se detectó la presencia de metales pesados como Cd y Pb. La composición química de *A. dubius* le confiere un gran interés nutricional, ya que puede ser utilizada como una nueva fuente de nutrientes de bajo costo en materias primas de la industria agroalimentaria, comparable con fuentes convencionales como leguminosas y forrajeras.

AGRADECIMIENTO

Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES) por el financiamiento de esta investigación (proyectos N° CC-0800-08 y CC-0881-08). A la Fundación para el Desarrollo de Cooperativas de Alimentos de Caracas (FUNDECA) por permitir la toma de muestras para la realización de la investigación.

LITERATURA CITADA

- AOAC. 1997. Official method of analysis. 20th Ed. K. Heirich (Ed.). Washington, D.C. 1110-1117 pp.
- Barba de la Rosa, A.I., B. Fomsgaard, A. Laursen, L. Mortensen, C. Olvera-Martínez, C. Silva-Sánchez, J. Mendoza-Herrera, A. González-Castañeda, A. De León-Rodríguez. 2009. Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) as an alternative crop for sustainable food production: Phenolic acids and flavonoids with potential impact on its nutraceutical quality. *Journal Cereal Science* 49:117-121.
- Hernández, M., M. Chavez, H. Bourges. 1987. Valor nutritivo de los alimentos mexicanos. Instituto Nacional de la Nutrición. México. Publicación División. Nutrición L-12.
- Ilarslan, H., R.G. Palmer, J. Imsande, H.T. Horner. 1997. Quantitative determination of calcium oxalate and oxalate in developing seeds of soybean (Leguminosae). *American Journal Botany* 84:1042-1046.
- Kumar, V., A.K. Sinha, H.P.S. Makka, K. Becke. 2010. Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review. *Food Chemistry* 120: 945-959.
- Mahan, L.K., S. Escott-Stump. 2001. Nutrición y dietoterapia de Krauser. 10ª edición. Editorial Interamericana McGraw-Hill, Madrid. 1274 pp.
- Matteucci, S.D., L. Pla, A. Colma. 1999. Recolección sistemática de germoplasmas de *Amaranthus* spp. en ecosistemas secos del estado Falcón, Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*. 16:356-370.
- Olivares, E., E. Peña. 2009. Bioconcentración de elementos minerales en *Amaranthus dubius* (bledo, pira), creciendo silvestre en cultivos del estado Miranda, Venezuela, y utilizado en alimentación. *Interciencia* 24(9):604-611.
- Onyango, C., H. Noetzold, A. Ziems, T. Hofmanna, T. Bley, T. Henle. 2005. Digestibility and antinutrient properties of acidified and extruded maize-finger millet blend in the production of Fuji. *Food Science and Technology* 38(7):697-707.
- Valdés, A., M.F. Filippini, L. Martí, C. Salcedo. 2004. Determinación de nitratos en vegetales comparación de cuatro métodos analíticos. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. UNCuyo* 36(1):21-28.

CAPÍTULO II

CHEMICAL COMPOSITION AND DIGESTIBILITY OF *AMARANTHUS DUBIUS* MART. EX THELL. A PROMISING SOURCE OF NUTRIENTS

Composición química y digestibilidad de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. Una fuente promisoría de nutrientes

Enviado para arbitraje a la revista Cereal Chemistry. Índice de Impacto de 1,251 y posición 39/71 (tercer cuartil) de la categoría “Chemistry, Applied” del Journal Citation Reports (Science Edition, año 2012).

Keyla Carolina Montero-Quintero¹, Rafael Moreno-Rojas², Edgar Alí Molina¹, Pedro González-Redondo³, and Adriana Beatriz Sánchez-Urdaneta^{4*}

¹Departamento de Química, Facultad de Humanidades y Educación, Universidad del Zulia, Venezuela.

²Departamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos. 14071. Córdoba, España.

³Departamento de Ciencias Forestales, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Universidad de Sevilla. 41013. España.

⁴Departamento de Botánica, Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia, Venezuela. *e-mail: usanchez@fa.luz.edu.ve

RESUMEN

Se evaluó la composición química y digestibilidad de las hojas, tallos y panículas de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. Se recolectaron las muestras en Merecure, estado Miranda, Venezuela, en dos temporadas (época lluviosa y seca). Se determinó la composición proximal, fibra dietética, fibra ácido detergente, fibra neutro detergente, lignina y la digestibilidad de la materia orgánica y de la fibra neutro detergente. Se observó interacción entre los factores de estudio en la mayoría de estos análisis, excepto para la fibra cruda y fibra neutro detergente. El mayor contenido de proteína ($270,90 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), cenizas ($211,70 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) y la más alta digestibilidad de la materia orgánica ($910,80 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) y de la fibra neutro detergente ($770,50 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) se encontraron en las hojas durante la época lluviosa. La concentración de proteínas fue menor en los tallos durante la época seca ($60,80 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), bajo contenido de grasa ($3,60 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) y menor digestibilidad de la materia orgánica ($469,90 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) se encontraron en el tallo en la época de lluvia. La panícula presentó el contenido más elevado de grasa ($22,40 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) y lignina ($190,90 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$). La parte de la planta y la época de cosecha afectó la composición proximal y contenido de fibra de *A. dubius*. Debido a su alto valor nutritivo y la digestibilidad, sugiere tener alto potencial como suplemento alimenticio.

Palabras clave: *Amaranthus dubius*, composición química, fibra, órgano de la planta, digestibilidad.

ABSTRACT

The chemical composition and digestibility of leaves, stems and panicles of *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell were evaluated. We collected the samples in Venezuela, in two collecting seasons (rainy and dry). We determined the proximate composition, dietetic fiber, acid detergent fiber, neutral detergent fiber, lignin and digestibility of the organic matter and of the neutral detergent fiber. We observed the interaction among these factors in most of these analyses, except for the crude fiber and neutral detergent fiber. The highest content of protein ($270.90 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), ashes ($211.70 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) and the highest digestibility of the organic matter ($910.80 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) and of the neutral detergent fiber ($770.50 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) were found in leaves during the rainy season. Protein concentration was lower in the stems during the dry season ($60.80 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), and the lowest ether extract content ($3.60 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) and lower digestibility of the organic matter ($469.90 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) were found in the stems during the rainy season. The panicle presented the highest ether extract ($22.40 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) and lignin ($190.90 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) contents. The organ of the plant and the collecting season both affect the proximate composition and fiber content of *A. dubius*. Because of its high nutritional value and digestibility, it has potential as a food supplement.

Key words: *Amaranthus dubius*, chemical composition, fiber, organ of the plant, digestibility.

INTRODUCTION

Amaranth belongs to the Amaranaceae family, *Amaranthus* genus, which includes 70 species distributed in tropical and subtropical areas. It is a photosynthetic plant of C₄ type, with high genetic diversity, high productivity, and adaptability to different soil-weather conditions, especially to dry soils and high temperatures (Rana *et al.*, 2007; Olivares and Peña, 2009).

Amaranth species have been widely studied with applications in the human and animal feeding, being *Amaranthus cruentus*, *A. hybridus* and *A. hypochondriacus* well-known for the nutritional quality of their seeds, and as vegetables *A. hybridus*, *A. tricolor* and *A. lividus* (Bavec and Mlakar, 2002; Olivares and Peña, 2009). Additionally, many *Amaranthus* species are applied as medicinal infusions or considered ornamental plants (Acevedo *et al.*, 2007; Barba de la Rosa *et al.*, 2009; Grobelnik Mlakar *et al.*, 2009).

Amaranth is an important source of nutrients, with high biological-quality protein, carbohydrates, dietetic fiber, lipids rich in unsaturated fats, minerals and vitamins (Gorinstein *et al.*, 2002; Kala y Prakash, 2004; Odhav *et al.*, 2007; Paško *et al.*, 2007; Alvarez-Jubete *et al.*, 2009; Montero-Quintero *et al.*, 2011). Amaranth also has significant quantities of bioactive components such as squalene, saponins, phytosterols, and polyphenols (Acevedo *et al.*, 2007; Barba de la Rosa *et al.*, 2009; Chlopicka *et al.*, 2012). On the other hand, amaranth does not contain gluten, therefore its seeds are considered a substitute in the preparation of bread, pasta, or different products specifically elaborated for people suffering from celiac disease or allergies to cereals (Berti *et al.*, 2005; Paško *et al.*, 2007; Alvarez-Jubete *et al.*, 2010; Chlopicka *et al.*, 2012).

In Venezuela, *A. dubius*, *A. spinosus*, and *A. hybridus* grow wild extensively, and are commonly considered weeds of different subsistence crops, such as corn, sorghum, and some legumes (Matteucci *et al.*, 1999). Nevertheless, in its regions of origin (Mexico, Peru, Guatemala, and Bolivia, among others) amaranth has a marginal use in medicinal purposes, and as a legume for human feeding or as a complementary fodder for animals (Matteucci *et al.*, 1999; Abbasi *et al.*, 2011; Adewolu and Adamson, 2011).

Amaranthus dubius presents a high biomass yield, and was included on the rescue program of ancestral foods in Venezuela due to its nutritional and agronomic characteristics and is considered a potential crop wild species since 2005 (Arellano *et al.*, 2004; Acevedo *et al.*, 2007; Olivares and Peña, 2009). Thus, research on the nutritional, toxicological, agronomic and technological properties of this plant has proven the benefits of using amaranth as a crop plant and, therefore, as a food of excellent nutritional and functional quality, that could also contribute to the sustainable growth of the regions.

Research on non-conventional vegetables, such as *A. dubius*, is a relevant aspect nowadays, since these vegetables can contribute to the worldwide production of low-price high-quality foods. Native plants adapt to the soil-weather conditions of the regions and, therefore, develop adequately as crops, thus allowing the procurement of raw-matter of excellent quality.

There is a worldwide need for seeking food alternatives to improve the nutritional condition of the population, particularly new sources of high-quality proteins (versus those of animal origin or traditional cereals), and more accessible in terms of production and price. *Amaranthus dubius* can become an alternative to improve nutrition, as well as to maintain and strengthen the

immune system in humans. It could also be used in the elaboration of gluten-free products and in the treatment of some pathologies associated with nutrient deficiencies (Marccone *et al.*, 2003; Czerwiński *et al.*, 2004; Dhellot *et al.*, 2006; Hye-Kyung *et al.*, 2006; Alvarez-Jubete *et al.*, 2009; Saravanan and Ponmurugan, 2012).

In this context, the objective of this research was to evaluate the chemical composition and digestibility in leaves, stems and panicles of *A. dubius* Mart. ex Thell. in two collecting seasons, in order to determine the potential of this species as raw matter for the enrichment or production of food for humans or livestock.

MATERIALS AND METHODS

Sample selection and processing

Samples of *A. dubius* were obtained from an experimental sowing site located in the farm El Néctar, Merecure, Acevedo Parish, Miranda State, Venezuela (10°31'38" N, 66°33'16" W). The soil was prepared with harrow and fertilized with organic matter (vegetal layer and poultry manure), and seeds were sown in furrows in two different seasons: rainy season (temperature 27.08 °C, relative humidity 82.68%, precipitation 270.35 mm) and dry season (temperature 26.08 °C, relative humidity 82.35%, precipitation 69.73 mm). The crop was not irrigated, and the plants were collected approximately 80 days after sowing.

The samples were separated into leaves, stems and panicles. The plant organs were dehydrated in a stove (50 to 60 °C for 40 h) with rotation and constant aeration, and were subsequently grounded and sifted with particle size ≤ 0.5 mm (Retsch Muhle Dietz, LB1 –27, Germany) and stored in



polyethylene containers with hermetical lid; they were covered with a fabric bag and kept in wooden cases at ≤ 20 °C for their further analysis.

Analysis of samples

The AOAC International (2005) procedures were used to determine DM (method 934.01), CP (method 976.05, Kjeldahl: $N \times 6.25$) and EE (method 2003.05). Crude fiber, ash and ADF were determined according to AOAC International procedures (2000; methods 962.09, 942.05 and 973.187, respectively). The neutral detergent fiber was assayed with a heat stable amylase and expressed inclusive of residual ash, without sodium sulphite (Mertens, 2002) and ADL was determined according to Van Soest *et al.* (1991). The content of dietetic fiber (DF) was determined by the non-enzymatic-gravimetric method (AOAC, 1997). The determination of the in vitro digestibility of organic matter (IVDOM) was done with the two-phase technique of Tilley and Terry (1963), which included, in the first place, a fermentation with ruminant microorganisms for 48 hours and, secondly, a digestion with hydrochloric acid and pepsin. The digestibility of the neutral detergent fiber (NDFD) was determined according to Tilley and Terry (1963) modified by Goering and Van Soest (1973), after the digestion of the sample with artificial saliva and ruminant liquid, a digestion with a neutral-detergent solution was done.

Statistical analysis

The data were analyzed using a randomized 3×2 split-plot design, with four replications and three subsamplings. The research factors being: organ of the plant (leaves, stem and panicle) and the collecting season (rainy and dry). The simple effects of the treatments were analyzed with Tukey's multiple

comparison tests and the interaction of treatments with the GLM procedure with four replications and three sub-samples, using the statistical software SAS version 9.1.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

RESULTS AND DISCUSSION

Chemical composition

The chemical composition of *A. dubius* is presented in table I, the most relevant findings being the high concentration of ashes and crude protein found. The ashes concentration was presented in a range of 128.90 to 210.17 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, with the highest concentration corresponding to the leaves and the lowest to the panicles, both in rainy seasons. Significant differences were seen ($P<0.040$) for the studied factors, except between the leaves and stems during the dry season ($P>0.812$). Interaction was observed in the ashes content of the parts of the plant regarding the collecting seasons (figure 1).

The ashes content found (table I) were high compared to those reported in *A. dubius*, *A. spinosus* and *A. tricolor* leaves (Gupta *et al.*, 2005; Odhav *et al.*, 2007) and in seeds of *A. cruentus*, *A. hybridus* and *A. caudatus* (Gamel *et al.*, 2006), as well as in some legumes (Agbede and Aletor, 2005; Fasuyi, 2006; García and Medina, 2006), but were comparable to those reported in the same species and in *A. hybridus* (Aletor *et al.*, 2002). The amaranth presented a high concentration of ashes when compared to cereals and vegetables commonly consumed (Hernández *et al.*, 1987; Odhav *et al.*, 2007).

The high content of ashes, and therefore of minerals, is an important finding, since it suggests the importance of this species as a source of these micronutrients. High quantities of minerals in leaves, stems and panicles of the species, especially of calcium, iron, zinc, sodium and potassium (Molina *et al.*,

2011) have been reported.

The crude protein (CP) presented values ranging from 60.80 to 270.90 g·kg⁻¹ (table I); the lowest value corresponded to stems and the highest value to the leaves. In all cases, the highest concentration was presented during the rainy season when compared to the dry, observing significant differences ($P < 0.045$) in the leaves and the panicles but not in the stems ($P > 0.151$) (table I). An interaction in the CP content in parts of the plant regarding the collecting seasons (figure 1) was observed.

This pattern was similar to that reported by Clavero and Ferrer (1995), who showed that the CP yield in fodders reduced during drought, since the nitrogen absorption during the rainy period was higher.

The protein values obtained were higher than those reported in leaves for the same species (Arellano *et al.*, 2004; Odhav *et al.*, 2007), as well as in *A. hypochondriacus*, *A. cruentus* and *A. hybridus* (Arellano *et al.*, 2004; Fasuyi, 2006; Odhav *et al.*, 2007). At the same time, the concentrations in the panicles were higher compared to amaranth species such as *A. cruentus*, *A. hypochondriacus* and *A. caudatus* (Gamel *et al.*, 2006; Shubhpreet *et al.*, 2010).

The CP values obtained in leaves and panicles in both recollecting seasons were higher than those reported in conventional vegetables such as spinach (*Spinaciao leracea*), lettuce (*Lactuca sativa*) and parsley (*Petroselinums ativum*) (KACST, 1995; Kruger *et al.*, 1998), and cereals such as corn (*Zea mays*), rice (*Oryza sativa*) and wheat (*Triticuma estivum*) (Hernández *et al.*, 1987; Kruger *et al.*, 1998; Marcone *et al.*, 2003).

Table I. Chemical composition ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) of *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. according to the part of the plant and the collecting season.

Parameter	Leaves		Stems		Panicles	
	Rainy	Dry	Rainy	Dry	Rainy	Dry
Dry matter	907.00 ^b	891.10 ^c	922.10 ^a	916.70 ^a	913.50 ^a	909.60 ^a
Ash	211.70 ^a	191.20 ^b	155.40 ^c	189.90 ^b	128.90 ^e	141.30 ^d
Crude protein	270.90 ^a	256.00 ^b	71.10 ^e	60.80 ^e	234.30 ^c	176.30 ^d
Ether extract	8.10 ^c	12.80 ^b	3.60 ^c	7.40 ^c	22.40 ^a	14.30 ^b
NFE [†]	425.10 ^b	439.40 ^a	459.70 ^a	396.80 ^c	401.70 ^b	420.80 ^b
TDN [¶]	617.80 ^e	635.80 ^d	657.30 ^c	629.20 ^d	683.60 ^a	671.40 ^b

Values on dry basis. Values in the same row with different letters are significantly different ($P < 0.01$).

[†] NFE: Nitrogen-free extract.

[¶] TDN: Total digestible nutrient

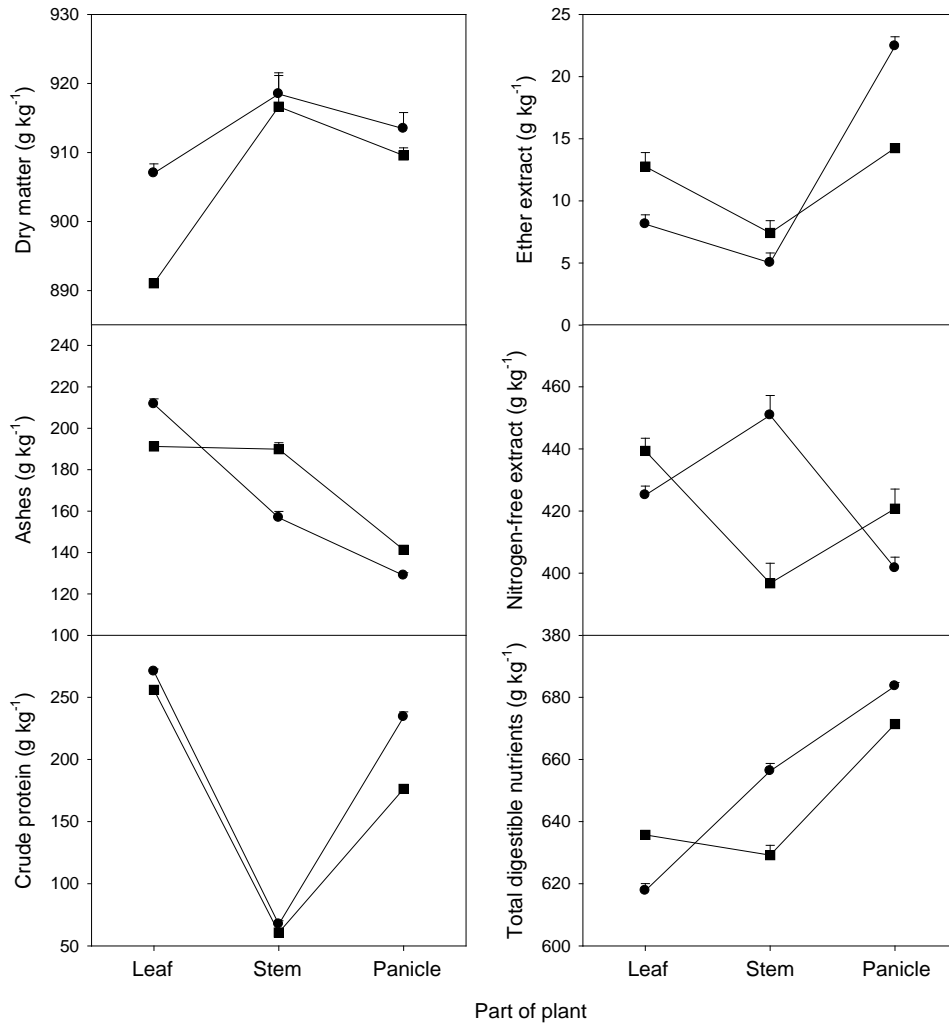


Figure 1. Interaction effect between the parts of the plant and the collecting season (● rainy and ■ dry) on the content of dry matter, crude protein, ether extract, nitrogen free extract and total digestible nutrients in *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell

Amaranthus dubius has a great nutritional interest since its leaves and panicles can be used as a new low-price protein source when compared to animal protein, as well as being employed in the supplementation of some foods. Previous researches revealed that species of the Amaranthaceae family present an amino acid balance higher than that of conventional cereals and compared to the reported by FAO/OMS for rice, wheat, and corn, among others (FAO/WHO/UNU, 1985; Gamel *et al.*, 2006).

The ether extract (EE) was presented in a range from 3.60 to 22.40 g·kg⁻¹ (table I); the lowest value corresponded to the stems and the highest to the panicles, both during the rainy season. Significant differences were found (P<0.006) between the panicle in the rainy season and the rest of the organs of the plants studied in both collecting seasons. The highest content found in the panicles could be due to the fact that the seeds were included in these, the seeds being the part of the plant where lipids are normally concentrated (Lindorf *et al.*, 1991).

The obtained EE values were lower than those reported for *A. cruentus*, *A. caudatus*, *A. hypochondriacus* and *A. bidentata* seeds (Gamel *et al.*, 2006; Marccone *et al.*, 2006; Shubhpreet *et al.*, 2010). The lipid content in the leaves was higher than that reported for the same species (Odhav *et al.*, 2007), in *A. cruentus*, *A. hybridus* and *A. tricolor* (Aletor and Adeogun, 1995; Gupta *et al.*, 2005; Fasuyi, 2006). However, EE contents were lower than those reported for *A. hypochondriacus* and *A. hybridus* (Aletor *et al.*, 2002; Arellano *et al.*, 2004).

In general, the EE values obtained were low compared to those reported for cereals such as corn and oat (*Avena sativa*) (Hernández *et al.*, 1987). However, the amaranth species have been related to the presence of squalene and essential fatty



acids, substances absent in many vegetables. Thus, its potential presence in *A. dubius* might have a great nutritional interest (Marccone *et al.*, 2003; Dhellot *et al.*, 2006).

The fiber content (CF) and neutral detergent fiber (NDF) contents did not present interaction between the studied factors, while the acid detergent fiber (ADF), dietetic fiber (DF) and acid detergent lignin (ADL) contents were affected by the interaction between the different organs of the plant and the collecting season (figure 2).

The CF was present in the range of 92.40 to 332.40 g·kg⁻¹ in different parts of the plant; the lowest value corresponded to the leaves and the highest to the stems, with statistical differences ($P < 0.001$) (table II). In relation to the collecting season, the CF was of 231.10 g·kg⁻¹ in the rainy season and 205.60 g·kg⁻¹ in the dry season, also with statistical differences ($P < 0.001$) (table III).

The CF values found were higher than those reported for *A. cruentus* and *A. caudatus* seeds (Fasuyi, 2006; Gamel *et al.*, 2006), as well as for leaves of *A. hybridus*, *A. dubius* and *A. spinosus* (Aletor *et al.*, 2002; Odhav *et al.*, 2007).

The concentration of NDF in the parts of the plant was presented in a range of 404.50 to 498.00 g·kg⁻¹; the lowest value corresponded to the leaves, and the highest to the panicles. Differences on the NDF contents were observed in leaves when compared to the stems and panicles ($P < 0.001$) (table II). In relation to the collecting season, the NDF was 474.20 g·kg⁻¹ in the dry season and 448.30 g·kg⁻¹ in the rainy season, also showing significant differences ($P < 0.024$) (table III).

The concentration of ADF presented values ranging from 142.70 to 458.70 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (table IV); the lowest value corresponded to the leaves and the highest value to the stems. In all cases, the highest concentration showed up during the dry season compared to the rainy. Significant differences were observed between the organs of the plant in both collecting seasons ($P<0.001$), except for the stems ($P>0.200$; table IV). Interaction in the ADF content was observed between the parts of the plant with respect to the collecting seasons (figure 2).

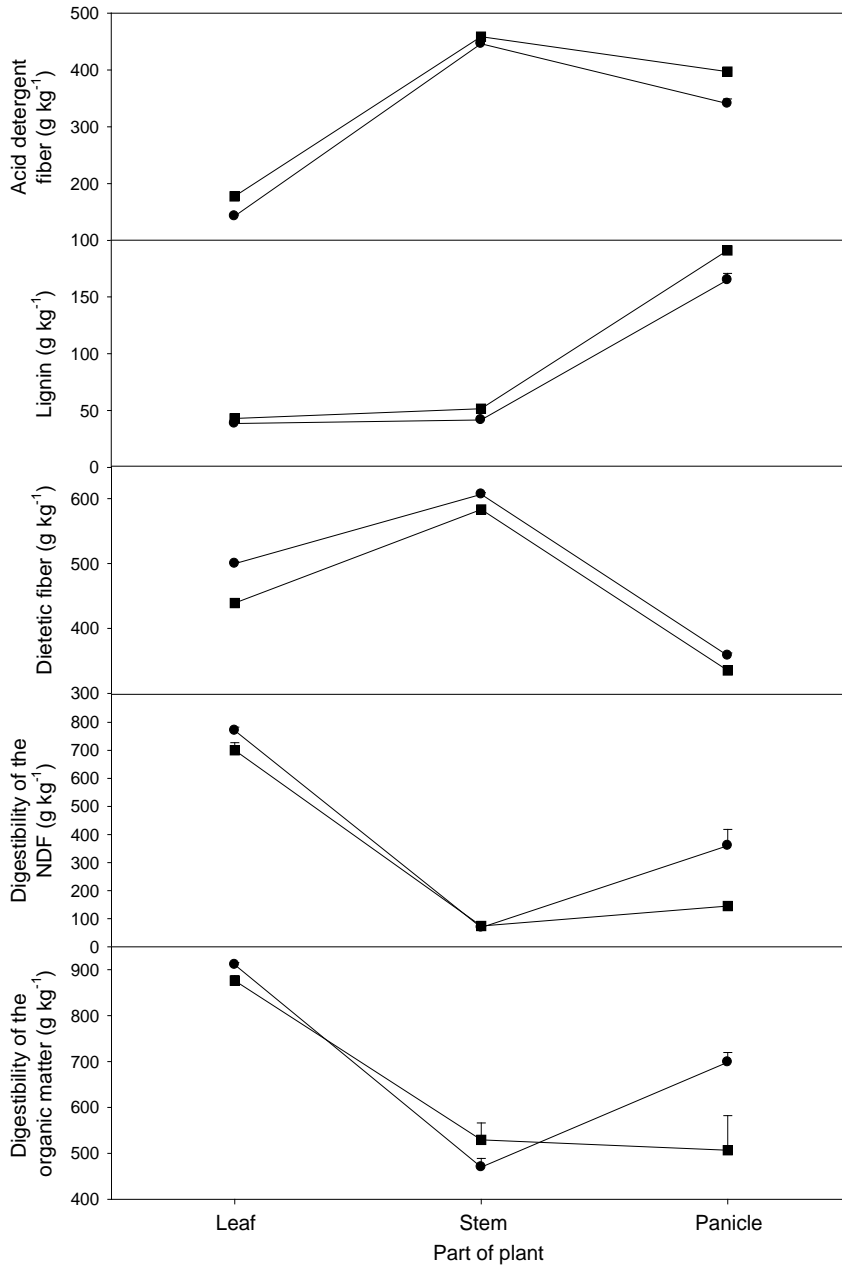


Figure 2. Interaction effect between the parts of the plant and the collecting season (● rainy and ■ dry) on the content of acid detergent fiber, acid detergent lignin, dietetic fiber, digestibility of the organic matter and digestibility of the neutral detergent fiber in *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell

Table II. Crude fiber and neutral detergent fiber contents ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) of *Amaranthus dubius* Mart ex Thell. in different parts of the plant.

Parameter	Leaves	Stems	Panicles
Crude fiber	92.40 ^a	332.40 ^b	230.22 ^c
NDF †	404.50 ^a	477.50 ^b	498.00 ^b

Values on dry basis. Values in the same row with different letters are significantly different ($P<0.01$).

† NDF: neutral detergent fiber.

Table III. Crude fiber and neutral detergent fiber content ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) of *Amaranthus dubius* Mart ex Thell. collected in different seasons.

Parameter	Rainy	Dry
Crude fiber	231.10 ^a	205.60 ^b
NDF †	448.30 ^a	474.20 ^b

Values on dry basis. Values in the same row with different letters are significantly different ($P<0.01$).

† NDF: neutral detergent fiber.

Table IV. Fiber content and digestibility ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) of *Amaranthus dubius* Mart ex Thell. according to the part of the plant and the collecting season.

Parameter	Leaves		Stems		Panicles	
	Rainy	Dry	Rainy	Dry	Rainy	Dry
ADF †	142.70 ^e	177.40 ^d	442.00 ^a	458.70 ^a	340.80 ^c	396.90 ^b
ADL ¶	38.60 ^c	43.00 ^c	42.10 ^c	51.70 ^c	165.00 ^b	190.90 ^a
Dietetic fiber	499.80 ^c	439.20 ^d	608.50 ^a	583.20 ^b	358.20 ^e	335.20 ^f
NDF § digestibility	770.50 ^a	700.50 ^a	68.56 ^c	73.83 ^c	360.20 ^b	145.00 ^c
In vitro digestibility of OM ♯	910.80 ^a	876.20 ^a	469.90 ^c	529.40 ^c	698.60 ^b	506.90 ^c

Values on dry basis. Values in the same row with different letters are significantly different ($P<0.01$).

†ADF: acid detergent fiber, ¶ADL: Acid detergent ligning. § NDF: neutral detergent fiber, ♯ OM: organic matter.

The concentration of ADL varied from 38.60 to 190.90 g·kg⁻¹ (table IV); the lowest value corresponded to the leaves in the rainy season and the highest in the dry season. No statistical differences were observed (P>0.903) between the leaves and the stems in both collecting seasons, but differences were observed between both seasons in the panicles. A marked difference was seen for ADL between the high values of the panicle regarding the other parts of the plant (P<0.001) (table IV).

Interaction in the ADL content with the parts of the plant was observed with respect to the collecting seasons (figure 2). The content of DF presented values ranging from 335.20 to 608.50 g·kg⁻¹ (table IV); the lowest concentration corresponded to the panicles in the dry season, and the highest corresponded to the stems in the rainy season. Statistical differences were evidenced (P<0.003) between the levels of the factors in the research (table IV).

The DF content in all parts of the plant was lower in the dry season. A marked difference was observed between the values obtained in the leaves, stem and panicle in both collecting seasons. A marginal tendency to the interaction in the DF content of the parts of the plant regarding the collecting seasons (figure 2) was observed.

The DF values found were comparable to those reported by Arellano *et al.* (2004) for the same species, and higher than those obtained for *A. caudatus* and *A. cruentus* seeds (Gamel *et al.*, 2006), as well as *A. tricolor* leaves (Kala and Praskah, 2004) and cereals with conventional usage such as wheat, oat, corn, rye (*Secale cereale*), barley (*Hordeum vulgare*) and sorghum (*Sorghum bicolor*) (Picolli da Silva and Santorio Ciocca, 2005).

In general, the contents of the studied fiber types were higher in the dry season when compared to those of the rainy season. The high temperatures of the dry season caused the products of the photosynthesis to be converted more rapidly into structural components such as cellulose and lignin, at the same time reducing the digestibility of fodders, which affected its nutritional value (Van Soest and McQueen, 1973).

The fiber has not been considered a nutrient in the nutrition of monogastrics, and in high concentrations it could be harmful (Aletor and Adeogun, 1995), since it causes intestinal irritation, low digestibility and reduces the nutrients' absorption (Rojas, 1994). The latter could be an inconvenience when using amaranth in food preparation, if consumed at levels that adversely affect the digestive process. Nevertheless, mixing several products is a viable option to reduce the fiber content in the food, thus allowing formulating new food products with a lower quantity of fiber which in turn contributes to reduce the secondary effects caused by the high levels of consumption.

On the other hand, the fiber plays an important role in the maintenance of good health (Schweizer and Würsch, 1991). The high level of dietetic fiber found is important to human nutrition, since it contributes in stimulating intestinal activity and in reducing intestine transit time, also contributing in the prevention of colon cancer (Rose *et al.*, 2007). Besides, it has an influence in the regulation of the body mass, the food intake, the glucose homeostasis, the sensitivity to the insulin and the risk of cardiovascular diseases (Lairon *et al.*, 2005; Kaline *et al.*, 2007; Queenan *et al.*, 2007). By its fiber content, *A. dubius* can become an alternative to formulate functional foods.

The NDF is a type of fiber that better relates to voluntary consumption by animals. The values obtained in *A. dubius* suggest that it could be used as fodder for ruminants, since these animals are able to take advantage of the fiber materials high in cellulose and hemicelluloses (Van Soest and McQueen, 1973).

The ADL concentration limits the advantage in ruminants of the cellulose and hemicelluloses, these being linked to lignin, since lignin reduces the access of the hydrolytic enzymes (Jung and Allen, 1995), thus limiting the degradation process of cellulose and hemicelluloses by the microorganisms of the rumen. Therefore, the high concentration of ADL in the panicle can become a drawback for its use in ruminants.

In rabbit feeding, it is utmost necessary to include adequate levels of fiber. Even though this species is not capable of using the fibrous materials as energy source, fiber plays an important role in their digestive processes (Gidenne *et al.*, 2010). The high fiber content of *A. dubius* makes it, potentially, a raw material for feed formulation for rabbits. In fact, CF, NDF, ADF and ADL contents found in this research for *A. dubius* were similar to those of lucerne meal, which is the main feedstuff used in rabbit feed manufacturing (Villamide *et al.*, 2010).

Digestibility *in vitro*

The digestibility of the organic matter (IVDOM) was presented in a range of 469.90 to 910.80 g·kg⁻¹ (table IV); the lowest value corresponded to the stems and the highest value to the leaves, both in the rainy season. No statistical differences were observed between the rainy and dry seasons in the leaves and stems (P>0.05).



The digestibility of the NDF (NDFD) varied from 68.56 to 770.50 g·kg⁻¹ (table IV). The leaves presented the highest values followed by panicles and stems; in all the cases, the highest value was observed during the rainy season (table IV). No significant differences ($P < 0.265$) were observed between the collecting seasons among the parts of the plant, except for the panicles ($P < 0.001$). The IVDOM and NDFD were affected by the interaction between the different organs of the plant and the collecting season (figure 2).

The digestibility of the amaranth was lower in the dry season as a consequence of the higher fiber contents in the different parts of the plant. This could be due to the high temperatures that caused higher transpiration of the plants, which facilitated the conversion of the photosynthesis products into structural components such as cellulose and lignin (Minson, 1982; Stritzler *et al.*, 1983).

The results showed that IVDOM and NDFD were affected by the NDF content, which could be attributed either to the presence of phenolic compounds that interfere in nutrients digestibility (Delgado-Pertíñez *et al.*, 1998), or to the presence of protein linked to the fiber, that makes its enzymatic attack difficult (Dihigo *et al.*, 2002).

The high digestibility values found on *A. dubius* suggest that it could be used as a fodder, due to the fact that values lower than 45 g·kg⁻¹ could limit the use of this resource in livestock production systems with high requirements (Verdier *et al.*, 1989).

CONCLUSIONS

Amaranthus dubius can be considered a promising source of nutrients for both human and animal nutrition, due to its high protein levels especially in its leaves and panicle, which is favored by the high digestibility of the organic matter. Its high fiber content suggests it can be used in the preparation of functional foods or in feed manufacturing for livestock. Moreover, the components of nutritional interest of the amaranth were mostly affected by the factors which were studied: plant part and collecting season. However, the lowest concentrations found in most cases proved sufficient to support the maintenance of the nutritional state of human and animals with the use of *A. dubius*.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors thank the Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES-LUZ) for their economic support given for this Project Number CC-0801-08.

LITERATURE CITED

- Abbasi, D., Y. Rouzbehan, J. Rezaei. 2011. Effect of harvest date and nitrogen fertilization rate on the nutritive value of amaranth forage (*Amaranthus hypochondriacus*). *Animal Feed Science and Technology* 171:6-13.
- Acevedo, I., O. García, I. Acevedo, C. Perdomo. 2007. Valor nutritivo del bledo (*Amaranthus* spp.) identificado en el municipio Morán, estado Lara. *Revista Agrollanía* 4:77-93.
- Agbede, J.O., V.A. Aletor. 2005. Studies of the chemical composition and protein quality evaluation of differently processed *Canavalia ensiformis* and *Mucuna pruriens* seed flours. *Journal Food Composition and Analysis* 18:89-103.
- Aletor, V.A., A. Oshodi, K. Ipinmoroti. 2002. Chemical composition of common leafy vegetables and functional properties of their leaf protein concentrates. *Food Chemistry* 78:63-68.
- Aletor, V.A., O.A. Adeogun. 1995. Nutrients and anti-nutrient components of some tropical leafy vegetables. *Food Chemistry* 53:375-379.
- Alvarez-Jubete L., E.K. Arendt, E. Gallagher. 2009. Nutritive value and chemical composition of pseudocereals as gluten-free ingredients. *International Journal of Food Sciences and Nutritional*. 60:240-257.
- Alvarez-Jubete, L., E.K. Arendt, E. Gallagher. 2010. Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten-free ingredients. *Trends Food Science and Technology* 21:106-113.
- Adewolu, M.A., A.A. Adamson. 2011. *Amaranthus spinosus* leaf meal as potential dietary protein source in the practical diets for *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) fingerlings. *International Journal of Zoological Research* 7:128-137.
- Arellano, M.A.L., G. Albarracín, S. Arce, S. Mucciarelli. 2004. Estudio comparativo de hojas de *Beta vulgaris* con *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. *Phyton* 73:193-197.
- AOAC International. 2000. *Official Methods of Analysis*, 17th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
- AOAC International. 2005. *Official Methods of Analysis*. 18th Ed. Association of Official Analytical Chemists, Maryland, USA.
- Barba de la Rosa, A.P., I.S. Fomsgaard, B. Laursen, A.G.



- Mortensen, L. Olvera-Martínez, C. Silva-Sánchez, A. Mendoza-Herrera, J. González-Castañeda, A. De León-Rodríguez. 2009. Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) as an alternative crop for sustainable food production: Phenolic acids and flavonoids with potential impact on its nutraceutical quality. *Journal of Cereal Science* 49:117-121.
- Bavec, F., S.G. Mlakar. 2002. Effects of soil and climatic conditions on emergence of grain amaranths. *European Journal of Agronomy* 17:93-103.
- Berti, C., P. Riso, A. Brusamolino, M. Porrini. 2005. Effect on appetite control of minor cereal and pseudocereal products. *British Journal of Nutrition* 94:850-858.
- Clavero, T., O. Ferrer. 1995. Valor nutritivo del pasto Elefante enano (*Pennisetum purpureum* cv. Mott). *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*. 12:365-372.
- Chlopicka, J., P. Pasko, S. Gorinstein, A. Jedryas, P. Zagrodzki. 2012. Total phenolic and total flavonoid content, antioxidant activity and sensory evaluation of pseudocereal breads. *LWT-Food Science and Technology* 46:548-555.
- Czerwiński, J., E. Bartnikowska, H. Leontowicz, E. Lange, M. Leontowicz, E. Katrich, S. Trakhtenberg, S. Gorinstein. 2004. Oat (*Avena sativa* L.) and amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) meals positively affect plasma lipid profile in rats fed cholesterol-containing diets. *Journal of Nutritional Biochemistry* 15:622-629.
- Delgado-Pertíñez, M., A. Chesson, G.J. Provan, A. Garrido, A. Gómez-Cabrera. 1998. Effect of different drying systems for the conservation of olive leaves on their nutritive value for ruminant. *Ann. Zootech.* 47:141-150.
- Dhellot, J.R., E. Matouba, M.G. Maloumbi, J.M. Nzikou, D.G. Safou Ngoma, M. Linder, S. Desobry, M. Parmentier. 2006. Extraction, chemical composition and nutritional characterization of vegetable oils: Case of *Amaranthus hybridus* (var 1 and 2) of Congo Brazzaville. *African Journal of Biotechnology* 5:1095-1101.
- Dihigo, L.E., L. Savón, F. Dormignych, M. Orta, T. Oramas, L. Sarduy, Y. Rosabal. 2002. Consideraciones fisiológicas sobre el uso de fuentes fibrosas tropicales para la alimentación de conejos en Cuba. *In: II Congreso de Cunicultura de las Américas. La Habana, Cuba, p. 77.*
- FAO/WHO/UNU. 1985. Energy and protein requirements: Report of



- a joint FAO/WHO/UNU expert consultation. WHO Technical Report Series No. 724. WHO, Geneva, Switzerland.
- Fasuyi, A.O. 2006. Nutritional potentials of some tropical vegetable leaf meals: chemical characterization and functional properties. *African Journal of Biotechnology* 5:49-53.
- Gamel, T.H., J.P. Linssen, A.S. Mesallam, A.A. Damir, L.A. Shekib. 2006. Effect of seed treatments on the chemical composition of two amaranth species: oil, sugars, fibres, minerals and vitamins. *Journal of the Science and Food Agriculture* 86:82-89.
- García, D.E., M.G. Medina. 2006. Composición química, metabolitos secundarios, valor nutritivo y aceptabilidad relativa de diez árboles forrajeros. *Zootecnia Tropical* 24:233-250.
- Gidenne, T., R. Carabaño, J. García, C. De Blas. 2010. Fibre digestión, in Rabbit nutrition. De Blas C. and Wiseman J. (Eds). CAB International, Wallingford, UK. pp. 66-82.
- Goering, H.K., P.J. Van Soest. 1973. Forage fiber analyses. *Agriculture Handbook* Nº 379, Agricultural Research Service, United States Department of Agriculture, Washington, D.C., USA.
- Gorinstein, S., E. Pawelzik, E. Delgado-Licon, R. Haruenkit, M. Weisz, S. Trakhtenberg. 2002. Characterization of pseudocereal and cereal proteins by protein and amino acid analyses. *Journal of the Science and Food Agriculture* 82:886-891.
- Grobelnik Mlakar, S., M. Turinek, M. Jakop, M. Bavec, F. Bavec. 2009. Nutrition value and use of grain amaranth: Potential future application in bread making. *Agricultura* 10:43-53.
- Gupta, S., A. Jyothi-Lakshmi, M.N. Manjunat, J. Prakash. 2005. Analysis of nutrient and antinutrient content of underutilized green leafy vegetables. *LWT-Food Science and Technology* 38:339-345.
- Hernández, M., A. Chávez, H. Bourges. 1987. Valor nutritivo de los alimentos mexicanos. *Tablas de uso práctico*. División de Nutrición, INNSZ, México, 10th edition, pp. 34.
- Hye-Kyung, K., K. Mi-Jeong, C. Hong-Yon, K. Eun-Ki, S. Dong-Hoon. 2006. Antioxidative and anti-diabetic effects of amaranth (*Amaranthus esculantus*) in streptozotocin-induced diabetic rats. *Cell Biochemistry and Function* 24:195-199.

- Jung, H.G., M.S. Allen. 1995. Characteristics of plant cell walls affecting intake and digestibility of forages by ruminants. *Journal of Animal Science* 73:2774-2790.
- KACST. 1995. Evaluation of the nutritional status of the people of Saudi Arabia. Final Report. King Abdulaziz City for Science and Technology (KACST), Riyadh, Saudi Arabia.
- Kala, A., J. Prakash. 2004. Nutrient composition and sensory profile of differently cooked green leafy vegetables. *International Journal of Food Properties* 7:659-669.
- Kaline, K., S.R. Bornstein, A. Bergmann, H. Hauner, P.H.E. Schwarz. 2007. The importance and effect of dietary fiber in diabetes prevention with particular consideration of whole grain products. *Hormona and Metabolic Research* 39:687-693.
- Kruger, M., N. Sayed, M.L. Langenhoven, F. Holing. 1998. Composition of South African foods. Vegetables and fruit. Supplement to the MRC Food Composition Tables 1991. South African Medical Research Council, Parow Valley, Cape Town, South Africa, pp. 2-39.
- Lairon, D., N. Arnault, S. Bertrais, R. Planells, E. Clero, S. Hercberg, M.C. Boutron-Rualult. 2005. Dietary fiber intake and risk factors for cardiovascular disease in French adults. *The American Journal of Clinical Nutrition* 82:1185-1194.
- Lindorf, H., L. De Parisca, P. Rodríguez. 1991. Botánica: clasificación, estructura, reproducción. Ediciones de la Biblioteca de la Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. 2^{da} edición. pp.121.
- Marcone, M.F., F. Jahaniaval, H. Aliee, Y. Kakuda. 2003. Chemical characterization of *Achyranthes bidentata* seed. *Food Chemistry* 81:7-12.
- Matteucci, S.D., L. Pla, A. Colma. 1999. Recolección sistemática de germoplasmas de *Amaranthus* spp. en ecosistemas secos del estado Falcón, Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*. 16:356-370.
- Minson, D.J. 1982. Effect of chemical composition on feed digestibility and metabolizable energy. *Nutrition Abstracts and Reviews. Series B* 50:591-615.
- Molina, E., P. González-Redondo, K. Montero, R. Ferrer, R. Moreno-Rojas, A. Sánchez-Urdaneta. 2011. Efecto de la época de recolecta y órgano de la

- planta sobre el contenido de metales de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. *Interciencia* 36:386-391.
- Montero-Quintero, K., R. Moreno-Rojas, E. Molina, A.B. Sánchez-Urdaneta. 2011. Composición química del *Amaranthus dubius*: una alternativa para la alimentación humana y animal. *Revista de Facultad de Agronomía (LUZ)*. 28(Supl. 1):619-627.
- Odhav, B., S. Beekrum, U. Akula, H. Baijnath. 2007. Preliminary assessment of nutritional value of traditional leafy vegetables in KwaZulu-Natal, South Africa. *Journal of Food Composition and Analysis* 20:430-435.
- Olivares, E., E. Peña. 2007. Bioconcentración de elementos minerales en *Amaranthus dubius* (bledo, pira), creciendo silvestre en cultivos del estado Miranda, Venezuela, y utilizado en alimentación. *Interciencia* 34:604-611.
- Paško, P., H. Bartoń, M. Fołta, J. Gwiżdż J. 2007. Evaluation of antioxidant activity of amaranth (*Amaranthus cruentus*) grain and by-products (flour, popping, cereal). *Roczniki Zaklad Higieny* 58:35-40.
- Picolli Da Silva, L., M.L. Santorio Ciocca. 2005. Total, insoluble and soluble dietary fiber values measured by enzymatic-gravimetric method in cereal grains. *Journal of Food Composition and Analysis*. 18:113-120.
- Queenan, K.M., M.L. Stewart, K.N. Smith, W. Thomas, R.G. Fulcher, J.L. Slavin. 2007. Concentrated oat β -glucan, a fermentable fiber, lowers serum cholesterol in hypercholesterolemic adults in a randomized controlled trial. *Nutrition Journal* 6:6-13.
- Rana, J.C., K. Pradheep, S.K. Yadav, V.D. Verma, P.C. Sharma. 2007. Durga: A new variety of grain amaranth for cultivation in hill regions. *Indian Farming* 57:27-28.
- Rojas, E. 1994. La fibra dietética. pp. 119-138. In: *Los carbohidratos en nutrición humana*. Rojas Hidalgo E. (Ed.). Aula Médica, Madrid.
- Rose, D.J., M.T. DeMeo, A. Keshavarzian, B.R. Hamaker. 2007. Influence of dietary fiber on inflammatory bowel disease and colon cancer: importance of fermentation pattern. *Nutrition Reviews* 65:51-62.
- Saravanan, G., P. Ponmurugan. 2012. *Amaranthus viridis* Linn., a common spinach, modulates C-reactive protein, protein profile, ceruloplasmin and glycoprotein in experimental induced myocardial infarcted rats. *Journal of the Science Food and Agriculture* 92:2459-2464.

- SAS (Statistical Analysis System). 2002-2003. Version 9.1.3. Institute Inc, Carym NC, EEUU.
- Schweizer, T.F., P. Würsch. 1991. The physiological and nutritional importance of dietary fibre. *Experientia* 47:181-186.
- Shubhpreet, K., N. Singh, J.C. Rana. 2010. *Amaranthus hypochondriacus* and *Amaranthus caudatus* germplasm: Characteristics of plants, grain and flours. *Food Chem.* 123:1227-1234.
- Siddhuraju, P., K. Vijayakumari, K. Janardhanan. 1992. The biochemical composition and nutritional potential of the tribal pulse *Alysicarpus rugosus* (Willd.) DC. *Food Chemistry* 45:251-255.
- Stritzler, N.P., M.R. Gallardo, M.A. Gingsins. 1983. Suplementación nitrogenada en forrajes de baja calidad. *Revista Argentina Producción Animal* 3:283-309.
- Tejeda, S.O., E.A. Escalante, G.M. Soto, H. Rodríguez, G.M. Vibrans, H.M. Ramírez. 2004. Inhibidores de la germinación en el residuo seco de tallo de amaranto. *Revista de la Sociedad Química de México* 48: 118-123
- Tilley, J.M., R.A. Terry. 1973. A two stages technique for the in vitro digestion of forage crops. *Grass Forage Science* 18:104-111.
- Vadivel, V., K. Janardhanan. 2001. Diversity in nutritional composition of wild jack bean (*Canavalia ensiformis* L. DC.) seeds collected from south India. *Food Chemistry* 74:507-511.
- Van Soest, P.J., R.W. McQueen. 1973. The chemistry and estimation of fibre. Symposium on "Fibre in Human Nutrition". *Proc. Nutr. Soc.* 32:123-130.
- Van Soest, P.J. J.B. Robertson, B.A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74:3583-3597.
- Verdier, J.P., G.M. Casarotti, I.O. Galli, C.C. Hofer, M.P. Landi. 1989. Diferimento rotativo en pastizal natural. III. Parámetros de calidad de cinco especies seleccionadas. *Revista Argentina de Produccion Animal* 9:65-66. Resúmenes.
- Villamide, M.J., L. Maertens L, C. De Blas. 2010. Feed evaluation. pp: 151-162. *In: De Blas C. and Wiseman J. (2nd Eds.). Nutrition of Rabbit. CAB International, Wallingford, UK.*

CAPÍTULO III

EVALUACIÓN DE PANES ENRIQUECIDOS CON AMARANTO PARA REGIMENES DIETÉTICOS

Enriched bread evaluation of schemes for dietary amaranth

Enviado para arbitraje a la revista Interciencia. Índice de Impacto de 0,280 y posición 130/136 (cuarto cuartil) de la categoría "Ecology" del Journal Citation Reports (Science Edition, año 2012).

Keyla Carolina Montero-Quintero¹, Rafael Moreno-Rojas², Edgar Alí Molina¹, Máximo Segundo Colina³ y Adriana Beatriz Sánchez-Urdaneta^{4*}

¹Departamento de Química, Facultad de Humanidades y Educación, Universidad del Zulia, Venezuela.

²Departamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Córdoba, España.

³Programa de formación en Panadería. Universidad del Zulia, Venezuela.

^{4*}Departamento de Botánica, Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia, Venezuela. Apartado 526, Maracaibo 4001-A, estado Zulia, Venezuela. usanchez@fa.luz.edu.ve

RESUMEN

El amaranto es una planta que presenta alto contenido de proteínas, minerales y fibra que podría ser utilizado en la elaboración de alimentos funcionales. Por ello, se evaluaron las características físicas y la composición química de panes con 0, 5, 10, 15 y 20% de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell., luego fueron seleccionados dos formulaciones de panes para la evaluación biológica. Treinta ratas *Sprague dawley* se distribuyeron en cinco grupos: dieta pan sin amaranto (DPA0 o testigo), dieta pan con 10% de amaranto (DPA10), dieta pan con 20% de amaranto (DPA20), dieta con caseína (DC) y dieta aprotéica (DAP). Se utilizó un diseño unifactorial aleatorizado y se aplicó la



prueba de comparación múltiple de Tukey con seis repeticiones y tres submuestras. El mayor contenido de proteínas, fibra y minerales, se observó en los panes con 10 y 20% de amaranto mostrando diferencias estadísticas ($P < 0,05$) entre ellos y con el resto de los panes. El consumo de alimento, la eficiencia del alimento y la ganancia en peso no revelaron diferencias estadísticas ($P > 0,05$) entre las dietas con amaranto. La digestibilidad de DPA10 fue mayor, aunque no se obtuvieron diferencias estadísticas ($P > 0,05$) con DC. El pan con 10% de amaranto presentó las mejores características físicas y composición proximal, especialmente, proteínas, lípidos y minerales, así como una alta digestibilidad. La utilización de harina de amaranto hasta un 10% constituye una alternativa para mejorar el valor nutricional de los panes y elaborar alimentos funcionales por el aporte de fibra.

Palabras clave: amaranto, pan, evaluación biológica, composición proximal, minerales.

ABSTRACT

Amaranth is a plant rich in protein, minerals and fiber that could be used in the development of functional foods. We evaluated physical characteristics and chemical composition of breads with 0, 5, 10, 15 and 20% of *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell., were then selected two formulations of breads for biological evaluation. Thirty *Sprague dawley* rats were divided into five groups: bread diet with 0% amaranth (DPA0, control), bread diet with 10% amaranth (DPA10), bread diet with 20% of amaranth (DPA20) casein diet (DC) and a proteic diet (DAP). A randomized design was used univariate and multiple comparison test of Tukey was applied with six replicates and three subsamplings. The higher content of protein, fiber and minerals, was observed in breads with 10 and 20% amaranth showing statistical differences ($P < 0.05$)

between them and the rest of the bread. Feed intake, feed efficiency and weight gain showed no statistical differences ($P>0.05$) between diets with amaranth. DPA10 digestibility was higher without statistical difference ($P>0.05$) with DC. The bread with 10% amaranth presented the best physical characteristics and proximal composition especially, proteins, lipids and mineral and high digestibility. The use of amaranth flour up to 10% is an alternative to improve the nutritional value of the bread and prepare functional foods for fiber intake.

Key words: amaranth, bread, biological evaluation, proximate composition, minerals.

ABREVIATURAS

DPA0: dieta control (0% amaranto)

DPA10: dieta pan de amaranto 10%

DPA20: dieta pan de amaranto 20%

DC: dieta con caseína

DAP: Dieta aprotéica

EA: Eficiencia del alimento

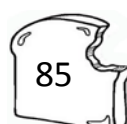
UA: Utilización del alimento

PER: relación de eficiencia proteica

C-PER: relación de eficiencia proteína corregida

NPU: Utilización de proteína neta

NPR: Relación de proteína neta



INTRODUCCIÓN

La industria alimentaria está incrementando el desarrollo de alimentos funcionales, entre los cuales destacan los que se basan en productos de la panadería adicionados de compuestos que confieren dicha funcionalidad relacionada sobre todo con la prevención o tratamiento alimentario de ciertas patologías relacionadas con la alimentación.

En los últimos años algunas investigaciones persiguen mejorar el valor nutritivo del pan de trigo mediante el uso de ingredientes funcionales como cereales y pseudocereales en grano y harinas integrales, así como, la adición de mezclas de diferentes semillas, frutos secos y/o de productos con un elevado aporte de fibra dietética (Bodroza-Solarov *et al.*, 2008; Sanz-Penella *et al.*, 2009). Estos ingredientes se relacionan con la regulación intestinal, incluyendo un aumento de la masa fecal, reducción del tiempo de tránsito intestinal de la materia fecal, de igual forma tiene efectos sobre la colesterolemia y la reducción de la absorción intestinal de glucosa. Por todo ello, este tipo de panes pueden suponer una ayuda para la prevención y control de enfermedades cardiovasculares y metabólicas (Aleixandre y Miguel, 2008; Repo-Carrasco, 2009).

El amaranto es una planta perteneciente a la familia Amaranaceae, género *Amaranthus*, distribuida en zonas tropicales y subtropicales (Olivares y Peña, 2009). En Venezuela se encuentran distribuidas unas 12 especies de amaranto, conocidas como bleado o pira; siendo las principales *A. dubius*, *A. spinosus* y *A. hybridus* (Acevedo *et al.*, 2007; Olivares y Peña, 2009), éstas crecen en forma silvestre y comúnmente se consideran arvenses de varios cultivos de subsistencia, como el maíz, sorgo y algunas leguminosas (Matteucci

et al., 1999); sin embargo, se usan de manera marginal en sus regiones de origen; con un interés medicinal o como verdura para la alimentación humana (Matteucci *et al.*, 1999).

En los últimos años el amaranto ha sido ampliamente estudiado, una de las razones es su excelente composición nutricional; comparable con los cereales (Oszvald *et al.*, 2009). *Amaranthus dubius* tiene un alto valor nutricional asociado a la presencia de una alta concentración de proteínas y minerales; especialmente Ca, Mg y Fe (Montero-Quintero *et al.*, 2011), presenta un alto contenido de fibra (Arellano *et al.*, 2004), así como compuestos bioactivos, tales como, saponinas, fitoesteroles, escualeno y polifenoles (Acevedo *et al.*, 2007; Odhav *et al.*, 2007; Barba de la Rosa *et al.*, 2009). Además se han reportado bajas concentraciones de sustancias tóxicas y antinutricionales, y no se ha detectado la presencia de metales pesados como Cd y Pb (Molina *et al.*, 2011).

Amaranthus dubius presenta un importante valor como nutraceutico debido al alto porcentaje de fibra dietética insoluble (40,48%) y prácticamente carente de fibra dietética soluble (Arellano *et al.*, 2004).

Por su alto valor nutritivo y digestibilidad, tiene potencialidades como complemento alimenticio. También se puede utilizar en la preparación de productos libres de gluten y alimentos funcionales (Czerwinski *et al.*, 2004; Hye *et al.*, 2006). Por tanto, el amaranto puede considerarse como una materia prima de bajo costo para la industria agroalimentaria, especialmente en la elaboración de panes, permitiendo mejorar el valor nutricional de los mismos y ofreciendo una nueva gama de alimentos funcionales a la población.

El objetivo de la investigación fue determinar el uso de amaranto (*Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.) como ingrediente para mejorar la calidad del pan de trigo; desde el punto de vista nutricional y funcional, a través de la composición química y evaluación biológica de panes.

MATERIALES Y MÉTODOS

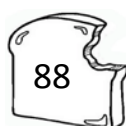
Harina de amaranto

Las muestras de *A. dubius* se obtuvieron de una siembra experimental ubicada en el municipio Santa Rita, estado Zulia, Venezuela, ubicado a 10°37' N y 71°08' O. El suelo fue preparado con rastra y fertilizado con materia orgánica (capa vegetal y el estiércol de aves de corral).

Las panículas se deshidrataron en una estufa entre 50 a 60 °C durante 40 h, con rotación y aireación constante, posteriormente se molieron y tamizaron con un tamiz con tamaño de partícula 0,5 mm (Retsch Muhle Dietz, LB1 -27, Alemania), y fueron almacenadas en recipientes de plástico con tapa hermética, se cubrieron con una bolsa de tela y se guardaron en un lugar seco a temperatura ≤ 20 °C hasta la determinación de su composición (Capítulos I y II, tablas 1 y I, respectivamente) y preparación de los panes.

Formulación y preparación de los panes

Se elaboraron muestras de panes integrales suplementados con 0, 5 10, 15 y 20% de harina de amaranto, de acuerdo con la propuesta de Colina (2012), la misma consistió en mezclar harina de trigo y harina integral de amaranto, utilizando esta mezcla como base se añadieron los otros componentes (m/m), 1% de sal, 5% de azúcar, 5% de grasa, 1% de vinagre, 5% de levadura con 55% de agua, se mezclaron y se amasaron durante 15 min (Boia®, 20 L),



posteriormente se amasó manualmente. La masa fue pesada y colocada en el molde. El proceso de fermentación de la masa fue a 30-35 °C durante 180 minutos y se horneó a 160-170 °C durante 1 h y 10 min. El pan con 0% de amaranto se preparó usando una mezcla de harina de trigo y con 15% de salvado de trigo (Colina, 2012), para la obtención de un pan integral tecnológicamente comparable a evaluar.

Análisis químicos

Se realizó un análisis proximal (AOAC, 2005) de la harina de amaranto, así como de los panes elaborados. La proteína cruda se obtuvo multiplicando el contenido de nitrógeno por el factor 6,25. Los minerales calcio, magnesio, zinc y hierro se determinaron por espectrofotometría de absorción atómica (AOAC, 1997).

Análisis físicos

Se realizó una evaluación de las características físicas del pan control (0% amaranto) y de los enriquecidos con harina integral de amaranto, para ello se utilizó una regla graduada para medir el ancho, alto y largo de los panes y una balanza para el peso.

Preparación de las dietas

Se prepararon tres dietas utilizando las muestras de pan con 0% harina de amaranto y de los panes seleccionados de acuerdo a las características físicas y composición proximal. Los panes se cortaron y se secaron a 60 °C durante 48 h, luego se molieron y se utilizaron en la preparación de los pellets de cada dieta para ser suministrada a ratas *Sprague dawley*.

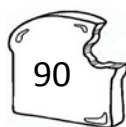
Para cada una de las dietas se incorporaron: 90% de harina de pan, 5% de aceite vegetal y 5% de una mezcla de vitaminas y minerales, suministrada por T&V (Alforja, España), composición de vitaminas y minerales (g·Kg⁻¹ premix): Fe: 10, I: 0,2; Co: 0,02; Cu: 3, Mn: 10, Zn: 12, Se: 0,02; Vitamina E: 3,2; Vitamina B₁: 0,2; Vitamina B₂: 0,6; Vitamina B₆: 0,2; Vitamina B₁₂: 0,002; d-pantenoato de calcio: 2, Ácido nicotínico: 4,4; Cloruro de colina: 10, Vitamina A: 1800.000 UI, Vitamina D₃.

Además de estas dietas experimentales, se preparó una dieta proteica que contenía caseína para asegurar un consumo del 10% o más de proteína y una dieta aprotéica con base en almidón de maíz, aceite vegetal, mezcla de vitaminas y minerales, azúcar y goma xantán (como aglutinante) para ser utilizada en el método de relación de proteína neta (NPR).

Evaluación biológica

Un total de 30 ratas macho *Sprague dawley*, suministradas por el Bioterio de la Universidad Centro-Occidental Lisandro Alvarado, Barquisimeto, estado Lara, Venezuela, con 33 días de edad, fueron alojadas individualmente y se mantuvieron en ciclos de 12 horas de luz/oscuridad a 25 °C, consumiendo un alimento comercial (Rataharina Protinal[®]) y agua *ad libitum* por siete días como período de adaptación, después de este tiempo los animales se dividieron en cinco grupos de seis ratas cada una. La alimentación fue *ad libitum* por un período de 21 días. Los autores confirman que el ensayo se ajustó a lo dispuesto en las recomendaciones sobre el cuidado y protección de los animales utilizados con fines experimentales establecidos en la Unión Europea (2003).

Los registros de la ingesta de alimentos se realizaron diariamente y las ratas se pesaron cada siete días. Los datos obtenidos fueron empleados para realizar los cálculos de parámetros utilizados en la evaluación biológica de los alimentos. Los parámetros evaluados fueron:



- Eficiencia del alimento (EA) = ganancia en peso corporal (g)/ingesta de alimento (g).
- Utilización del alimento (UA) = consumo de alimento (g)/ganancia en peso corporal (g).
- Relación de eficiencia proteica (PER) = ganancia en peso corporal (g)/ingesta de proteínas (g).
- Relación de eficiencia proteica corregida (C-PER) = PER de la caseína (2,5)*PER de la proteína a prueba/PER de caseína experimental.
- Utilización de proteína neta (NPU) = proteína consumida (g)/ganancia en peso corporal (g).
- Retención de proteína neta (NPR) = [Ganancia en peso del grupo experimental (g)+ pérdida de peso del grupo aprotéico (g)]/ingesta de proteínas del grupo experimental (g).
- Digestibilidad aparente de la proteína (DA) = [(N consumido-N excretado en las heces)/(N consumido) × 100.
- Digestibilidad verdadera de la proteína (DV) = [(N consumido-(N excretado en las heces (dieta experimental)-N excretado en las heces (dieta aprotéica)))/N consumido] × 100.

Análisis estadístico

Los datos se analizaron utilizando un diseño unifactorial aleatorizado para evaluar la composición proximal y mineral de los panes, así como la calidad biológica de la proteína en los panes. Se utilizó la prueba de comparación múltiple de Tukey con seis repeticiones y tres submuestreos, utilizando el software estadístico SAS versión 9.1.3.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación química

El contenido de materia seca (915,1-919,2 g·Kg⁻¹), proteínas (174,4-189,2 g·Kg⁻¹) y lípidos (63,7-86,9 g·Kg⁻¹) fueron mayores (P<0,05) en los panes que contenían amaranto que en el control (tabla I).



Tabla I. Análisis proximal y contenido mineral de panes elaborados con harina de trigo y harina de amaranto.

VARIABLES	Pan 0%	Pan 5%	Pan 10%	Pan 15%	Pan 20%
Análisis proximal (g·Kg⁻¹)					
Materia seca	912,0 ^d	915,1 ^c	918,1 ^{ab}	916,5 ^{bc}	919,2 ^a
Cenizas	19,8 ^b	15,8 ^c	20,0 ^b	16,5 ^c	31,4 ^a
Proteínas	173,5 ^d	174,4 ^d	183,7 ^b	178,1 ^c	189,2 ^a
Lípidos	38,1 ^e	63,7 ^d	70,0 ^c	82,0 ^b	86,9 ^a
Fibra	14,8 ^c	10,7 ^e	17,3 ^b	11,6 ^d	30,0 ^a
ELN	753,8 ^a	735,4 ^b	711,8 ^c	708,4 ^c	662,4 ^d
NDT	794,6 ^d	808,6 ^b	806,2 ^{bc}	815,1 ^a	803,2 ^c
Minerales					
Calcio (%)	0,752 ^b	0,72 ^c	0,733 ^c	0,793 ^b	0,974 ^a
Magnesio (%)	0,112 ^e	0,146 ^d	0,172 ^c	0,193 ^b	0,257 ^a
Zinc (ppm)	53,184 ^d	62,224 ^d	99,340 ^b	84,440 ^c	135,873 ^a
Hierro (ppm)	39,900 ^b	44,917 ^b	59,672 ^a	38,483 ^c	52,534 ^a

^aELN: Extracto libre de nitrógeno.

^bNDT: Nutrientes digeribles totales.

Los valores con letras diferentes en la misma fila presentaron diferencias estadísticas (P<0,05).

Los panes con 10 y 20% de amaranto presentaron la mayor concentración de proteínas (189,2 y 183,7 g·Kg⁻¹), cenizas (31,4 y 20,0 g·Kg⁻¹) y fibra (30,0 y 17,3 g·Kg⁻¹) respectivamente, mostrando diferencias estadísticas (P<0,05) entre ellos y con el resto de los panes formulados. Por otro lado, el contenido de lípidos fue mayor en los panes con 15 y 20% de amaranto. Se observaron diferencias estadísticas (P<0,05) entre ellos y con el resto de los panes.

El aumento del contenido de materia seca, proteínas, cenizas (minerales), lípidos y fibra en los panes se debió a la composición nutricional de la harina de amaranto empleada (Molina *et al.*, 2011; Montero-Quintero *et al.*, 2011), lo cual fue consistente con lo reportado por Sanz-Penella *et al.* (2013).

El contenido de cenizas por la inclusión de harinas integrales constituyó un aumento en la concentración de minerales en el producto final (Sanz-

Penella *et al.*, 2009). Del mismo modo, la adición de harina integral de amaranto aumentó el contenido proteico, representando dicho incremento una mayor cantidad de proteínas de mayor valor biológico para el consumo humano debido a su composición aminoacídica (Silva-Sánchez *et al.*, 2008) en correspondencia a la muestra control. En lo que respecta al contenido de fibra, la inclusión de amaranto aumentó su valor al doble cuando se utilizó al 20%. Por tanto, el uso de panes con amaranto podría ser empleado como fuente de fibra, coincidiendo con lo señalado por Tosi *et al.* (2001) y de esta manera ayudar en el tratamiento de ciertas patologías asociadas a la falta de consumo de fibra.

El contenido de lípidos en los panes suplementados con harina de amaranto duplicó el contenido del pan control; sin embargo, esto no podría considerarse negativo para su consumo debido a que se ha reportado que los lípidos en el amaranto se deben principalmente a la presencia de ácidos grasos insaturados y escualeno (He *et al.*, 2002), lo cuales tienen efectos positivos sobre la salud.

El contenido mineral en los panes fue mayor a medida que se aumentó el contenido de amaranto, esto confirmó lo reportado por Molina *et al.* (2011) y Montero-Quintero *et al.* (2011) sobre el posible uso de *A. dubius* como fuente de minerales, especialmente Ca y Fe; lo cual se evidenció en los resultados obtenidos. La mayor concentración de Ca, Mg, Fe y Zn se observó en los panes con 20% de amaranto presentando diferencias significativas ($P < 0,05$) con el resto de los panes, a excepción del contenido de Fe, en el que no hubo diferencias ($P > 0,05$) con el pan con 10% de amaranto. Estos resultados fueron consistentes con los observados por Sanz-Penella *et al.* (2013); sin embargo,

destacamos que los valores observados en los panes con 20% de amaranto, fueron superiores a los observados por Sanz-Penella *et al.* (2013) al sustituir con un 40% de harina de amaranto.

Evaluación física

El peso, ancho, alto, largo y volumen de los panes elaborados se presentan en la tabla II. Se observaron diferencias estadísticas ($P < 0,05$) en el ancho de los panes que contenían amaranto y el pan testigo. El peso de los panes varió entre 492,41-446,76 g; los panes con 15 y 20% de amaranto presentaron el mayor peso, se observaron diferencias estadísticas ($P < 0,001$) entre ellos y el pan con 10% de amaranto. En la altura de los panes no se presentaron diferencias entre el 5 y 10% de amaranto ($P > 0,05$), pero si con el resto de los grupos ($P < 0,001$). El volumen de los panes vario entre 1738,40 - 2283,80 mm³, se presentaron diferencias ($P < 0,001$) entre los panes con 5 y 20% de amaranto.

La evaluación visual permitió detectar que los panes con más de un 10% de harina de amaranto presentaron un menor tamaño de poros y hogazas más compactas, con un tamaño similar a la masa original que se colocó en el molde, lo que indicó que no se produjo una retención de gas durante la fermentación. Por tanto, se podría afirmar que a mayor porcentaje de suplementación con harina de amaranto se obtuvo un menor tamaño del pan (figura 1). Asimismo, se detectó que a medida que aumentó la concentración de harina integral de amaranto, la corteza del pan fue más oscura (figura 1), hallazgo comparable con lo reportado por Rossell *et al.* (2009) y Sanz-Penella *et al.* (2013) al utilizar harina de otras especies de amaranto en la preparación del pan. Esto podría estar relacionado con el contenido de

Tabla II. Análisis físico de panes elaborados con harina de trigo y harina de amaranto.

Dieta	Peso (g)	Alto (mm)	Largo (mm)	Ancho (mm)	Volumen (mm ³)
Pan 0%	464,95 ^{ab}	7,97 ^{bc}	28,03 ^c	9,27 ^a	2070,90 ^{ab}
Pan 5%	469,90 ^{ab}	10,03 ^a	28,10 ^{bc}	8,10 ^b	2283,80 ^a
Pan 10%	446,76 ^b	8,77 ^{ab}	28,17 ^{ab}	8,17 ^b	2017,30 ^{ab}
Pan 15%	482,28 ^a	8,03 ^{bc}	28,23 ^a	8,60 ^b	1951,20 ^{ab}
Pan 20%	492,41 ^a	7,43 ^c	28,07 ^{bc}	8,33 ^b	1738,40 ^b

Los valores con letras diferentes en la misma columna presentaron diferencias estadísticas ($P < 0,05$).

azúcares reductores y proteínas presentes en las harinas que reaccionaron durante la cocción (Repo-Carrasco *et al.*, 2003) produciendo pardeamiento no enzimático de Maillard (Rossell *et al.*, 2009) y en las condiciones de funcionamiento aplicadas durante la cocción (temperatura, humedad relativa, modos de transferencia de calor) (Esteller y Lannes, 2008). A través de la evaluación cualitativa se observó que la presencia de 20% de amaranto produjo migas más duras en comparación con el control. Hallazgos similares fueron reportados por Park *et al.* (2005) y Roseell *et al.* (2009) al utilizar harinas de pseudocereales.

Considerando los resultados de los análisis físicos y químicos, el pan integral suplementado con 10% de harina de amaranto presentó las mejores características; sin embargo, el pan con 20% de amaranto fue seleccionado por considerar que su mayor contenido de proteínas, cenizas (minerales) y fibra

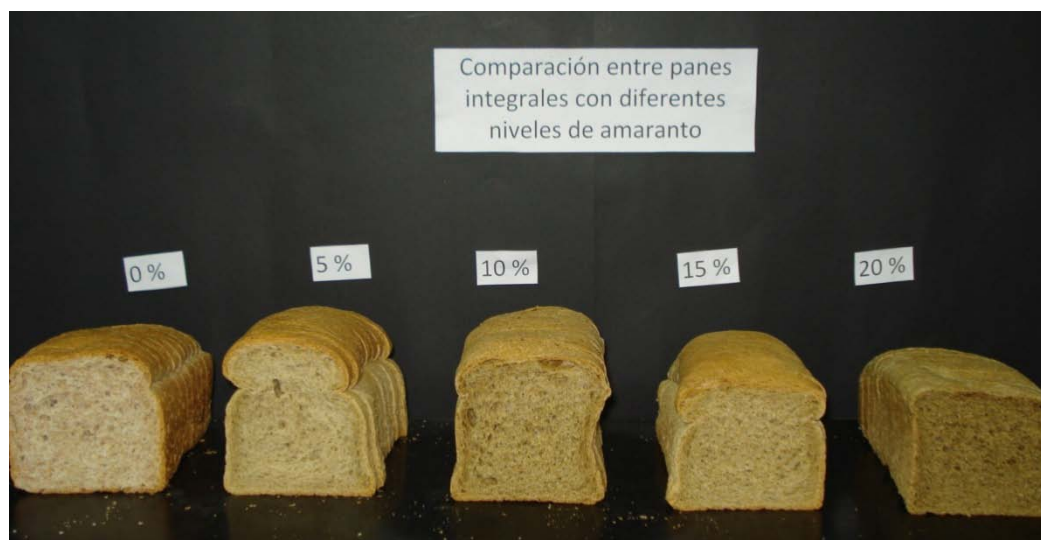


Figura 1. Panes elaborados con diferentes proporciones de harina de trigo y harina de amaranto.

podría ofrecer los mejores beneficios. Además, se ha reportado que la inclusión de harina de amaranto podría ser hasta una proporción máxima del 20%, manteniendo la calidad del producto, así como el beneficio nutricional de este ingrediente (Sanz-Penella *et al.*, 2013).

Evaluación biológica

En la tabla III se muestran los resultados de la evaluación biológica de los panes seleccionados. Las ratas alimentadas con la dieta con pan de amaranto al 10% (DPA10), 20% amaranto (DPA20) y dieta con caseína (DC) mostraron aumento de peso durante los 21 días de la investigación, por el contrario, las ratas alimentadas con la dieta de pan sin amaranto (DPA0) perdieron peso.

El consumo de alimento y proteína varió de manera similar. Se observó una menor ingesta en los grupos DPA0, DPA10 y DPA20 en comparación con DC, esto podría deberse a la mayor sensación de saciedad de los animales (Carter, 1993), lo cual pudiera relacionarse con el contenido de fibra que aportó el amaranto (Montero-Quintero *et al.*, 2011) y en el caso de

DPA0 fue aportado por el afrecho utilizado.

El promedio de la ganancia de peso corporal fue de 51,42 g, 0,58 g y 0,43 g para DC, DPA10 y DPA20, respectivamente. Se observaron diferencias estadísticas ($P < 0,0001$) entre el aumento de peso de las ratas que consumieron DC y el resto de las dietas experimentales. La poca ganancia de peso de los grupos DPA10 y DPA20 durante todo el estudio pudo deberse al bajo consumo de las dietas; sin embargo, el balance entre los nutrientes de las dietas aportaron los requerimientos nutricionales de las ratas, lo cual permitió en líneas generales el mantenimiento del peso corporal. Esto sugirió el posible uso de panes con amaranto en regímenes alimenticios hipocalóricos e isocalóricos.

Considerando que la fibra de un alimento afecta la ganancia de peso, así como la excreción fecal de proteína, debido a la disminución de la digestibilidad del alimento (Carron *et al.*, 1997), se esperaba que el aporte de amaranto en los panes afectara negativamente su digestibilidad; sin embargo, la digestibilidad aparente y digestibilidad verdadera varió de forma similar en DC (87,80 y 91,26%) y DPA10 (83,00 y 90,56%) sin diferencias estadísticas ($P > 0,05$) entre ellas; aun cuando la ganancia de peso en DC fue mayor.

Las proteínas de origen vegetal son generalmente inferiores en su calidad debido a su baja proporción o ausencia de algunos aminoácidos esenciales y a la presencia de algunos factores antinutricionales como fibras, taninos y fitatos, que podrían modificar la bio-utilización de los alimentos, haciendo difícil su absorción debido a la reducción de la digestión enzimática,

Tabla III. Digestibilidad aparente, digestibilidad verdadera, nitrógeno consumido, nitrógeno absorbido y utilización de la proteína de panes elaborados con harina de trigo y harina amaranto.

	DPA0	DPA10	DPA20	DC
GP	-4,85 ^b	0,58 ^b	0,43 ^b	51,42 ^a
AC	87,21 ^b	100,67 ^b	102,43 ^b	176,83 ^a
Proteína en la dieta	15,62 ^d	16,53 ^c	17,03 ^b	25,10 ^a
PC	13,63 ^b	16,64 ^b	17,44 ^b	44,39 ^a
EA	-0,054 ^c	0,0050 ^b	0,0057 ^b	0,29 ^a
PER	-0,35 ^c	0,03 ^b	0,03 ^b	1,15 ^a
PER corregido	-0,76 ^c	0,07 ^b	0,06 ^b	2,5 ^a
NPR	1,29 ^c	1,87 ^b	1,70 ^b	2,25 ^a
DA	77,56 ^b	83,00 ^a	77,20 ^b	87,80 ^a
DV	88,68 ^b	90,56 ^a	85,05 ^b	91,26 ^a
NC	2,18 ^b	2,66 ^b	2,79 ^b	7,10 ^a
NA	2,50 ^d	2,64 ^c	2,72 ^b	4,02 ^a
UP	-4,24 ^a	-1,40 ^a	3,25 ^a	0,89 ^a

Los valores con letras diferentes en la misma fila presentaron diferencias estadísticas ($P < 0,05$).

DA: digestibilidad aparente, DV: digestibilidad verdadera, GP: ganancia en peso, AC: alimento consumido, NC: nitrógeno consumido, NA: nitrógeno absorbido, PD: proteína en la dieta, PC: proteína consumida, PER: relación de eficiencia proteica, EA: eficiencia del alimento, UP: utilización de la proteína.

especialmente de las proteínas y aminoácidos (Lenzi de Almeida *et al.*, 2008); sin embargo, DPA10 presentó una alta digestibilidad lo que demostró que la proteína del amaranto tuvo una elevada disponibilidad para ser utilizada aun con el alto contenido de fibra que presentó.

Los resultados del EA y PER no revelaron diferencias estadísticas ($P > 0,05$) entre las dietas con amaranto. DC presentó los valores más altos, observándose diferencias estadísticas ($P = 0,0001$) con el resto de las dietas. Resultados similares fueron obtenidos por Pacheco *et al.* (2007) al evaluar un suplemento alimenticio alternativo con asociación de salvados, semillas vegetales y leche

en polvo en el crecimiento y el desarrollo de ratas; y por Lenzi de Almeida *et al.* (2008) al estudiar el efecto de las semillas de linaza en el crecimiento de ratas Wistar.

Los bajos valores de EA y PER presentados en los grupos DPA10 y DPA20 pudieron estar relacionados con el bajo consumo del alimento, así como por el alto contenido de fibra, coincidiendo con lo reportado por Lenzi de Almeida *et al.* (2008).

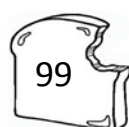
Los valores de NPR se vieron afectados por la adición de amaranto como fuente de fibra y proteína en el pan, observando diferencias ($P < 0,0001$) con DC y similitud en los valores de DPA0.

Aun cuando el alto contenido de fibra en los panes con amaranto pudo afectar la bio-utilización del pan, debido a que las fibras aumentaron la cantidad de las heces y el flujo intestinal; además, podrían interactuar con la proteína haciendo difícil su absorción debido a la reducción de la digestión enzimática; los valores de EA, PER y digestibilidad en los panes con amaranto fueron superiores al pan testigo, el cual tenía afrecho como fuente de fibra.

Por tanto, la proteína aportada por el amaranto (hasta en 10% de adicción) no solo tuvo una digestibilidad comparada a la de la caseína, sino que podría ser utilizada por las ratas en el mantenimiento de sus funciones vitales.

CONCLUSIONES

El pan con un 10% de amaranto presentó las mejores características visuales y la mejor composición nutricional especialmente proteínas, lípidos y minerales. Además, esto se vio potenciado por su alta digestibilidad comparada con la caseína. Asimismo, las ratas alimentadas con DPA10



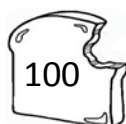
mantuvieron su peso corporal. La utilización de harina de amaranto constituye una alternativa viable para mejorar el valor nutricional de los panes y para ser utilizado como coadyuvante en los regímenes dietéticos hipocalóricos e isocalóricos.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES) por el financiamiento de esta investigación (proyecto N° CC-0670-10). Al Programa de Formación en Panadería de la Universidad del Zulia por su colaboración en la elaboración de los panes. Al Instituto Endocrino-Metabólico Félix Gómez por permitir la utilización del Bioterio.

LITERATURA CITADA

- Acevedo, I., O. García, I. Acevedo, C. Perdomo. 2007. Valor nutritivo del bleado (*Amaranthus* spp.) identificado en el municipio Morán, estado Lara. *Agrollanía* 4:77-83.
- Agbede, J.O., V.A. Aletor. 2005. Studies of the chemical composition and protein quality evaluation of differently processed *Canavalia ensiformis* and *Mucuna pruriens* seed flours. *Journal Food Composition and Analyses* 18:89-103.
- Aleixandre, A., M. Miguel. 2008. Dietary fiber in the prevention and treatment of metabolic syndrome. *Critical Review Food Science and Nutrition* 48:905-912.
- Arellano, M.A.L., G. Albarracín, S. Arce, S. Mucciarelli. 2004. Estudio comparativo de hojas de *Beta vulgaris* con *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. *Phyton* 73:193-197.
- AOAC International. 2005. Official Methods of Analysis. 18th Ed. Association of Official Analytical Chemists, Maryland, USA.
- Barba de la Rosa, A.P., I.S. Fomsgaard, B. Laursen, A.G. Mortensen, L. Olvera-Martínez, C. Silva-Sánchez, A. Mendoza-Herrera, J. González-Castañeda, A. De León-Rodríguez. 2009. Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) as an alternative crop for sustainable food production: Phenolic acids and



- flavonoids with potential impact on its nutraceutical quality. *Journal of Cereal Science* 49:117-121.
- Bodroza-Solarov, M., B. Filioccev, Z. Kevresan, A. Mandic, O. Simurina. 2008. Quality of bread supplemented with popped *Amaranthus cruentus* grain. *Journal of Food Process Engineering* 31:602-618.
- Bravo, L. 1998. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews* 56(11):317-333.
- Bravo, L., F. Saura-Calixto, I. Goñi. 1992. Effects of dietary fiber and tannins from apple pulp on the composition of faeces in rats. *British Journal of Nutrition* 67:463-473.
- Carmona, W. 2007. Las especies del género *Amaranthus* (Amaranthaceae) en Venezuela. *Revista Facultad de Agronomía (LUZ)*. 24(1):190-195.
- Carron, N.M., A.A. García, I. Goñi, F. Saura-Calixto. 1997. Nutritional and physiological properties of grape pomace as a potential food ingredient. *American Journal of Enology and Viticulture* 38(3):329-332.
- Carter, J.F. 1993. Potential of flaxseed and flaxseed oil in baked goods and other products in human nutrition. *Cereal Foods World* 38:753-759.
- Colina Barriga, M.S. 2012. La magia de la panadería. Primera Edición. Zulia, Venezuela. 220 pp.
- Czerwiński, J., E. Bartnikowska, H. Leontowicz, E. Lange, M. Leontowicz, E. Katrich, S. Trakhtenberg, S. Gorinstein. 2004. Oat (*Avena sativa* L.) and amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) meals positively affect plasma lipid profile in rats fed cholesterol-containing diets. *Journal of Nutritional Biochemistry* 15:622-629.
- Esteller, M.S., S.C.S. Lannes. 2008. Production and characterization of sponge dough bread using scaled rye. *Journal of Texture Studies* 39(1):56-67.
- European Union (EU). 2003. Protection of animals used for experimental purposes. Directive 86/609/EEC of 24th November 1986, amended 16th September 2003.
- He, H.P., Y. Cai, M. Sun, H. Corke. 2002. Extraction and purification of squelene from *Amaranthus* grain. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 50:368-372.
- Hye-Kyung, K., K. Mi-Jeong, C. Hong-Yon, K. Eun-Ki, S. Dong-Hoon. 2006. Antioxidative and anti-diabetic effects of amaranth (*Amaranthus esculantus*) in streptozotocin-induced diabetic

- rats. *Cell Biochemistry Function* 24:195-199.
- Lenzi de Almeida, K.C., F. Spreafico, G. Fernandes, G.T. Boaventura, M. Guzmán-Silva. 2008. Efecto de la semilla de linaza (*Linum usitatissimum*) en el crecimiento de ratas Wistar. *Revista Chilena de Nutrición* 35(4):443-451.
- Matteucci, S., L. Pla, A. Colma. 1999. Recolección sistemática de germoplasmas de *Amaranthus* spp. en ecosistemas secos del estado Falcón. Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*. 16:356-370.
- Molina, E., P. González-Redondo, K. Montero, R. Ferrer, R. Moreno-Rojas, A. Sánchez-Urdaneta. 2011. Efecto de la época de recolecta y órgano de la planta sobre el contenido de metales de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. *Interciencia* 36:386-391.
- Montero-Quintero, K., R. Moreno-Rojas, E. Molina, A.B. Sánchez-Urdaneta. 2011. Composición química del *Amaranthus dubius*: una alternativa para la alimentación humana y animal. *Revista de Facultad de Agronomía (LUZ)*. 28(Supl. 1):619-627.
- Olivares, E., E. Peña. 2007. Bioconcentración de elementos minerales en *Amaranthus dubius* (bledo, pira), creciendo silvestre en cultivos del estado Miranda, Venezuela, y utilizado en alimentación. *Interciencia* 34:604-611.
- Oszvald, M., C. Tamás, M. Rakszegi, S. Tömösközi, F. Békés, L. Tamás. 2009. Effects of incorporated amaranth albumins on the functional properties of wheat dough. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 89:882-889.
- Pacheco, J.T., J.B. Daleprane, G.T. Boaventura. 2007. O efeito da alimentação alternativa nos indicadores biológicos e químicos de ratos em crescimento alimentados com a dieta do município de Quissamã/RJ. *Revista Saúde Com.* 3:35-47.
- Park, H.S., T. Maeda, N. Morita. 2005. Effect of whole quinoa flours and lipase on the chemical, rheological and breadmaking characteristics of wheat flour. *Journal of Applied Glycoscience* 52:337-343.
- Pita, M.C.G., N.E. Piber, P.R. Carvalho, J.C.X. Mendonça. 2006. Efeito da suplementação de linhaça, óleo de canola e vitamina E na dieta sobre as concentrações de ácidos graxos poliinsaturados em ovos de galinha. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 58:925-931.

- Repo-Carrasco, R., C. Espinoza, S.E. Jacobsen. 2003. Nutritional value and use of the Andean crops quinoa (*Chenopodium quinoa*) and kaniwa (*Chenopodium pallidicaule*). *Food Reviews International* 19:179-189.
- Rosell, C.M., G. Cortez G, R. Repo-Carrasco-Valencia R. 2009. Breadmaking use of Andean crops quinoa, kañiwa, kiwicha, and tarwi. *Cereal Chemistry* 86(4):386-392.
- Sanz-Penella, J.M., J.A. Tamayo-Ramos, Y. Sanz, M. Haros. 2009. Phytate reduction in bran-enriched bread by phytase-producing bifidobacteria. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 57:239-244.
- Sanz-Penella, J.M., M. Wronkoswska, M. Soral-Smietana, M. Haros. 2013. Effect of whole flour on bread properties and nutritive value. *LWT- Food Science and Technology* 50:679- 685.
- SAS, 2002-2003. Statistical Analysis System. Version 9.1. Institute Inc, Carym NC, EEUU.
- Siddhuraju, P., K. Vijayakumari, K. Janardhanan. 1992. The biochemical composition and nutritional potential of the tribal pulse *Alysicarpus rugosus* (Willd.) DC. *Food Chemistry* 45:251-255.
- Silva-Sánchez, C., A.P. Barba de la Rosa, M.F. León-Galván, B.O. De Lumen, A. De León-Rodríguez, E. De Mejía. 2008. Bioactive peptides in amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) seed. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 56:1233-1240.
- Tosi, E.A., E.D. Ré, H. Lucero, R. Masciarelli. 2001. Dietary fiber obtained from amaranth (*Amaranthus cruentus*) grain by differential milling. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 73:441-443.
- Vadivel, V., K. Janardhanan. 2001. Diversity in nutritional composition of wild jack bean (*Canavalia ensiformis* L. DC.) seeds collected from south India. *Food Chemistry* 74:507-511.

CAPÍTULO IV

EFFECTO DEL CONSUMO DE PANES INTEGRALES CON AMARANTO (*AMARANTHUS DUBIUS* MART. EX THELL.) SOBRE LA RESPUESTA GLICÉMICA Y PARÁMETROS BIOQUÍMICOS EN RATAS *SPRAGUE DAWLEY*

**Effect of consumption of bread with amaranth (*Amaranthus dubius*
Mart. ex Thell.) on glycemic response and biochemical parameters
in *Sprague dawley* rats**

Enviado para arbitraje a la revista Nutrición Hospitalaria. Índice de Impacto de 1,305 y posición 57/76 (tercer cuartil) de la categoría “Nutrition & Dietetics” del Journal Citation Reports (Science Edition, año 2012).

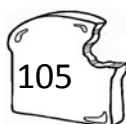
**Keyla Carolina Montero-Quintero¹, Rafael Moreno-Rojas^{2*}, Edgar Alí Molina¹,
Máximo Segundo Colina³ y Adriana Beatriz Sánchez-Urdaneta⁴**

¹Departamento de Química, Facultad de Humanidades y Educación, Universidad del Zulia, Venezuela.

^{2*}Departamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Córdoba, España. 140114, Córdoba, España. Tel: +34-957-212001/2000.

³Programa de Formación en Panadería. Universidad del Zulia, Venezuela.

⁴Departamento de Botánica, Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia, Venezuela. e-mail: rafael.moreno@uco.es



RESUMEN

Introducción: La incorporación de ingredientes funcionales como el amaranto (*Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.) en la elaboración de pan es una estrategia para aumentar el consumo de fibra, el cual está relacionado con efectos beneficiosos para la salud, mejorando la respuesta glicémica y el perfil lipídico.

Materiales y métodos: Treinta ratas machos *Sprague dawley* se distribuyeron al azar en tres grupos: dieta de pan con 0% de amaranto (PA0, control), dieta de pan con 10% de amaranto (PA10) y dieta de pan con 20% de amaranto (PA20) para determinar el consumo de alimento, ganancia en peso, triglicéridos, colesterol total, VLDL-C, LDL-C, HDL-C, proteínas y la respuesta glicémica postprandial. Los datos fueron analizados a través de un análisis completamente aleatorizado con 10 repeticiones, utilizando la prueba de comparación de medias de Tukey para los parámetros bioquímicos. La respuesta glicémica postprandial fue analizada por el método de medidas repetidas en el tiempo.

Resultados y discusión: La ingesta diaria y la ganancia de peso no se afectó ($P > 0,05$) en los grupos con PA10 y PA20. La concentración de glucosa, triglicéridos y proteína presentó diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$) por la diferencia de contenido de amaranto de las dietas. Los valores de colesterol total, LDL-C, factor de riesgo e índice aterogénico presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) resultando el grupo de menor valor el formado por PA10 y PA20. En los grupos PA10 y PA20 el pico de hiperglucemia y la fase de hiperglucemia total fue más bajo, mostrando una mejor respuesta glicémica.

Conclusión: el amaranto podría ser utilizado como ingrediente funcional en la elaboraciones de panes ya que permitió mejorar el perfil lipídico así como la respuesta glicémica postprandial.

Palabras clave: pan, amaranto, perfil lipídico, respuesta glicémica, fibra.

ABSTRACT

Introduction: The incorporation of functional ingredients like amaranth (*Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.) in bread making is a strategy to increase fiber intake, which is associated with beneficial health effects, improving glycemic response and lipid profile.

Materials and methods: Thirty male *Sprague dawley* rats were randomized into three groups: diet of bread with 0% amaranth (PA0, control), diet of bread with 10% amaranth (PA10) and bread diet with 20% amaranth (PA20) for determining the feed intake, weight gain, triglyceride, total cholesterol, VLDL-C, LDL-C, HDL-C, protein and postprandial glycemic response. Data were analyzed using a completely randomized with 10 replications analysis, using the comparison test of Tukey for biochemical parameters. Postprandial glycemic response was analyzed by the method of repeated measures over time.

Results and discussion: The daily intake and weight gain was not affected ($P > 0.05$) in the groups with PA10 and PA20. The concentration of glucose, triglycerides and protein showed statistically significant differences ($P > 0.05$) by the difference in content of amaranth diets. The values of total cholesterol, LDL-C, and atherogenic risk factor index were statistically significant ($P < 0.05$) resulting goodwill group formed by PA10 and PA20. PA10 and PA20 in the

hyperglycemic peak groups and the total phase hyperglycemia were lower, showing a better glycemic response.

Conclusion: amaranth could be used as a functional ingredient in breads and elaborations which improved the lipid profile and postprandial glycemic response.

Key words: bread, amaranth, lipid profile, glycemic response, fiber.

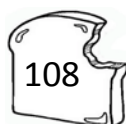
ABREVIATURAS

- ELN: extracto libre de nitrógeno.
- NDT: nutrientes digeribles totales.
- PA0: dieta de pan con 0% de amaranto.
- PA10: dieta de pan con 10% de amaranto.
- PA20: dieta de pan con 20% de amaranto.
- GLU: glucosa.
- CT: colesterol total.
- TG: triglicéridos.
- HDL-C: lipoproteínas de alta densidad.
- LDL-C: lipoproteínas de baja densidad.
- VLDL-C: lipoproteína de muy baja densidad.
- PRO: proteína.

INTRODUCCIÓN

El pan es un producto de consumo habitual en todo el mundo y contribuye en muchos países entre el 45 al 60% de la energía de la dieta, fundamentalmente debido a su contenido en carbohidratos; concretamente almidón. A pesar de ello, por su composición, en ocasiones el pan ha sido tachado de producto de escaso valor nutricional (Isserliyska *et al.*, 2001).

En los últimos años diversas investigaciones han buscado mejorar el valor comercial y nutritivo del pan de trigo con ingredientes funcionales, para lo cual se están utilizando cereales en grano, harinas integrales, la adición de mezclas



de diferentes semillas, frutos secos y/o de productos con un elevado aporte de fibra dietética (Bodroza-Solarov *et al.*, 2008; Sanz-Penella *et al.*, 2009).

Dado el habitual bajo consumo de fibra en sociedades desarrolladas, que se asocia con enfermedades coronarias, aterosclerosis y cáncer de colon, existe una gran preocupación por incrementar la cantidad de fibra en la dieta para prevenir dichas enfermedades (Matia *et al.*, 2007; Sanz-Penella *et al.*, 2009).

Por otra parte, los carbohidratos presentes en el pan de trigo blanco son fácilmente digeribles, lo cual produce una rápida y alta respuesta glicémica e insulinémica (Araya y Alviña, 2009), además aportan un elevado contenido energético y relativamente baja sensación de saciedad (Alviña y Araya, 2004; Hare-Bruun *et al.*, 2006). La velocidad de digestión de los carbohidratos afecta a la absorción de la glucosa y ello conlleva a que sean necesarios poner en marcha con rapidez y eficacia los mecanismos metabólicos reguladores de la glicemia postprandial y la respuesta lipémica (Brites *et al.*, 2011).

En cambio la presencia de otros componentes de los alimentos podría jugar un papel importante en la modulación de la glucosa en sangre, fundamentalmente debido a una digestión y absorción más lenta de los glúcidos, que ayudan a mantener los niveles normales de glucosa en sangre. Este factor se ha identificado como relevante en la prevención de algunas enfermedades crónicas (Augustin *et al.*, 2002). Por lo tanto, la incorporación de ingredientes funcionales, por ejemplo con una mayor cantidad de fibra, es una estrategia interesante para mejorar la respuesta glicémica ocasionada por el consumo de pan, lo cual cobra una especial relevancia en el diseño de dietas para diabéticos destinadas a mejorar el control metabólico de la glicemia (Jenkins *et al.*, 2002).

Estudios epidemiológicos, confirman que el consumo habitual de alimentos ricos en cereales y pseudocereales ayudan a prevenir enfermedades crónicas como la diabetes tipo 2, problemas cardiovasculares y la obesidad (Aleixandre y Miguel, 2008).

El amaranto (*Amaranthus* spp.) es un pseudocereal que crece en forma silvestre y comúnmente se considera arvense de varios cultivos de subsistencia, como el maíz (*Zea mays*), sorgo (*Sorghum bicolor*) y algunas leguminosas (Matteucci *et al.*, 1999), solo algunos de ellos son comúnmente consumidos por los seres humanos, principalmente *A. cruentus* y *A. hypochondriacus* por la producción de granos; *A. dubius* y *A. hybridus* por el uso de sus hojas o como ingrediente funcional en alimentos (Gamel *et al.*, 2006; Sanz-Penella *et al.*, 2013).

El *A. dubius* cultivado, tiene una alta concentración de proteínas y minerales (Montero-Quintero *et al.*, 2011), bajas concentraciones de tóxicos y antinutricionales, y no se ha detectado la presencia de metales pesados como Cd y Pb (Molina *et al.*, 2011); además, presenta un importante valor como dietético debido al alto porcentaje de fibra dietética que se encuentra en su totalidad en forma insoluble (40,48% del total del peso (Arellano *et al.*, 2004). También se le puede dar uso en la preparación de productos libres de gluten y alimentos funcionales (Czerwiski *et al.*, 2004; Hye-Kyung *et al.*, 2006). Las características nutricionales y agronómicas del amaranto hacen que sea una planta de un alto interés para su uso en la industria alimentaria.

El objetivo de este estudio es contrastar el efecto del uso del amaranto (*Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.) como ingrediente funcional en la elaboración de panes, valorando el consumo de alimento, ganancia de peso

corporal, la respuesta glicémica y parámetros bioquímicos en ratas *Sprague dawley*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de la harina de amaranto

La harina de amaranto se obtuvo de las panículas de plantas de *A. dubius* cultivadas en una siembra experimental ubicada en el municipio Santa Rita, estado Zulia, Venezuela, ubicado a 10°37' N y 71°08' O. El suelo fue preparado con rastra y fertilizado con materia orgánica (capa vegetal y estiércol de aves de corral).

Las panículas se deshidrataron en una estufa entre 50 a 60 °C durante 40 h, con rotación y aireación constante, posteriormente se molieron, tamizaron con un tamiz de tamaño de partículas 0,5 mm (Retsch Muhle Dietz, LB1 -27, Alemania) y fueron almacenadas en recipientes de plástico con tapa hermética, se cubrieron con una bolsa de tela y se guardaron en un lugar seco a temperatura ≤ 20 °C hasta la preparación de los panes. La composición de la harina de panículas de amaranto se presenta en el Capítulo I, cuadro 1 de este documento.

Preparación del pan

Se prepararon tres (3) tipos de panes con 0% (PA0), 10% (PA10) y 20% (PA20) de amaranto. Los panes con amaranto (PA10 y PA20) fueron preparados de acuerdo con la propuesta de Colina (2012), que consiste en mezclar harina de trigo y harina integral de amaranto. Utilizando esta mezcla como base, se añadieron los otros componentes (m/m), 1% de sal, 5% de azúcar, 5% de grasa, 1% de vinagre, 5% de levadura y 55% de agua, se mezclaron y se amasaron



durante 15 min (Boia®, 20 L), posteriormente se amasó manualmente. La masa fue pesada y colocada en el molde. El proceso de fermentación de la masa fue a 30-35 °C durante 180 minutos y se horneó a 160-170 °C durante 1 h y 10 min. El pan 0% amaranto (control o PA0) se preparó usando una mezcla de harina de trigo y 15% de salvado de trigo²⁰, para la obtención de un pan integral tecnológicamente comparable a evaluar (véase Capítulo III, tabla I).

Preparación de la dieta

Se prepararon tres dietas experimentales con los panes elaborados: dieta de pan con 0% de amaranto (PA0, control), dieta de pan con 10% de amaranto (PA10) y dieta de pan con 20% amaranto (PA20). Los panes se cortaron y se secaron a 60 °C durante 48 h, luego se molieron y se utilizaron en la preparación de los pellets. Para cada una de las dietas se incorporaron: 90% de harina de pan, 5% de aceite vegetal y 5% de una mezcla de vitaminas y minerales, suministrada por T&V (Alforja, España), composición de vitaminas y minerales (g·Kg⁻¹ premix): Fe: 10, I: 0,2; Co: 0,02; Cu: 3, Mn: 10, Zn: 12, Se: 0,02; Vitamina E: 3,2; Vitamina B₁: 0,2; Vitamina B₂: 0,6; Vitamina B₆: 0,2; Vitamina B₁₂: 0,002; d-pantenoato de calcio: 2, Ácido nicotínico: 4,4; Cloruro de colina: 10, Vitamina A: 1800.000 UI, Vitamina D₃.

Animales

Los autores se responsabilizan de que este estudio ha cumplido con las disposiciones sobre el cuidado y la protección de los animales utilizados con fines experimentales, establecidos en la Unión Europea (2003).

Un total de 30 ratas machos *Sprague dawley* con 33 días de edad fueron suministradas por el Bioterio de la Universidad Centro-Occidental Lisandro Alvarado, Barquisimeto, estado Lara, Venezuela. Cada animal se alojó



individualmente en jaulas de acero inoxidable y se le suministró alimento comercial (Rataharina Protinal®) y agua *ad libitum*, con ciclos de 12 h luz/oscuridad a 25 °C por siete (7) días para el periodo de adaptación. Después de ese tiempo los animales se dividieron en tres grupos de 10 ratas cada uno, para estudiar el efecto del consumo de panes sobre el peso, el perfil lipídico y la respuesta glicémica.

Tras el periodo de adaptación, se hizo la determinación del consumo de alimento diario durante los siguientes 21 días, así como se obtuvo el peso corporal de los animales, que se tomó cada siete (7) días. El día 22 los animales se utilizaron para obtener la respuesta postprandial de glucosa en sangre. Después de 12 horas de ayuno, se tomaron muestras de sangre de la vena de la cola e inmediatamente los animales fueron alimentados con 3 g de las dietas (correspondiente a 2,04 g de carbohidratos en PA0; 1,91 g en PA10 y 1,79 g en PA20, respectivamente), los cuales fueron totalmente consumidos en 20 min. Y se tomaron nuevamente muestras de sangre a los 40, 80 y 120 min después de la ingesta, para medir los niveles de glucosa, que se realizó mediante un monitor/glucómetro (Fast Check de Laboratorios DAI-USA).

Para evaluar el efecto de las dietas sobre el perfil lipídico el día 23 se tomaron muestras de sangre (5 mL) en ayunas, de la vena ocular después de la anestesia con éter (Itokawa *et al.*, 2013), posteriormente fueron sacrificados por punción cardíaca.

Análisis bioquímico del suero

Las muestras para el análisis bioquímico se recolectaron en tubos estériles sin anticoagulante y se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 min para separar el suero y se mantuvieron congeladas (-20 °C) hasta su análisis.



La determinación de glucosa (GLU), triglicéridos (TG), colesterol total (CT), lipoproteínas de alta densidad (HDL-C) y proteínas totales (TP) se realizaron por colorimetría utilizando kits de pruebas comerciales (Wiener Lab, Argentina). Las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL-C), el índice aterogénico y el factor de riesgo cardiaco se estimaron usando las siguientes ecuaciones:

- $VLDL-C = TG/5$
- $LDL-C = CT - HDL-C - (TG/5)$,
- Índice aterogénico = $CT - HDL-C / HDL-C$
- Factor de riesgo cardiaco = $CT / HDL-C$.

Análisis estadístico

Los datos se analizaron utilizando un diseño completamente aleatorizado, para evaluar el efecto del grado de sustitución de la harina de amaranto en los panes sobre la respuesta glicémica postprandial y el perfil lipídico. Se utilizó la prueba de comparación múltiple de medias de Tukey con 10 repeticiones y tres (3) submuestras, utilizando el software estadístico SAS versión 9.1.3. El nivel de significancia utilizado fue $P < 0,05$.

La respuesta glicémica postprandial de los grupos experimentales se analizó mediante la metodología de medidas repetidas en el tiempo a través del procedimiento MIXED (SAS, 2003), a continuación, se seleccionaron los modelos polinomiales de segundo grado que mejor explicaron el comportamiento de esta variable en el tiempo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del consumo de las dietas experimentales y ganancia de peso durante el ensayo se muestran en la tabla 1.

El consumo de alimento diario varió de manera similar ($P>0,05$) en todos los grupos, se observó una baja ingesta, la cual podría deberse a la alta sensación de saciedad que posiblemente produjo estas dietas en los animales (Carter, 1993), relacionandose con el contenido de fibra que aportó el amaranto (Montero-Quintero *et al.*, 2011) y en el caso de DPA0 fue aportado por el salvado utilizado. El consumo total de alimento durante los 21 días del experimento presentó diferencias estadísticamente significativas ($P<0,05$) entre grupos, observandose una mayor ingesta en el grupo PA20 aunque sin diferencias estadísticas ($P>0,05$) con PA10, pero si con PA0.

Tabla 1. Consumo de las dietas experimentales y ganancia en peso de ratas *Sprague dawley* durante la fase experimental (21 días).

	PA0	PA10	PA20
Consumo de alimento ($\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$)	4,24	4,79	4,75
Consumo de alimento total (g)	86,67 ^b	100,67 ^{ab}	105,00 ^a
GDP(g)	-0,23	0,03	-0,05

PA0: dieta de pan con 0% de amaranto. PA10: dieta de pan con 10% de amaranto. PA20: dieta de pan con 20% de amaranto.

GDP: ganancia diaria de peso.

Los valores con letras diferentes en la misma fila presentaron diferencias estadísticas ($P<0,05$).

Aunque se observó que el grupo de animales alimentados con PA10 fue el único que mostro una ganancia en peso diaria (0,03g) durante los 21 días del ensayo a diferencia de los grupos PA0 y PA20 en los cuales se observó una



perdida de peso discreta; sin embargo, estas aparentes diferencias no resultaron significativas ($P>0,05$).

La variación del peso de los grupos durante el consumo de PA10 y PA20 fue similar durante el estudio y no se observaron diferencias estadísticas entre ellos en función del tiempo. En el grupo PA0 se observó una disminución de peso los primeros siete días del ensayo, lo cual pudo deberse a problemas de adaptación a la dieta; no obstante, luego se presentó un aumento gradual del peso hasta los 21 días del experimento (figura 1) similar al presentado por el grupo PA20.

La poca ganancia de peso de todos los grupos hasta el final del estudio, pudo deberse a la baja ingesta del alimento suministrado; sin embargo, el aporte de nutrientes con dichas dietas se estimó que cubrían los requerimientos nutricionales de las ratas, lo cual facilitó, en líneas generales, el mantenimiento del peso corporal.

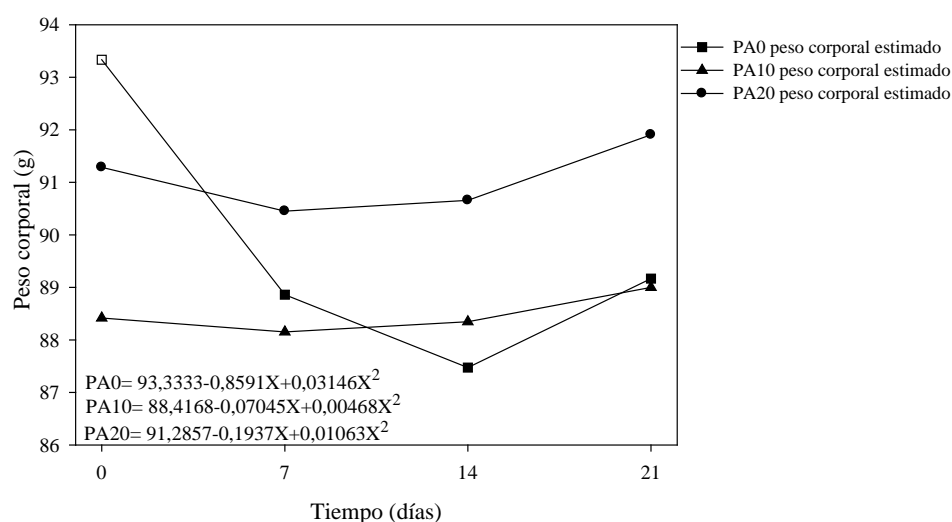


Figura 1. Peso corporal en ratas machos *Sprague dawley* que consumieron PA0, PA10 y PA20 monitoreado por un mes.

En relación a los parámetros bioquímicos (tabla 2) se observó que la concentración de GLU, TG y PRO no se afectó por efecto de las dietas ($P>0,05$). Los valores de CT, LDL-C, factor de riesgo e índice aterogénico fueron mayores en el grupo PA0, que presentó diferencias significativas ($P<0,05$) con los grupos PA10 y PA20. La concentración de HDL-C fue mayor en los grupos PA10 y PA20, de nuevo con diferencias significativas ($P<0,05$) con el grupo PA0.

Los resultados de los parámetros bioquímicos tras el consumo de PA10 y PA20 demostraron un buen estado de salud de los animales, lo que evidenció que los panes con amaranto presentaron los nutrientes necesarios para el buen desarrollo y mantenimiento de las ratas, especialmente en cuanto al contenido de proteínas, minerales y fibra.

Tabla 2. Efecto de las dietas experimentales sobre parámetros bioquímicos en ratas *Sprague dawley* luego de 10 semanas de consumo.

Parámetros	Dietas experimentales		
	PA0	PA10	PA20
GLU	119,27 ^a	119,10 ^a	113,90 ^a
CT	160,68 ^a	128,63 ^b	130,48 ^b
TRI	155,68 ^a	152,85 ^a	157,37 ^a
HDL-C	31,05 ^b	46,28 ^a	37,99 ^{ab}
LDL-C	98,50 ^a	51,78 ^b	61,04 ^b
VLDL-C	31,14 ^a	30,57 ^a	31,47 ^a
CT/HDL*	5,19 ^a	2,83 ^b	3,64 ^b
Índice aterogénico	4,19 ^a	1,83 ^b	2,64 ^b
CT/LDL	1,63 ^b	2,49 ^a	2,28 ^a
HDL/LDL	0,32 ^b	0,90 ^a	0,72 ^b
PRO**	6,96 ^a	6,73 ^a	6,79 ^a

Cantidades en $\text{mg}\cdot\text{dl}^{-1}$. *Factor de riesgo cardíaco. **Cantidades en $\text{g}\cdot\text{dl}^{-1}$. PA0: pan 0% amaranto, PA10: pan 10% amaranto, PA20: pan 20% amaranto. GLU: Glucosa, CT: colesterol total, TRI: triglicéridos, HDL-C: lipoproteína de alta densidad, LDL-C: lipoproteína de baja densidad, VLDL-C: lipoproteína de muy baja densidad, PRO: proteína.

Los valores con letras diferentes en la misma fila presentaron diferencias estadísticas ($P<0,05$).

El consumo de PA10 y PA20 no produjeron modificaciones en los valores de GLU y TRI, además se evidenció un efecto positivo sobre las concentraciones de CT, LDL-C y HDL-C, es decir, que el amaranto podría ayudar a mejorar la salud de los consumidores, ya que los grupos PA10 y PA20 presentaron un menor índice aterógeno y menor riesgo cardiaco. Este es un hallazgo importante, ya que concentraciones bajas de CT y LDL-C y valores elevados de HDL-C han sido relacionados con un buen estado de salud cardiovascular lo que permitió prevenir enfermedades metabólicas, aterosclerosis e infarto al miocardio y repercutir favorablemente en otras como diabetes (Horton, 2006). Resultados similares fueron observados por Króliczewska *et al.* (2008), Pandhare *et al.* (2012) al utilizar extracto o semillas de amaranto. Chatuverdi *et al.* (1993) atribuyeron el efecto hipocolesterolémico del amaranto a la presencia de escualeno y, Mendonça *et al.* (2009) justificaron este efecto por la proteína presente en el amaranto.

Por otro lado, numerosas investigaciones han documentado los efectos hipocolesterolémicos de la fibra dietética (Bhathena *et al.*, 2002; Galisteo *et al.*, 2008); es lógico, por tanto, que el alto porcentaje de fibra dietética del amaranto (Montero-Quintero *et al.*, 2011), podría ser responsable de parte de los efectos positivos observados en el perfil lipídico de los animales.

Los mecanismos responsables de este efecto son relativamente complejos. Varias hipótesis sugieren los posibles mecanismos, entre los que se encuentran el aumento del contenido gastrointestinal, que interfiere la formación de micelas y absorción de lípidos, lo que provoca un aumento y excreción de esteroides y ácidos biliares e inhibición de síntesis de colesterol hepático, junto al efecto debido a la absorción del ácido propiónico formado en

la fermentación (Anderson *et al.*, 2009). Estos mecanismos actúan significativamente en las tasas de colesterol del suero sanguíneo, con lo que se afecta principalmente la subfracción de LDL-C, directamente relacionada con las enfermedades cardiovasculares (Anderson *et al.*, 2009).

Por otra parte, la fibra juega un papel muy importante en el mantenimiento de un estado saludable (Schweizer y Würsch, 1991). Los altos niveles de fibra dietética tienen importancia en la alimentación de monogástricos ya que actúa a nivel intestinal aumentando el bolo fecal, acompañado de una disminución del tiempo de tránsito intestinal y produciendo un efecto protector contra el cáncer de colon (Arellano *et al.*, 2004; Devin *et al.*, 2007). Además, se sabe que la fibra dietética tiene influencia en la regulación del peso corporal, la ingesta de alimentos, la homeostasis de la glucosa, sensibilidad a la insulina y el riesgo de enfermedades cardiovasculares (Kaline *et al.*, 2007; Queeman *et al.*, 2007).

La respuesta glicémica postprandial se muestra en la figura 2. En los tres grupos se observaron valores de glucosa basal normal, entre 63,44 y 74,91 mg·dl⁻¹. El consumo de PA0 provocó una respuesta glicémica rápida y elevada a los 80 min (120 mg·dl⁻¹) equivalente a un incremento de 1,89 veces mayor al valor basal, la cual disminuyó drásticamente a los 120 min (89,28 mg·dl⁻¹). PA10 y PA20 en cambio provocaron picos más bajos y unas curvas más regulares entre los 40 y 120 min (104,08 y 107,51 mg·dl⁻¹ y 93,86 y 91,04 mg·dl⁻¹, respectivamente para PA10 y PA20) representando un incremento de 1,24 veces del valor basal, respecto al presentado a los 120 min, con las dichas dietas que contenían amaranto.

Las concentraciones de la glucosa postprandial en sangre fueron menores en los grupos que consumieron pan con amaranto. La respuesta postprandial tras el consumo de las dietas permitió evidenciar que los grupos PA10 y PA20 presentaron un mejor resultado, debido a que se redujo el pico de hiperglucemia y la fase de hiperglucemia total (área bajo la curva). Los mayores niveles de glucosa por el consumo de PA10 y PA20 se observaron a los 40 min, siendo más bajos a los 80 min después del consumo de las dietas. La mejor respuesta observada en los grupos PA10 y PA20 podría deberse al aporte de fibra del amaranto. Algunos estudios sugieren que el alto contenido de fibra insoluble reduce el apetito, y por consiguiente la ingesta de alimentos lo que mejora la respuesta glicémica (Queeman *et al.*, 2007) todo esto podría estar relacionado con la regulación de la absorción de la misma y por tanto, evitar variaciones bruscas de los niveles de glucosa en sangre, mejorando de esta manera la respuesta metabólica ante el consumo de carbohidratos, lo cual es sumamente importante en las personas diabéticas.

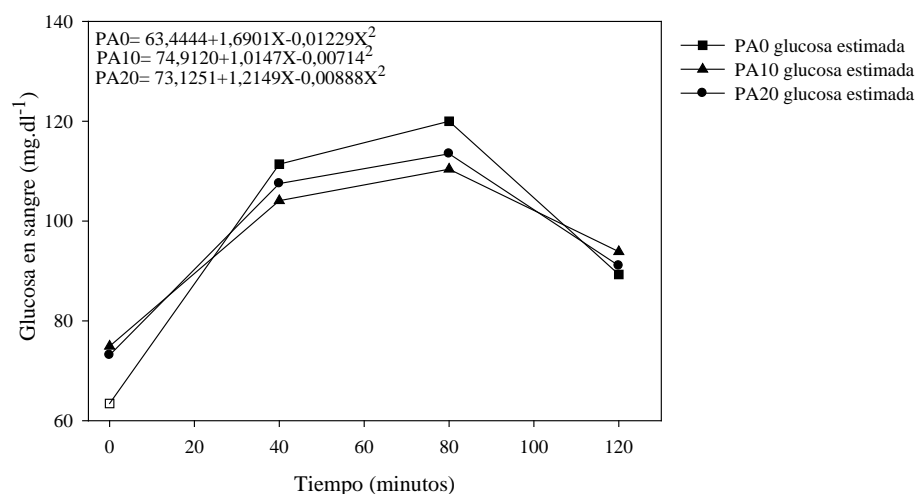


Figura 2. Respuesta glicémica postprandial de ratas macho *Sprague dawley* en ayuno y a los 40, 80, y 120 minutos después del consumo de 3g de cada dieta: PA0, PA10 y PA20 en el día 29 del protocolo. Cada valor es la media $n = 10$. Letras diferentes en cada tiempo indican diferencia significativa ($P < 0,05$).



CONCLUSIONES

El consumo de panes con harina integral de amaranto se podría asociar con el mantenimiento del peso en los regímenes isocalóricos, así como, a una relación adecuada entre el HDL-C y LDL-C, lo cual se relaciona a mejor salud cardiovascular. El pan con amaranto produce una respuesta postprandial de la glucosa más estable, produciendo picos hiperglicémicos más bajos. Por lo que, el amaranto podría ser utilizado como un ingrediente funcional para mejorar las características nutricionales del pan, aumentando de esta forma el consumo diario de fibra dietética en los regímenes alimenticios isocalóricos o hipocalóricos mejorando la respuesta glicémica postprandial y el perfil lipídico de los consumidores.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES) por el financiamiento de esta investigación (proyecto CC-0670-10). Al Programa de formación en Panadería de la Universidad del Zulia por su colaboración en la elaboración de los panes. Al Instituto Endocrino-Metabólico Félix Gómez por permitir la utilización del Bioterio y el procesamiento de los análisis químicos.

LITERATURA CITADA

- Aleixandre, A., M. Miguel. 2008. Dietary fiber in the prevention and treatment of metabolic syndrome. *Critical Review Food Science and Nutrition* 48:905-912.
- Alviña, M., A. Araya. 2004. Rapid carbohydrate digestion rate produced lesser short-term satiety in obese preschool children. *European Journal of Clinical Nutrition* 58: 637-642.
- Anderson, J.W., P. Baird, R.H. Jr. Davis, S. Ferreri, M. Knudtson, A. Koraym, V. Waters and C.L. Williams. 2009. Health benefits of dietary fiber. *Nutrition*



Reviews 67:188-205.

- Araya, H., M. Alviña. 2009. Productos de panificación funcionales. pp. 151-173. En: Aspectos nutricionales y saludables de los productos de panificación. Lutz M., León A. (Eds). Chile: Universidad de Valparaíso.
- Arellano, M.A.L., G. Albarracín, S. Arce, S. Mucciarelli. 2004. Estudio comparativo de hojas de *Beta vulgaris* con *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. *Phyton* 73:193-197.
- Augustin, L.S., S. Franceschi, D.J. Jenkins, C.W. Kendall, C. La Vecchia. 2002. Glycemic index in chronic disease: a review. *European Journal of Clinical Nutrition* 56:1049-1071.
- Bhathena, S.J., A.A. Alib, A.I. Mohamedc, C.T. Hansend, M.T. Velasquez. 2002. Differential effects of dietary flaxseed protein and soy protein on plasma triglyceride and uric acid levels in animal models *Journal of Nutritional Biochemistry* 13:684-689.
- Bodroza-Solarov, M., B. Filioccev, Z. Kevresan, A. Mandic, O. Simurina. 2008. Quality of bread supplemented with popped *Amaranthus cruentus* grain. *Journal of Food Process Engineering* 31:602-618.
- Brites, C.M., M.J. Trigo, B. Carrapiço, M. Alviña, R. Bessa. 2011. Maize and resistant starch enriched breads reduce postprandial glycemic responses in rats. *Nutrition Research* 31:302-308.
- Chaturvedi, A., G. Sarojini, N. Devi. 1993. Hypocholesterolemic effect of amaranth seeds (*Amaranthus esculentus*). *Plants Foods for Human Nutrition* 44:63-70.
- Carter, J.F. 1993. Potential of flaxseed and flaxseed oil in baked goods and other products in human nutrition. *Cereal Foods World* 38:753-759.
- Colina Barriga, M.S. 2012. La magia de la panadería. Venezuela. Primera Edición. 220 p.
- Czerwiński, J., E. Bartnikowska, H. Leontowicz, E. Lange, M. Leontowicz, E. Katrich, S. Trakhtenberg, S. Gorinstein. 2004. Oat (*Avena sativa* L.) and amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) meals positively affect plasma lipid profile in rats fed cholesterol-containing diets. *Journal of Nutritional Biochemistry* 15:622-629.
- Devin, R., M. DeMeo, A. Keshavarzian, B. Hamaker. 2007. Influence of dietary fiber on inflammatory bowel disease and colon cancer: importance of fermentation pattern. *Nutrition Reviews* 65(2):51-62.
- European Union. 2003. Protection of animals used for experimental purposes. Directive 86/609/EEC of 24th November 1986, amended

16th September 2003.

- Galisteo, M., J. Duarte, A. Zarzuelo. 2008. Reviews: Current Topics. Effects of dietary fibers on disturbances clustered in the metabolic síndrome. *Journal of Nutritional Biochemistry* 19:71-84.
- Gamel, T.H., J.P. Linssen, A.S. Mesallam, A.A. Damir, L.A. Shekib. 2006. Seed treatments affect functional and antinutritional properties of amaranth flours. *Journal of Science Food and Agriculture* 86:1095-1102.
- Hare-Bruun, H., A. Flint, B.L. Heitmann. 2006. Glycemic index and glycemic load in relation to changes in body weight, body fat distribution, and body composition in adult Danes. *American of Journal Clinical Nutrition* 84:871-879.
- Horton, R. 2006. Curbing the obesity epidemic. Editorial. *Lancets* 367, 1549.
- Hye-Kyung, K., K. Mi-Jeong, C. Hong-Yon, K. Eun-Ki, S. Dong-Hoon. 2006. Antioxidative and anti-diabetic effects of amaranth (*Amaranthus esculantus*) in streptozotocin-induced diabetic rats. *Cell Biochemistry Function* 24:195-199.
- Isserliyska, D., G. Karadjov, A. Angelov. 2001. Mineral composition of Bulgarian wheat bread. *European Food Research and Technology* 213:244-245.
- Itokawa, M., A. Hirao, H. Nagahama, M. Otsuka, T. Ohtsu, N. Furutani, K. Hirao, T. Hatta, S. Shibata. 2013. Time-restricted feeding of rapidly digested starches causes stronger entrainment of the liver clock in PER2::LUCIFERASE knock-in mice. *Nutrition Research*33: 109-119.
- Jenkins, D.J.A., C.W.C. Kendall, L.S.A. Augustin, S. Franceschi, M. Hamidi, A. Marchie. 2002. Glycemic index: overview of implications in health and disease. *American of Journal Clinical Nutrition* 76(Supp I):266-273.
- Kaline, K., S.R. Bornstein, A. Bergmann, H. Hauner, P.E.H. Schwarz. 2007. The importance and effect of dietary fiber in diabetes prevention with particular consideration of whole grain products. *Hormone Metabolic Research*39: 687-693.
- Króliczewska, B., W. Zawadzki, A. Bartkowiak, T. Skiba. 2008. The level of selected blood indicators of laying hens fed with addition of amaranth grain. *Electronic Journal of Polish Agriculture University*11(2):1-8.
- Matia Martin, P., E. Lecumberri Pascual, A.L. Calle Pascual. 2007. Nutrition and metabolic síndrome. *Revista Española de Salud Pública* 81:489-505.
- Matteucci, S., L. Pla, A. Colma. 1999. Recolección sistemática de germoplasmas de *Amaranthus* spp. en ecosistemas secos del estado Falcón. Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*. 16:356-370.



- Mendonça, S., P.H. Saldiva, R.J. Cruz, J.A.G. Arêas. 2009. Amaranth protein presents cholesterol-lowering effect. *Food Chemistry* 116:738-744.
- Molina, E., P. González-Redondo, K. Montero, R. Ferrer, R. Moreno-Rojas, A. Sánchez-Urdaneta. 2011. Efecto de la época de recolecta y órgano de la planta sobre el contenido de metales de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. *Interciencia* 36:386-391.
- Montero-Quintero, K., R. Moreno-Rojas, E. Molina, A.B. Sánchez-Urdaneta. 2011. Composición química del *Amaranthus dubius*: una alternativa para la alimentación humana y animal. *Revista de Facultad de Agronomía (LUZ)*. 28(Supl. 1):619-627.
- Pandhare, R., S. Balakrishnan, P. Mohite, S. Khanage. 2012. Antidiabetic and antihyperlipidaemic potential of *Amaranthus viridis* (L.) Merr. in streptozotocin induced diabetic rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* S180-S185.
- Queeman, K.M., M.L. Stewart, K.N. Smith, W. Thomas, R.G. Fulcher, J.L. Slavin. 2007. Concentrated oat β -glucan, a fermentable fiber, lowers serum cholesterol in hypercholesterolemic adults in a randomized controlled trial. *Nutrition Journal* 26(6): 6-12.
- Samra, R.A., G.H. Anderson. 2007. Insoluble cereal fiber reduces appetite and short-term food intake and glycemic response to food consumed 75 min later by healthy men. *American Journal of Clinical Nutrition*. 86(4):972-979.
- Sanz-Penella, J.M., J.A. Tamayo-Ramos, Y. Sanz, M. Haros. 2009. Phytate reduction in bran-enriched bread by phytase-producing bifidobacteria. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 57:239-244.
- Sanz-Penella, J.M., M. Wronkoswska, M. Soral-Smietana, M. Haros. 2013. Effect of whole flour on bread properties and nutritive value. *LWT- Food Science and Technology* 50:679- 685.
- SAS (2002-2003) Statistical Analysis System. Version 9.1. Institute Inc, Carym NC, EEUU.
- Schweizer, T.F., P. Würsch. 1991. The physiological and nutritional importance of dietary fibre. *Experientia* 47(2):181-186.

CAPÍTULO V

HYPOLIPIDEMIC AND HYPOGLYCEMIC EFFECT OF WHOLEMEAL BREAD WITH AMARANTH ON *SPRAGUE DAWLEY* RATS

EFEECTO HIPOLIPEMIANTE E HIPOGLUCEMIANTE DE PANES INTEGRALES ELABORADOS CON AMARANTO EN RATAS *Sprague dawley*

Enviada para arbitraje en la revista European Journal of Lipid Science and Technology. Índice de Impacto de 2.266 con posición 31/124 (primer cuartil) de la categoría "Food Science & Technology" y posición 33/76 (segundo cuartil) de la categoría "Nutrition & Dietetic" del Journal Citation Reports (Science Edition, año 2012).

Keyla C. Montero-Quintero^a, Rafael Moreno-Rojas^b, Edgar Molina^a Belkys Bracho^c and Adriana B. Sánchez-Urdaneta^d

^aDepartamento de Química, Facultad de Humanidades y Educación, Universidad del Zulia, Venezuela.

^bDepartamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Córdoba, España.

^cDepartamento de Estadística, Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia, Venezuela.

^dDepartamento de Botánica, Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia, Venezuela. **Correspondence:** Adriana Beatriz Sánchez-Urdaneta. Departamento de Botánica, Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela. Apartado 526, Maracaibo 4001-A, Estado Zulia, Venezuela. **Tel.-fax:** +582614127110. **e-mail:** usanchez@fa.luz.edu.ve



RESUMEN

Se estudio el efecto del consumo de panes con harina de trigo y harina integral de amaranto en ratas *Sprague dawley* con hiperlipidemia e hiperglicemia. Cuatro dietas fueron suministradas: control (CD: Protinal rataharina®), pan comercial (CBD), pan con 10% amaranto (ABD10) y pan con 20% amaranto (ABD20). Parametros zoométricos y químicos fueron medidos antes y despues del consumo de las dietas. Se utilizó un diseño factorial completamente al azar de 2x4x2. Los factores fueron: salud (sanos, H y enfermos, S), las dietas (CD, CBD, ABD10 and ABD20) y el género sexo (hembras y machos). Las ratas que consumieron ABD10 y ABD20 presentaron los valores más bajos de glucosa sin diferencia estadísticas ($P>0,05$) entre los grupos de ratas enfermas. Una disminución significativa fue observada en la concentración de colesterol total ($P<0,05$) y triglicéridos ($P<0,05$) en los grupos ABD10 y ABD20 en comparación con los grupos CD(H) y CD(S). Los valores de HDL-C se incrementaron significativamente en los grupos ABD ($P<0,01$). En los grupos ABD10 y ABD20 la circunferencia abdominal y el índice de masa corporal disminuyó signifcativamente ($P<0,0001$) entre las semanas 23 y 31. Estos resultados demostraron que el consumo de panes con amaranto mejoró el perfil lipídico y podría ser una opción para ayudar en la prevención y tratamiento de enfermedades metabólicas y cardiovasculares.

Palabras clave: pan, amaranto, hipolipemiente, hipoglucemiante, ratas.

ABSTRACT

The effect of consuming bread with wheat flour and Amaranth wholemeal flour on *Sprague dawley* rats with hyperlipidemia and hyperglycaemic was studied. Four diets were given: control (CD: Protinal rataharina®), commercial bread (CBD), bread with 10% amaranth (ABD10) and bread with 20% amaranth (ABD20). Zoometric and chemical parameters were measured before and after consuming the diet. A completely random factorial design of 2x4x2 was used. The factors were: health (healthy, H and sick, S), the diet (CD, CBD, ABD 10 and ABD 20) and gender sex (female and male). The rats which consumed ABD10 and ABD20 presented the lowest glucose values, with no statistical differences ($P>0.067$) between the groups of sick rats. A significant decrease was observed in the total cholesterol ($P<0.013$) and triglyceride ($P<0.043$) concentrations in groups ABD10 and ABD20 in comparison with groups CD(H) and CD(S). The HDL-C values significantly increased in the ABD groups ($P<0.007$). In groups ABD10 and ABD20 the abdominal circumference and body mass indices decreased significantly ($P<0.0001$) between weeks 23 and 31. These results demonstrated that the consumption of bread with amaranth improved their lipid profile and could be an option for helping to prevent and treat metabolic and/or cardiovascular diseases.

Key words: bread, amaranth, hyperlipidemia, hyperglycaemic, rats.



PRACTICAL APPLICATION

Amaranth is a plant little consumed worldwide, which could be used as raw material for bakery products, as it can replace partially to wheat flour, improving the nutritional quality of the product and producing functional food, for its contribution of fiber which helps reduce and/or maintain normal lipid levels and improve the symptoms of some diseases of the metabolic syndrome.

Key words: bread, amaranth, hypolipidemic, hypoglycaemic, rats.

ABBREVIATIONS

- CG, control group
- GCS, group consuming sucrose
- H, healthy
- S, sick
- CD, control diet
- CBD, commercial bread diet
- ABD10, amaranth bread diet 10%
- ABD20, amaranth bread diet 20%
- F, female
- M, male
- GLU, glucose
- TC, total cholesterol
- TG, triglycerides
- HDL-C, high density lipoprotein
- LDL-C, low density lipoprotein
- VLDL-C, very low density lipoprotein
- PRO, protein
- BMI, body mass index
- AC, abdominal circumference.

INTRODUCTION

The main causes of morbidity and mortality in Western countries, Asia and the Pacific are cardiovascular disease and diabetes (Kaur *et al.*, 2002; Kromhout *et al.*, 2002; Wolfram *et al.*, 2006; Turlouki *et al.*, 2009). The main risk factors for atherosclerosis and diabetes are hyperglycaemia and hyperlipidemia (Goldstein *et al.*, 1973; Harrison *et al.*, 2003), which are directly related to diet and lifestyle (Kaur *et al.*, 2002; Turlouki *et al.*, 2009).

"Western-type" diets, rich in saturated fats, simple carbohydrates and low in fibre, are recognized as a risk factor for atherosclerosis and diabetes (Zunft *et al.*, 2003). On the other hand, studies confirm that a larger amount of fibre in the diet causes a lower incidence of these diseases (Matia-Martín *et al.*, 2007; Sanz-Penella *et al.*, 2009). Therefore, consuming cereals and pseudocereals helps to prevent diseases associated with metabolic syndromes (Aleixandre y Miguel, 2008).

There is a worldwide need to seek alternative foods in order to improve the nutritional status of the population and to prevent the incidence of metabolic diseases associated with the intake of certain foods. Seeds and shoots are an excellent example of functional foods whose consumption has increased among people interested in improving and maintaining good health because their components decrease the risk of various diseases and/or promote beneficial health effects. However, most of the recently-published research has focused mainly on the study of typical, commercially available shoots. Nevertheless, in recent decades, the use of seeds, amaranth sprouts, and other non-traditional vegetables has increased. Not only this increase has occurred in the great majority of people, but also in vegans, vegetarians,

celiacs, and those who are allergic to some commonly consumed vegetables (Berti *et al.*, 2005; Pasko *et al.*, 2009).

Amaranthus is a photosynthetic plant of the C₄ type, with a high genetic diversity and high productivity. It is adapted to different soil-weather conditions, especially to dry soils and high temperatures. Its main advantage is its ability to adapt to a wide variety of environments and its tolerance of adverse conditions (Costea *et al.*, 2004; Omani *et al.*, 2006). It grows wild, and, found in different subsistence crops, such as maize, sorghum, and some legumes, it is commonly considered as a weed (Matteucci *et al.*, 1999).

In Venezuela there are about 12 widely-distributed species, but *Amaranthus dubius* is a one of the most numerous (Matteucci *et al.*, 1999; Acevedo *et al.*, 2007; Carmona, 2007; Olivares y Peña, 2009). It presents the growing characteristics necessary for exploitation as a crop and, due to its nutritional and agronomic characteristics, it was included in the ancestral foods rescue program in Venezuela and has, since 2005, been considered a wild species with a potential for cultivation (Acevedo *et al.*, 2007).

Cultivated *A. dubius* has a high concentration of proteins and minerals (Montero-Quintero *et al.*, 2011), low concentrations of toxic and antinutritional factors, and has not exhibited the presence of heavy metals such as Cd and Pb (Molina *et al.*, 2011). This makes it of great nutritional interest because it could become a means of improving nutrition and maintaining and strengthening the human immune system. It could also be used in the preparation of gluten-free products, i.e. functional foods for use in treating certain diseases associated with food consumption (Czerwiski *et al.*, 2004; Hye-Kyung *et al.*, 2006). The

nutritional and agronomic characteristics of amaranth make it a plant of potential interest for use in the food industry.

Bread is a staple component of the diet in many parts of the world and because of its high carbohydrate content it contributes about 50% of the diet's energy input. Digestion of the carbohydrate in bread affects glucose absorption and the metabolic glucose and lipids regulatory mechanisms (Augustin *et al.*, 2002).

Many studies have aimed at improving the nutritional value of bread with functional ingredients. Some recommend adding different mixtures of seeds, the grains of other cereals or nuts (Bodroza-Solarov *et al.*, 2008). In recent times, amaranth has gained renewed interest as a functional ingredient, especially in bakery processes, since it is highly versatile for transformation and industrialization (Mujica-Sánchez *et al.*, 1997; Jacobsen *et al.*, 2002; Zapotoczny *et al.*, 2006; Sanz-Penella *et al.*, 2013).

There are no previous reports on the hypoglycemic and hypolipidemic effect of bread made with the addition of amaranth flour. Such flour could be an alternative food for patients with metabolic syndromes or for preventing of related diseases in healthy individuals.

The present study aimed to analyze the metabolic effect of consumption of bread with added amaranth flour in glycaemic and lipidemic levels in *Sprague dawley* rats with high sucrose consumption.

MATERIAL AND METHODS

Obtaining amaranth flour

Samples of *A. dubius* were obtained from an experimental sowing located on a farm in the Santa Rita municipality, Zulia State, Venezuela. The soil was prepared with a harrow and fertilized with organic matter (plant layer and poultry manure).

The panicles were dehydrated in a stove (50 to 60 °C for 40 h) with rotation and constant aeration. They were subsequently ground, sifted with particle size ≤ 0.5 mm (Retsch Muhle Dietz, LB1 –27, Germany) and stored in polyethylene containers with a hermetic lid, covered with a fabric bag and kept in wooden cases at temperatures of ≤ 20 °C until being used in bread preparation.

Bread preparation

The bread with amaranth (10 and 20%) was prepared according to Colina's proposal (2012), mixing wheat and amaranth wholemeal flour, based on the other components added (w/w), 1.5% salt, 6% sugar, 5% fat, 5% yeast with 55% water. The dough was mixed and kneaded for 15 min (Boia® 20 L) and subsequently kneaded manually. It was then weighed and placed in a sandwich bread mould. Fermentation occurred at 30-35 °C for 180 min and the bread was baked at 160-170 °C for 1 h 10 min.

Preparation of diets

Four diets were prepared: control diet (CD), special food for rodent consumption (Protinal Rataharina®), commercial bread diet (CBD), acquiring a special commercial bread for hypertensive, diabetic and obese people; diet bread with 10% amaranth (ABD10) and diet bread with 20% amaranth (ABD20).

To prepare the CBD, ABD10 and ADB20 diets, the loaves were cut up and dried at 60 °C for 48 h. Then they were ground for use in the preparation of pellets for each diet (table 1).

Table 1. Composition of breads made with amaranth flour, commercial bread and experimental diets.

	Experimental diets			
	CD (rataharina®)	ABD10	ABD20	CBD
Composition of breads [g·kg⁻¹ diet]				
Bread	-	900.0	900.0	900.0
Oil	-	50.0	50.0	50.0
Mixture of vit. and min.	-	50.0	50.0	50.0
Proximate composition of breads				
Dry matter	913.2	918.1	919.2	912.2
Ash (minerals)	78.1	20.0	31.4	13.2
Protein	262.0	183.7	189.2	155.8
Ether extract	21.3	70.0	86.9	10.4
Crude Fiber	62.5	17.3	30.0	9.7
NFE ^b (starch)	576.1	708.4	662.4	811.0
TDN ^c	-	806.2	803.2	790.1

CD: control diet. CBD: commercial bread diet. ABD10: diet bread amaranth 10%. ABD20: diet bread amaranth 20%

^a Provided by T&V (Alforja, España), mineral and vitamins composition (g·Kg⁻¹ premix): Fe: 10, I: 0.2, Co: 0.02, Cu: 3, Mn: 10, Zn: 12, Se: 0.02, Vitamin E: 3.2, Vitamin B₁: 0.2, Vitamin B₂: 0.6, Vitamin B₆: 0.2, vitamin B₁₂: 0.002, calcium d-pantothenate: 2, Nicotinic acid: 4.4, cholinechloride: 10, Vitamin A: 1800.000 UI, Vitamin D₃.

^b NFE: Nitrogen free extract.

^c TDN: Total digestible nutrients.

Animals

A total of 60 *Sprague dawley* rats (30 males and 30 females) aged 21 days, supplied by the vivarium at the Center-Western Lisandro Alvarado University, Barquisimeto, Lara State, Venezuela, were individually housed and maintained in a 12-h light/dark cycle at 25 °C, and fed with a commercial feed (rataharina Protinal®) and water *ad libitum*. By the time of the research at the Universidad del Zulia (Maracaibo, Venezuela), one did not exist for ethics

commission testing laboratory animals, however, the authors confirm that this study complies with the provisions of recommendations on care and protection of animals used for experimental ministering purposes established in the European Union (2003).

Induction of hyperglycaemia and hyperlipidemia

After this period hyperglycaemia and hyperlipidemia was induced over a 23-week period in 48 rats (24 males and 24 females) via ingestion *ad libitum* of initial diet and an aqueous solution of 30% m/v sucrose (Baños *et al.*, 1997; Aguilera *et al.*, 2004). Another group, consisting of 12 rats (6 males and 6 females) remained healthy with an *ad libitum* intake of initial diet and drinking water.

Subsequently, 10 animals were randomly selected from each group (five males and five females), and their zoometric parameters were measured: weight, height, body mass index (BMI) and abdominal circumference (AC) and blood samples were taken from the coccygeal vein previously anesthetized with ether (Iltokawa *et al.*, 2013) for determinations of blood chemistry (glucose, triglycerides, total cholesterol, HDL-C, LDL-C, VLDL-C, total protein indices were calculated CT/HDL, CT/LDL, HDL/LDL).

Experimental diet

Forty-eight (48) sick animals (S: hyperlipidemic and hyperglycaemic) were divided into four groups of twelve animals each (six females and six males) according to the experimental diets: CD, CBD, ABD10 and ABD20. All groups consumed an aqueous solution of 30% sucrose and an appropriate diet *ad libitum*. The group of healthy animals healthy animal (H: six males and six females) received CD and drinking water *ad libitum*. At the end of the

experimental period the zoometric parameters were measured again and samples were taken for blood chemistry analysis, following the procedure described above and then were sacrificed by cervical dislocation.

Biochemical analysis of serum

Blood samples were centrifuged at 2000 rpm for 5 min to obtain serum which was then frozen at -20 °C for later analysis. In the determination of HDL-C, a Biochemical Human Gesellschaft fü kit, and mbH Diagnostica ref. 10018 were used. A DS Plus, Inc. kit to determine triglycerides, total cholesterol and glucose was employed. Protein determination was performed by Proti 2 kit Wiener Lab. The LDL-C, the atherogenic index and cardiac risk factor were calculated using the formulas:

$LDL-C = \text{total cholesterol} - HDL-C - (\text{triglycerides}/5)$, (Friedeward *et al.*, 1972).

$\text{Atherogenic index} = (\text{total cholesterol} - HDL-C)/HDL-C$, (Hostmark *et al.*, 1991)

$\text{Cardiac risk factor} = \text{total cholesterol}/HDL-C$, (Kim and Sho, 2007).

Statistical analysis

The data were analyzed using a randomized 2×4×2 split-plot design, and the research factors were the health status of the animal: (healthy, H and sick, S); diets: CD, CBD, ABD10, and ABD20, and gender of rats (male, M and female, F). The simple effects of the treatments were analyzed with Tukey's multiple comparison tests and the interaction of treatments with the GLM procedure with four replications and three sub-samples, using SAS v.9.1.3 statistical software. The weight variation in the experimental groups during the study period was analyzed by repeated measures methodology in time through the MIXED procedure (SAS, 2003), and then by selecting the second-degree polynomial models that best explained the behaviour of this variable over time.

RESULTS

Induction of the hyperglycaemia and hyperlipidemia

The hyperlipidemia and hyperglycaemia in *Sprague dawley* rats was achieved by administration *ad libitum* of an aqueous solution of 30% w/v sucrose for 23 weeks.

Table 2 shows the results of some zoometric and biochemical parameters evaluated at week 23. There were no significant differences ($P>0.05$) between the zoometric parameters evaluated. In the biochemical profile a significant difference in the GLU values ($P<0.0008$), TG ($P<0.01$), LDL-C ($P<0.05$) was

Table 2. Biochemical profile and zoometric parameters in control rats and rats consuming sucrose water for 23 weeks.

	GC	GCS
Biochemical parameter		
GLU	112.91 ^b	135.08 ^a
CT	100.77 ^a	133.90 ^a
TG	144.30 ^b	260.13 ^a
HDL	22.70 ^a	20.75 ^a
LDL	37.99 ^b	72.35 ^a
VLDL	41.77 ^a	28.77 ^b
CT/HDL	5.56 ^a	6.09 ^a
CT/LDL	3.77 ^a	1.64 ^b
HDL/LDL	0.63 ^a	0.28 ^b
PRO*	7.86 ^b	7.52 ^b
Zoometric parameters		
Body weight (g)	410.90 ^a	414.50 ^a
Size (cm)	23.58 ^a	23.70 ^a
AC (mm)	20.28 ^a	20.27 ^a
BMI	0.74 ^a	0.74 ^a

Values expressed in $\text{mg}\cdot\text{dl}^{-1}$. *values expressed in $\text{g}\cdot\text{dl}^{-1}$. CG: control group. GCS: group consuming sucrose. GLU: Glucose, TC: total cholesterol, TG: triglycerides, HDL-C: high density lipoprotein, LDL-C: low density lipoprotein, VLDL-C: very low density lipoprotein, PRO: Protein, BMI: body mass index. AC: abdominal circumference.

Values in the same row with different letters are significantly different ($P<0.05$).

observed in the study groups. TC and HDL-C showed no significant differences between groups ($P>0.05$).

Effect of bread consumption on zoometric parameters

Table 3 shows the results of the zoometric parameters due to the consumption of the experimental diets during 8 weeks (week 23 to week 31). No statistical difference ($P>0.393$) was observed between the weights of each of the experiment groups before or after consumption of the bread.

The IMC diminished between weeks 23 and 31, in the experiment groups with statistical differences ($P<0.0001$) depending on gender; it was in groups ABD10 and ABD20 that the greatest effect was noted.

The experimental groups which consumed the diet with amaranth (ABD10 and ABD20, exhibited a reduction in AC with statistical differences ($P<0.0001$) between week 23 and week 31 being presented. Conversely, in groups CD and CBD, an increase in AC with no statistical differences ($P>0.05$) was observed.

The variation in weight in the rats during the study is shown in figure 1. The female and male rats had different weight increases even when the initial weights were similar. However, during the hyperglucaemia and hyperlipidemia induction period the behaviour of the weight gain in the rats were comparable (figure 1A and 1B). As of day 163 of age (the start of the experimental diets) up to day 240, variable behaviour was observed. In groups CD (H), CD (S) and CBD, weights continued to increase until the end of the experimental period, whereas groups ABD10 and ABD20 began their weight loss as of day 184, a trend which was maintained until the end of the study, when groups CBD, ABD10 and ABD20 presented statistical differences with the rest of the groups ($P<0.010$, figura1A: $P<0.05$, figura 1B).



Table 3. Effect of consumption of bread prepared with amaranth on zoometric parameters in rats after 8 weeks of consumption.

		Size (cm)		AC (mm)		BMI		Body weight (g)	
		Before*	After**	Before*	After**	Before*	After**	Before*	After**
CD(H)	F	22.38 ^e	25.54 ^{cd}	16.95 ^e	16.85 ^e	0.70 ^c	0.58 ^d	350.88 ^{cd}	380.13 ^c
	M	25.63 ^c	29.00 ^{ab}	21.28 ^a	22.45 ^a	0.91 ^{ab}	0.72 ^c	591.00 ^{ab}	604.38 ^a
CD(S)	F	22.00 ^e	26.13 ^{bc}	18.88 ^{bc}	19.38 ^b	0.73 ^c	0.56 ^{de}	350.38 ^{cd}	381.98 ^c
	M	25.00 ^{cd}	29.25 ^a	21.70 ^a	22.00 ^a	0.84 ^b	0.71 ^c	591.00 ^{ab}	604.38 ^a
CBD (S)	F	21.88 ^e	25.00 ^{cd}	17.63 ^c	18.13 ^{bc}	0.67 ^{cd}	0.52 ^{de}	316.25 ^{cd}	325.38 ^{cd}
	M	25.13 ^{cd}	28.63 ^{ab}	21.28 ^a	21.28 ^a	0.78 ^{bc}	0.66 ^{cd}	491.38 ^{bc}	536.63 ^{ab}
ABD10(S)	F	21.38 ^e	24.90 ^{cd}	17.13 ^c	13.25 ^d	0.70 ^c	0.49 ^{de}	318.13 ^{cd}	307.88 ^{cd}
	M	24.38 ^{cd}	27.63 ^b	21.40 ^a	17.33 ^c	0.90 ^{ab}	0.66 ^{cd}	541.38 ^{ab}	509.50 ^b
ABD20(S)	F	21.00 ^e	24.00 ^d	17.23 ^c	12.25 ^e	0.67 ^{cd}	0.46 ^e	296.25 ^d	264.63 ^d
	M	25.13 ^{cd}	28.00 ^{ab}	22.78 ^a	16.13 ^c	0.94 ^a	0.72 ^c	592.63 ^{ab}	570.38 ^{ab}

* week 23; **week 31. CD(H): control diet (heathy), CD(S): control diet (sick), CBD(S): commercial bread diet (sick), ABD10(S): diet bread amaranth 10%(sick), ABD20: diet bread amaranth 20%(sick). F: female, M: male. AC: abdominal circumference, BMI: body mass

Values in the same parameter with different letters are significantly different (P<0.05).

Effect of bread consumption on biochemical parameters

Table 4 gives the chemical parameters of the experiment groups during the consumption of the diets. The lowest GLU values among the sick rat groups were found in the female rats; ABD10 did not display any statistical differences with respect to ABD20 ($P>0.05$), but it did with CBD (F) and CD(S) ($P<0.001$).

The lowest TC and TG concentrations were found in groups ABD10 and ABD20. No statistical differences ($P>0.05$) were found in TC between groups AB10, ABD20 or CBD but they were in group CD(S) ($P<0.05$), regardless of gender. On the other hand, the TG values were influenced by gender, and significant differences ($P<0.05$) were observed in each group except for groups CD(H) and ABD20.

LDL-C was low in ABD10 and ABD20, the lowest concentration being in group ABD10 (M) but no significant difference was seen between them ($P>0.420$). Groups ABD10 and ABD20 had the highest HDL-C values (51.15-41.00 $\text{mg}\cdot\text{dl}^{-1}$) showing statistical differences ($P<0.001$) in relation to the rest of the experiment groups.

The risk of suffering from some cardiovascular disease and the lowest atherogenic index were presented by groups ABD10 and ABD20, but no statistical differences were observed between them ($P>0.05$ and $P>0.05$).

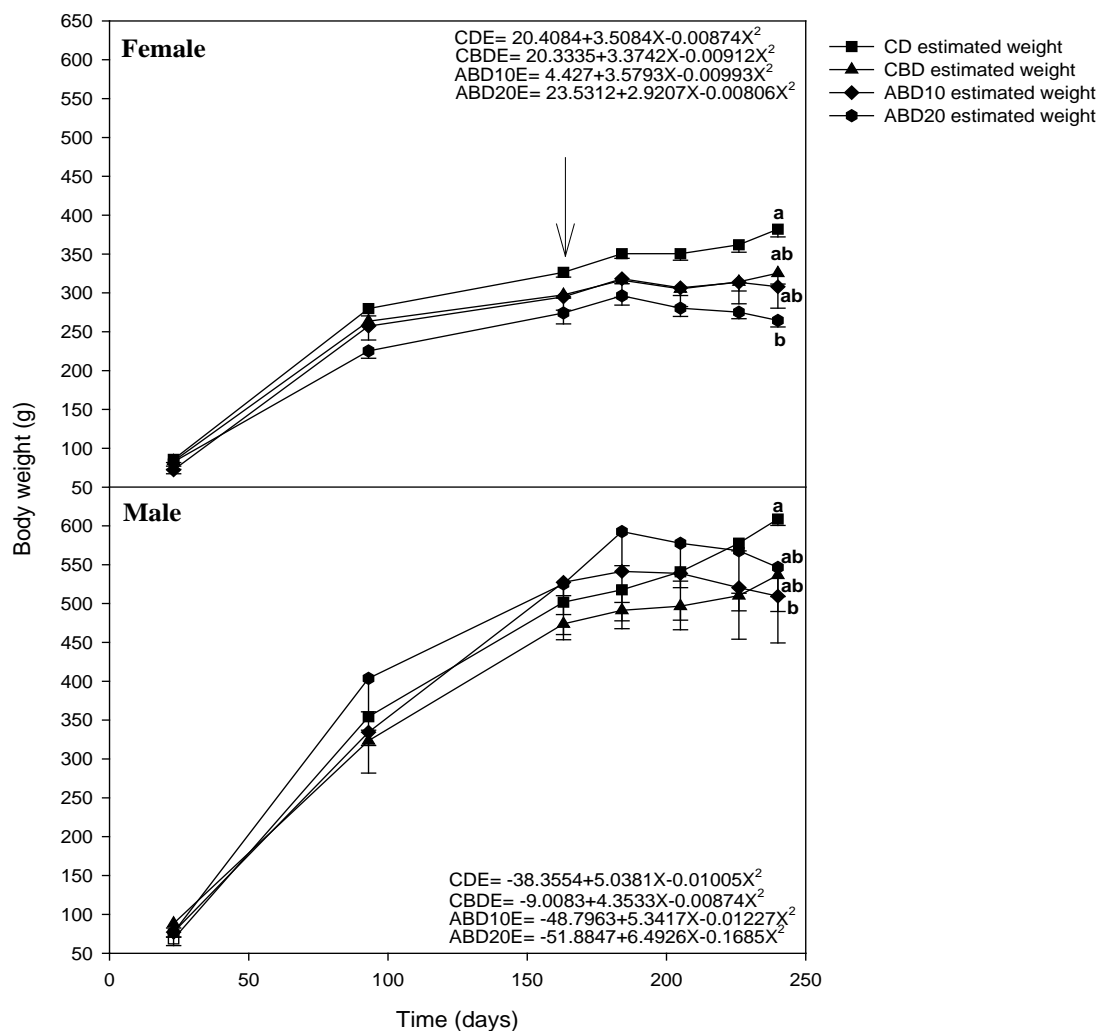


Figure 1. Body weights (means \pm SD) of CD(S) (square) CBD (triangle) ABD10 (diamond) ABD20 (circles) rats during 240 days of the protocol.

The arrow indicates the start of experimental diet.

The statistic results have been omitted for a greater clarity. Differences in the weight variation between female and male rats ($P < 0.01$) were observed although their behaviour was the same. There was no statistical difference ($P > 0.05$) during the consumption of the experimental diets except for one day 240, when groups ABD10, ABD 20 and CBD were similar to each other ($P > 0.05$), but differed from groups CD(H) and CD(S).

Table 4. Effect of consumption of bread prepared with the biochemical profile of amaranth in rats after 8 weeks of consumption.

	CD(H)		CD(S)		CBD(S)		ABD10(S)		ABD20(S)	
	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M
GLU	124.13 ^c	119.63 ^c	163.20 ^{ab}	174.10 ^a	173.10 ^a	164.48 ^{ab}	148.08 ^b	166.30 ^{ab}	153.70 ^{ab}	152.55 ^{ab}
TC	133.78 ^a	148.88 ^a	128.13 ^a	137.68 ^a	117.80 ^b	115.23 ^b	108.20 ^b	100.23 ^b	114.90 ^b	109.13 ^b
TG	137.13 ^{cd}	152.03 ^{cd}	215.88 ^{bc}	308.73 ^a	178.07 ^c	232.33 ^b	99.68 ^d	170.53 ^c	109.73 ^d	143.05 ^{cd}
HDL-C	22.76 ^b	19.70 ^b	18.21 ^b	22.99 ^b	19.02 ^b	19.45 ^b	47.80 ^a	51.15 ^a	47.75 ^a	41.00 ^a
LDL-C	82.58 ^{ab}	98.60 ^a	66.74 ^b	52.94 ^{bc}	62.96 ^b	50.26 ^{bc}	40.47 ^{bc}	33.33 ^c	45.21 ^{bc}	39.14 ^{bc}
VLDL-C	27.43 ^{cd}	30.41 ^{cd}	43.18 ^{bc}	61.75 ^a	35.62 ^c	46.47 ^b	20.00 ^a	33.11 ^c	21.95 ^d	28.61 ^{cd}
CT/HDL*	5.98 ^b	7.64 ^a	7.06 ^{ab}	6.16 ^{ab}	6.60 ^{ab}	5.99 ^b	2.50 ^c	1.97 ^c	2.47 ^c	2.89 ^c
Atherogenic index	4.99 ^a	6.64 ^a	6.07 ^a	5.16 ^a	5.61 ^a	4.99 ^a	1.50 ^b	0.97 ^b	1.52 ^b	1.89 ^b
CT/LDL	1.65 ^b	1.51 ^b	2.01 ^b	2.95 ^b	2.04 ^b	2.42 ^b	4.07 ^b	7.65 ^{ab}	2.61 ^b	13.19 ^a
HDL/LDL	0.28 ^b	0.20 ^b	0.30 ^b	0.54 ^b	0.30 ^b	0.42 ^b	2.34 ^{ab}	4.23 ^{ab}	1.13 ^b	7.04 ^a
PRO**	7.65 ^a	6.90 ^b	7.27 ^{ab}	6.91 ^b	6.86 ^{bc}	6.51 ^{bc}	7.10 ^{ab}	6.49 ^{bc}	6.31 ^c	6.47 ^{bc}

Values expressed in mg·dl⁻¹. *Heart risk factor. **Values expressed in g·dl⁻¹. CD(H): control diet (heathy), CD(S): control diet (sick), CBD(S): commercial bread diet (sick), DBA10(S): diet bread amaranth 10%(sick), DBA20(S): diet bread amaranth 20%(sick). F: female, M: male. GLU: Glucose, TC: total cholesterol, TG: triglycerides, HDL-C: high density lipoprotein, LDL-C: low density lipoprotein, VLDL-C: very low density lipoprotein, PRO: Proteín.

Values in the same row with different letters are significantly different (P<0.05).

DISCUSSION

Induction of the hyperglycaemia and hyperlipidemia

The results demonstrated that the ingestion of 30% saccharose solution m/v caused an increase in GLU, TG and TC levels. These results were similar to those reported previously by Aguilera *et al.* (2004) and Oliart *et al.* (2001).

The weight gain in the rats during the induction of the hyperglycaemia and hyperlipidemia was similar between the groups, which was consistent with what was found by Girard *et al.* (2006) in rats fed with 60% fructose in their diets.

Effect of bread consumption on zoometric and biochemical parameters

There are few research works on the use of vegetables in bread baking and their effect on the prevention and treatment of metabolic and cardiovascular diseases. Most assays have studied the effects of the consumption of certain vegetables and their extracts (Gupta *et al.*, 2009; Ha *et al.*, 2013).

The zoometric parameters most used to evaluate the degree of obesity are AC and BMI, which have been associated with the risk of cardiovascular diseases (Lee *et al.*, 2008), and mortality in patients with type 2 diabetes (Fox *et al.*, 2007), although these are rarely employed in assays with rats. The weight and AC of rats in groups ABD10 and AB20 diminished, which is an important indicator of the reduction in visceral fat accumulation [38], possibly influenced by the high fibre content in *A. dubius* (Arellano *et al.*, 2004; Montero-Quintero *et al.*, 2011). It is well known that these structures increase

satiety and reduce intestinal transit time and glycaemic response. It has been reported that weight loss is also related to a reduction in lipids or to an inhibitory effect on appetite (Ray *et al.*, 1993; Adewale y Oluwatoyin, 2007).

The slight hypoglycemia effect observed with the consumption of amaranth-enriched bread could be related to an effect of the amaranth's components on insulin synthesis or on the peripheral use of glucose (Ray *et al.*, 1993; Adewale y Oluwatoyin, 2007).

The data showed a simultaneous decrease in TC and TG, which was an important finding since this is not found with the administration of antihypercholesterolemic agents. These results were consistent with what was reported by Jeong *et al.* (2010).

It was demonstrated that low TC and LDL-C concentrations and high concentrations of HDL-C reduced the risk of developing ischemic heart diseases (Mayne, 1996). Therefore, the hypocholesterolemic effects of amaranth consumption could be associated with a lower atherogenic index and heart risk factor. In short, the consumption of amaranth-enriched bread could reduce the risk of cardiovascular diseases.

Amaranth contains high concentrations of dietary fibre (Arellano *et al.*, 2004; Montero-Quintero *et al.*, 2011), predominantly insoluble fibre (Arellano *et al.*, 2004). Some researchers have demonstrated that insoluble dietary fibre reduced cholesterol levels (Zunft *et al.*, 2003; Van Bennekum *et al.*, 2005).

Wholemeal bread has been reported to make a positive contribution to improving the intestinal function and treating obesity as it presents high contents of insoluble dietary fibre (Morales *et al.*, 2012). Therefore, amaranth-enriched bread contains an even higher content of this type of fibre due to the



addition of amaranth. This favours both intestinal regularity and weight control.

CONCLUSIONS

The consumption of bread made with wholemeal amaranth flour could be associated with a better lipid profile as it diminished TG, CT and LDL-C levels, and increased the HDL-C, which reduces the risk of heart attacks and/or high blood pressure. Amaranth-enriched bread could be used as a coadjuvant in blood glucose regulation and weight control, thanks to its dietary fibre content. Consuming bread with wholemeal amaranth flour, therefore, could be an alternative food which could help both prevent and treat cardiovascular and metabolic diseases due to its hypoglycemic and hypolipidemic effect.

ACKNOWLEDGEMENT

We are grateful for logistical support from Instituto Endocrino-Metabólico Felix Gómez and Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico of the Universidad del Zulia (CONDES-LUZ) for funding this project, and to the Vice Rectorado Académico of the Universidad del Zulia (VAC-LUZ).

LITERATURE CITED

- Acevedo, I., O. García, I. Acevedo, C. Perdomo. 2007. Valor nutritivo de bleado (*Amaranthus* spp.) identificado en el municipio Morán, estado Lara. *Agrollanía* 4:77-83.
- Adewale-Adeneye, A., E. Oluwatoyin-Agbaje. 2007. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of fresh leaf aqueous extract of *Cymbopogon citratus* Stapf. in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 112:440-444.
- Aguilera, A.A., G. Hernandez-Díaz, M. Lara-Barcelata, O. Angulo-Guerrero, R. Oliart-Ros. 2004. Effects of fish oil on hypertension, plasma lipids, and tumor necrosis factor- in rats with sucrose -induced metabolic syndrome. *Journal of Nutritional Biochemistry* 15:350-357.

- Aleixandre, A., M. Miguel. 2008. Dietary fiber in the prevention and treatment of metabolic syndrome. *Critical Review Food Science and Nutrition* 48:905-912.
- Arellano, M.A.L., G. Albarracín, S. Arce, S. Mucciarelli. 2004. Estudio comparativo de hojas de *Beta vulgaris* con *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. *Phyton* 73:193-197.
- Augustin, L.S., S. Franceschi, D.J. Jenkins, C.W. Kendall, C. La Vecchia. 2002. Glycemic index in chronic disease: a review. *European Journal of Clinical Nutrition* 56:1049-1071.
- Baños, G., K. Carbajal, G. Cardoso, J. Zamora, M. Franco. 1997. Vascular reactivity and effects of serum in a rat model of hypertriglyceridemia and hypertension. *American Journal of Hypertension* 10:379-388.
- Berti, C., P. Riso, A. Brusamolino, M. Porrini. 2005. Effect on appetite control of minor cereal and pseudocereal products. *British Journal of Nutrition* 94:850-858.
- Bodroza-Solarov, M., B. Filiocev, Z. Kevresan, A. Mandic, O. Simurina. 2008. Quality of bread supplemented with popped *Amaranthus cruentus* grain. *Journal of Food Process Engineering* 31:602-618.
- Carmona, W. 2007. Las especies del género *Amaranthus* (Amaranthaceae) en Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*. 24(1):190-195.
- Colina Barriga, M.S. 2012. La magia de la panadería. Primera Edición. Zulia, Venezuela. 220 pp.
- Costea, M., S. Weaver, F. Tardif. 2004. The biology of Canadian weeds. 130. *Amaranthus retroflexus* L., *A. powellii* S. Watson and *A. hybridus* L. *Canadian Journal of Plant Science* 84:631-668.
- Czerwiński, J., E. Bartnikowska, H. Leontowicz, E. Lange, M. Leontowicz, E. Katrich, S. Trakhtenberg, S. Gorinstein. 2004. Oat (*Avena sativa* L.) and amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) meals positively affect plasma lipid profile in rats fed cholesterol-containing diets. *Journal of Nutritional Biochemistry* 15:622-629.
- European Union. 2003. Protection of animals used for experimental purposes. Directive 86/609/EEC of 24th November 1986, amended 16th September.
- Fox, C.S., J.M. Massaro, U. Hoffmann. 2007. Abdominal visceral and subcutaneous adipose tissue compartments: association with metabolic

- risk factors in the Framingham Heart Study. *Circulation* 116:39-48.
- Friedewald, W.T., R.I. Levy, D.S. Fredrickson. 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry* 18:499-502.
- Girard, A., S. Madani, F. Boukourt, M. Cherkaoui-Malki, J. Belleville, J. Prost. 2006. Fructose-enriched diet modifies antioxidant status and lipid metabolism in spontaneously hypertensive rats. *Nutrition* 22:758-766.
- Goldstein, J.L., H.G. Schrott, W.R. Hazzard, E.L. Bierman, A.G. Motulsky. 1973. Hyperlipidaemia in coronary heart disease 11. Genetic analysis of lipid levels in 176 families and delineation of a new inherited disorders, combined hyperlipidaemia. *Journal of Clinical Investigation* 52:1544-1568.
- Gupta, S., S. Sharma, S. Kumar, K. Madhava. 2009. Antihyperglycemic and hypolipidemic activity of aqueous extract of *Cassia auriculata* L. leaves in experimental diabetes. *Journal of Ethnopharmacology* 123:499-509.
- Han, K.H., S.J. Kim, K.I. Shimada, N. Hashimoto, H. Yamauchi, M. Fukushima. 2013. Purple potato flake reduces serum lipid profile in rats fed a cholesterol rich diet. *Journal of Function Foods* 5:974-980.
- Harrison, D., K.G. Kathy, B. Hornig, H. Drexler. 2003. Role of oxidative stress in atherosclerosis. *American Journal of Cardiology* 91:7A-11A.
- Hostmark, A.T., J.E. Berg, A. Osland, S. Simonsen, K. Vantne. 1991. Lipoprotein-related coronary risk factor in patients with angiographically defined coronary artery disease and control: improved group separation by indexes reflecting the balance between low and highdensity lipoprotein. *Coronary Artery Disease* 2:679-684.
- Hye-Kyung, K., K. Mi-Jeong, C. Hong-Yon, K. Eun-Ki, S. Dong-Hoon S. 2006. Antioxidative and anti-diabetic effects of amaranth (*Amaranthus esculantus*) in streptozotocin-induced diabetic rats. *Cell Biochemistry Function* 24:195-199.
- Itokawa, M., A. Hirao, H. Nagahama, M. Otsuka, T. Ohtsu, N. Furutani, K. Hirao, T. Hatta, S. Shibata. 2013. Time-restricted feeding of rapidly digested starches causes stronger entrainment of the liver clock in PER2::LUCIFERASE knock-in mice. *Nutrition Research* 33:109-119.
- Jacobsen, S.E., K. Iteno, A. Mujica. 2002. Amaranto como un cultivo nuevo en el norte de Europa. *Agronomía Tropical* 52:109-119.

- Jeong, S.C., Y.T. Jeong, B.K. Yang, R. Islam, S.R. Koyyalamudi, G. Pang, K.Y. Cho, C.H. Song CH. 2010. White button mushroom (*Agaricus bisporus*) lowers blood glucose and cholesterol levels in diabetic and hypercholesterolemic rats. *Nutrition Research* 30:49-56.
- Kaur, J., P. Singh, J.R. Sowers. 2002. Diabetes and cardiovascular diseases. *American Journal Therapeutics* 9:510-515.
- Kim, D.H., K.S. Sho. 2007. Experimental study of *Pinus densiflora* et zuccarini on hyperlipidemia and lipid in rats. *K P I.* 10:109-119.
- Kromhout, D., A. Menotti, H. Kesteloot, S. Sans. 2002. Prevention of coronary heart disease by diet and lifestyle: evidence from prospective crosscultural, cohort, and intervention studies. *Circulation* 105:893-898.
- Lee, C.M., R.R. Huxley, R.P. Wildman, M. Woodward M. 2008. Indices of abdominal obesity are better discriminators of cardiovascular risk factors than BMI: a meta-analysis. *Journal of Clinical Epidemiology* 61:646-653.
- Matia-Martin, P., E. Lecumberri-Pascual, A.L. Calle-Pascual. 2007. Nutrition and metabolic síndrome. *Revista Española de Salud Pública* 81:489-505.
- Matteucci, S., L. Pla, A. Colma. 1999. Recolección sistemática de germoplasmas de *Amaranthus* spp. en ecosistemas secos del estado Falcón. Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ).* 16:356-370.
- Mayne, P.D. 1996. *Clinical chemistry in diagnosis and treatment.* E. Arnold (Ed.). A division of Hodder Headline Plc., London. 224-241 pp.
- Molina, E., P. González-Redondo, K. Montero, R. Ferrer, R. Moreno-Rojas, A. Sánchez-Urdaneta. 2011. Efecto de la época de recolecta y órgano de la planta sobre el contenido de metales de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. *Interciencia* 36:386-391.
- Montero-Quintero, K., R. Moreno-Rojas, E. Molina, A.B. Sánchez-Urdaneta. 2011. Composición química del *Amaranthus dubius*: una alternativa para la alimentación humana y animal. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ).* 28(Supl. 1):619-627.
- Morales, C., A. Nieto, L. Quiroga, M. Quicazan. 2012. Validación del método y determinación de fibra dietética soluble e insoluble en harina de trigo y pan. *Vitae* 19(1):340-342.
- Mujica-Sánchez, A., M. Berti-Díaz. 1997. El cultivo del amaranto (*Amaranthus* spp.): producción, mejoramiento genético y utilización. *Cultivos Andinos* FAO. Oficial Regional de Producción Vegetal. FAO.

- Oliart, R.R., M.E. Torres-Marquez, A. Badillo, G.O. Angulo. 2001. Dietary fatty acids effects on sucrose-induced cardiovascular syndrome in rats. *Journal of Nutritional Biochemistry* 4:20-27.
- Olivares, E., E. Peña. 2007. Bioconcentración de elementos minerales en *Amaranthus dubius* (bledo, pira), creciendo silvestre en cultivos del estado Miranda, Venezuela, y utilizado en alimentación. *Interciencia* 34:604-611.
- Omami, E., P. Hammes, P. Robbertse. 2006. Differences in salinity tolerance for growth and water-use efficiency in some amaranth (*Amaranthus* spp.) genotypes. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural* 34:11-22.
- Paśko, P., H. Barton, M. Folta, J. Gwizdz. 2007. Evaluation of antioxidant activity of amaranth (*Amaranthus cruentus*) grain and by products (flour, popping, cereal). *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny* 58:35-40.
- Ray, T.K., K.M. Mansell, L.C. Knight, L.S. Malmud, O.E. Owen, G. Boden. 1983. Long-term effects of dietary fiber on glucose tolerance and gastric emptying in noninsulin-dependent diabetic patients. *American Journal of Clinical Nutrition* 37:376-381.
- Sanz-Penella, J.M., J.A. Tamayo-Ramos, Y. Sanz, M. Haros. 2009. Phytate reduction in bran-enriched bread by phytase-producing bifidobacteria. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 57:239-244.
- Sanz-Penella, J.M., M. Wronkoswska, M. Soral-Smietana, M. Haros. 2013. Effect of whole flour on bread properties and nutritive value. *LWT-Food Science and Technology* 50:679- 685.
- SAS (2002-2003) Statistical Analysis System. Version 9.1.3. Institute Inc, Carym NC, EEUU.
- Tourlouki, E., A.L. Matalas, D.B. Panagiotakos. 2009. Dietary habits and cardiovascular disease risk in middle-aged and elderly populations: a review of evidence. *Clinical Interventions in Aging* 4:319-330.
- Van Bennekum, A.M., D.V. Nguyen, G. Schulthess, H. Hauser, M.C. Phillips. 2005. Mechanisms of cholesterol-lowering effects of dietary insoluble fibres: relationships with intestinal and hepatic cholesterol parameters. *British Journal of Nutrition* 94:331-337.
- Wolfram, S., Y. Wang, F. Thielecke. 2006. Anti-obesity effects of green tea: from bedside to bench. *Molecular Nutrition Food Research* 50:176-187.
- Zapotoczny, P., M. Markowski, K. Majewska, A. Ratajski, K. Henryk. 2006. Effect

of temperature on the physical, functional, and mechanical characteristics of hot-air-puffed amaranth seeds. *Journal of Food Engineering* 76:469-476.

Zunft, H.J., W. Lüder, A. Harde, B. Haber, H.J. Graubaum C. Koebnick. 2003. Carob pulp preparation rich in insoluble fibre lowers total and LDL cholesterol in hypercholesterolemic patients. *European Journal of Nutrition* 42:235-242.

CONCLUSIONES

- Primero. El consumo de panes integrales elaborados con harina de trigo y harina de *Amaranthus dubius* permitió mejorar los síntomas característicos del síndrome metabólico en ratas, como la obesidad, hiperlipidemia, hiperglicemia, el cual está asociado directamente con un mayor riesgo de sufrir enfermedades crónicas no transmisibles como la diabetes, arteroesclerosis, enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares, entre otras, lo cual sugiere que los panes con amaranto podrían ser usados como coadyuvantes en el tratamiento del síndrome metabólico.
- Segundo. *Amaranthus dubius* presentó alta concentración de proteínas y minerales, especialmente Ca, Mg y Fe, en tanto que bajas concentraciones de sustancias tóxicas y antinutricionales, y los niveles de metales pesados cadmio y plomo se encontraron por debajo de los límites de detección instrumentales.
- Tercero. La composición proximal y el contenido de fibra de *A. dubius* se vio afectada por la parte de la planta y la época de recolecta. Se encontraron altos niveles de proteínas en la hoja y la panícula, lo cual podría ser aún más favorable por la alta digestibilidad de la materia orgánica. Así mismo, el alto contenido de fibra de la especie sugiere que podría ser utilizado en la preparación de alimentos funcionales, o en la fabricación de alimentos para el ganado.
- Cuarto. Los panes elaborados con harina de amaranto presentaron una mejor composición proximal, especialmente proteínas, lípidos, fibra y contenido mineral, lo que es recomendable para ser utilizado como un ingrediente funcional para mejorar las características nutricionales del pan de molde. El pan con 10% de amaranto presentó una alta digestibilidad, comparado con la caseína, y su consumo permitió el mantenimiento del peso corporal de las ratas. Por tanto, el uso de harina de amaranto constituye una alternativa viable para mejorar el valor nutricional de los panes y por tanto ser utilizado en regímenes dietéticos, aumentado por la presencia del consumo de fibra.
- Quinto. El consumo de panes integrales con amaranto produjo una respuesta glicémica postprandial más estable, al comparar con panes integrales con afrecho; igualmente se observó una relación adecuada HDL-C/LDL-C. Por tanto, el amaranto podría ser utilizado como un ingrediente funcional en el pan, aumentando el aporte de fibra dietética y se podría

asociar con el mantenimiento del peso, la regulación metabólica de la glucosa en los regímenes dietéticos normocalóricos o hipocalóricos y a una mejor salud cardiovascular.

Sexto. Durante el consumo de panes integrales con harina de trigo y amaranto se observó que las ratas con hiperlipidemia e hiperglicemia mejoraron sus parámetros bioquímicos en sangre, especialmente el perfil lipídico; así mismo, permitió regular los valores de glucosa y parámetros zométricos. Por tanto, el consumo de pan con amaranto se podría asociar a la disminución de algunos factores de riesgos relacionados con enfermedades crónicas como la arteroesclerosis, obesidad y diabetes.

LITERATURA CITADA

- Acevedo, I., O. García, I. Acevedo, C. Perdomo. 2007. Valor nutritivo de bledo (*Amaranthus* spp.) identificado en el municipio Morán, estado Lara. *Revista Agrrollanía* 4:77-93.
- Adams, M.R., D.L. Golden, H. Chen, T.C. Register, E.T. Gugger. 2006. A diet rich in green and yellow vegetables inhibits atherosclerosis in mice. *Journal Nutritional* 36:1886-1889.
- Alberti, K.G.M.M., P. Zimmet, J. Shaw. 2006. Metabolic syndrome -a new world-wide definition. A consensus statement from the International Diabetes Federation. *Diabetes Medical* 23:469-80.
- Aleixandre, A., M. Miguel. 2008. Dietary fiber in the prevention and treatment of metabolic syndrome. *Critical Review Food Science and Nutrition* 48:905-912.
- Alemany, M. 2013. Relationship between energy dense diets and white adipose tissue inflammation in metabolic síndrome. *Nutrition Research* 33:1-11.
- Aletor, V.A., O.A. Adeogun. 1995. Nutrients and anti-nutrient components of some tropical leafy vegetables. *Food Chemistry* 53:375-379.
- Aletor, V.A., A. Oshodi, K. Ipinmoroti. 2002. Chemical composition of common leafy vegetables and functional properties of their leaf protein concentrates. *Food Chemistry* 78:63-68.
- Álvarez, N., M. Genta. 1993. *Amaranthus*. Desarrollo de productos alimenticios de alto valor nutricional. *La alimentación Latinoamericana* 197:36-39.
- Alvarez-Jubete, L., H. Wijngaard, E. Arendt, E. Gallagher. 2010. Polyphenol composition and in vitro antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. *Food Chemistry* 119:770-778.
- Araya, H., M. Lutz. 2003. Alimentos saludables y funcionales. *Revista Chilena de Nutrición* 30:8-14.
- Arellano, M.A., G. Albarracín, S. Arce, S. Mucciarelli. 2004. Estudio comparativo de hojas de *Beta vulgaris* con *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. *Phyton* 73:193-197.
- Barba de la Rosa, A.P., I.S. Fomsgaard, B. Laursen, A.G. Mortensen, L. Olvera-Martínez, C. Silva-Sánchez, C. Mendoza-Herrera, J. González-Castañeda,

- A. De León-Rodríguez. 2009. Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) as an alternative crop for sustainable food production: Phenolic acids and flavonoids with potential impact on its nutraceutical quality. *Journal of Cereal Science* 49:117-121.
- Bazzano, L.A., T.Y. Li, K.J. Joshipura, F.B. Hu. 2008. Intake of fruit, vegetables, and fruit juices and risk of diabetes in women. *Diabetes Care* 31:1311-1317.
- Brenner, D.M., D.D. Baltensperger, P.A. Kulakow, J.W. Lehmann, R.L. Myers, M.M. Slabbert, B.B. Sleugh. 2000. Genetic resources and breeding of *Amaranthus*. *Plant Breeding Reviews* 19:227-285.
- Budin, J.T., W.M. Breene, D.H. Putnam. 1996. Some compositional properties of seeds and oils of eight *Amaranthus* species. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 73:475-481.
- Carmona, W. 2007. Las especies del género *Amaranthus* (Amaranthaceae) en Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*. 24:190-195.
- Chaturvedi, A., G. Sarojini, N. Devi. 1993. Hypocholesterolemic effect of amaranth seeds (*Amaranthus esculentus*). *Plants Food Human Nutrition* 44:63-70.
- Cornier, M.A., D. Dabelea, T.L. Hernández, R.C. Lindstrom, A.J. Steig, N.R. Stob. 2008. The metabolic syndrome. *Endocrinology Reviews* 29(7):777-822.
- Czerwiński, J., E. Bartnikowska, H. Leontowicz, E. Lange, M. Leontowicz, E. Katrich, S. Trakhtenberg, S. Gorinstein. 2004. Oat (*Avena sativa* L.) and amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) meals positively affect plasma lipid profile in rats fed cholesterol-containing diets. *Journal of Nutritional Biochemistry* 15:622-629.
- Davy, B.M., C.L. Melby. 2003. The effect of fiber-rich carbohydrates on features of síndrome X. *Journal of American Diet Association* 103:86-96.
- De Troiani, R.M., L. Ferramola. 2005. Elaboración y calidad de cubos compactados realizados con biomasa de amaranto. *Revista de Desarrollo Rural y Cooperativismo Agrario* 9:103-112.
- Delascio-Chity, F. 1985. Algunas plantas usadas en la medicina empírica venezolana. Dirección de Investigaciones Biológicas, División de Vegetación, Jardín Botánico, INPARQUES, Litopar C.A. Caracas, Venezuela. 180 pp.
- Delzenne, N.M., P.D. Cani. 2005. Place for dietary fibre in the management of

- the metabolic syndrome. *Current Opinion Clinical Nutritional Metabolic Care* 8:636-640.
- Desroches, S., B. Lamarche. 2007. The evolving definitions and increasing prevalence of the metabolic syndrome. *Applied Physiology Nutrition and Metabolism* 32(1):23-32.
- Eckel, R.H., S.M. Grundy, P.Z. Zimmet. 2005. The metabolic syndrome. *Lancet* 365:1415-1428.
- Erdman, J.W., D. Balentine, L. Arab, G. Beecher, J.T. Dwyer, J. Folts, J. Hamly, P. Hollman, C.L. Keen, G. Mazza, M. Messina, A. Scalbert, J. Vita, G. Williamson, J. Burrowes . 2007. Flavonoids and heart health. *Proceedings of the ILSI North America Flavonoids Workshop, May 31-June 1, 2005. Washington, DC. Journal of Nutrition* 137:718S-737S.
- Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001. 285:2486-2497.
- FAO. 2013a. LEY MARCO DERECHO A LA ALIMENTACIÓN, SEGURIDAD Y SOBERANÍA ALIMENTARIA. Aprobada en la XVIII Asamblea Ordinaria del Parlamento Latinoamericano 30 de noviembre al 1 de diciembre de 2012. Panamá. 44 p.
- FAO. 2013b. El estado mundial de la agricultura y la alimentación. *Sistemas Alimentarios para una mejor nutrición*. Roma, Italia.
- FAO. 2014. Panorama de la seguridad alimentaria y nutricional en América Latina y del Caribe 2013. 73pp.
- FAO-UN. 2012. El estado mundial de la agricultura y la alimentación. Organización de la Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura. Roma, Italia. 198 p.
- Ford, E.S., W.H. Giles, A.H. Mokda. 2004. Increasing prevalence of the metabolic syndrome among U.S. Adults. *Diabetes Care* 27:2444-2449.
- Galisteo, M., J. Duarte, A. Zarzuelo. 2008. Effects of dietary on disturbances clustered in the metabolic syndrome. *Journal Nutritional Biochemistry* 19:71-84.
- Gorinstein, S., E. Pawelzik, E. Delgado-Licon, L. Haruenkit, M. Weisz, S. Trakhtenberg. 2002. Characterization of pseudocereal and cereal proteins by protein and amino acid analyses. *Journal Science Food*

Agricultural 82:886-891.

Grundy, S.M., J.I. Cleeman, S.R. Daniels, K.A. Donato, R.H. Eckel, B.A. Franklin. 2005. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* 112:2735-2752.

Grundy, S.M., B. Hansen, Jr. S.C. Smith, J.I. Cleeman, R.A. Kahn. 2004. American Heart Association Clinical management of metabolic syndrome report of the American Heart Association National Heart, Lung, and Blood Institute American Diabetes Association conference on scientific issues related to management. *Circulation* 109:551-556.

Guerra-Matías, A., J Áreas. 2005. Glycemic and insulinemic responses in women consuming extruded amaranth (*Amaranthus cruentus* L). *Nutrition Research* 25:815-822.

Gupta, V.K., I. Kermdji, D.N. Ngugi. 1984. El amaranto, un nuevo cultivo para Kenya. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 2:3-4.

Hernández, G.R., G. Herrerías. 1998. Amaranto: Historia y promesa. *Tehuacán: horizonte del Tehuacán* 1:529-545.

Hung, H.C., K.J. Joshipura, R. Jiang, F.B. Hu, D. Hunter, S.A. Smith Warnes, G.A. Colditz, B. Rosner, D. Spiegelman, W.C. Willett. 2004. Fruit and vegetable intake and risk of major chronic diseases. *Journal of the National Cancer Institute* 96:1577-1584.

Hussain, Z., S. Satyawana, C. Venkateswara. 2008. Hepatoprotective activity of *Amaranthus spinosus* in experimental animals. *Food and Chemical Toxicology* 46:3417-3421.

Isomaa, B., P. Almgren, T. Tuomi, B. Forsen, K. Lahti, M. Nissen. 2001. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care* 24:683-689.

Jenkins, D.J.A., C.W.C. Kendall, L.S.A. Augustin, S. Franceschi, M. Hamidi, A. Marchie. 2002. Glycemic index: overview of implications in health and disease. *American Journal of Clinical Nutrition* 76(Supp 1):266-273.

Kala, A., J. Prakash. 2004. Nutrient composition and sensory profile of differently cooked green leafy vegetables. *International Journal of Food Properties* 7:659-669.

Kaufman, C.S. 1992. Realizing the potential of grain amaranth. *Food Reviews International* 8:6-15.

- Kaur, J., P. Singh, J.R. Sowers. 2002. Diabetes and cardiovascular diseases. *American Journal Therapeutic* 9:510-515.
- Kuller, L.H. 2006. Nutrition, lipids and cardiovascular disease. *Nutrition Reviews* 64:S15-S26.
- Layman, D.K., P. Clifton, M.C. Gannon, M.C. Gannon, R.M. Krauss, F.Q. Nuttall. 2008. Protein in optimal: heart disease and type 2 diabetes. *American Journal Clinical Nutrition* 87:1571-1575.
- Lehmann, J.W. 1996. Case history of grain amaranth as an alternative crop. *Cereal Foods World* 41:399-411.
- Lorincz, A.M., S. Sukumar. 2006. Molecular links between obesity and breast cancer. *Endocrinology-Relate Cancer* 13:279-292.
- Lutz, M., A. Edel-Leon. 2009. Alimentos saludables y funcionales: la tendencia actual. *In: Aspectos nutricionales y saludables de los productos de panificación*. M. Lutz y A.Edel-León (Eds.). Editorial Universidad de Valparaíso. Chile. 199 p.
- Lutz, M., A. Zuleta. 2009. Relación entre la alimentación y la salud del consumidor. *In: Aspectos nutricionales y saludables de los productos de panificación*. M. Lutz y A.Edel-León (Eds.). Editorial Universidad de Valparaíso. Chile.199 p.
- Malik, S., N.D. Wong, S.S. Franklin, T.V. Kamath, G.J. L'Italien, J.R. Pio. 2004. Impact of the metabolic syndrome on mortality from coronary heart disease, cardiovascular disease, and all causes in United States adults. *Circulation* 110:1245-1250.
- Marcone, M.F., F. Jahaniaval, H. Aliee, Y. Kakuda. 2003. Chemical characterization of *Achyranthes bidentata* seed. *Food Chemistry* 81:7-12.
- Marlett, J.A., M.I. McBurney, J.L. Slavin. 2002. American Dietetic Association. Position of the American Dietetic Association: health implications of dietary fiber. *Journal of the American Dietetic Association* 102:993-1000.
- Martinez-Álvarez, J.R., C. De Arpe-Muñoz, R. Urrialde de Andres, J. Fontecha, M.A. Murcia-Tomás, C. Cómez-Candela, A. Villarino-Marín, J.A. Pinto-Fontanillo. 2002. Nuevos alimentos para nuevas necesidades. *In: Nutrición y Salud*. Instituto de Salud Pública. España-Madrid. 188p.
- Masoni, A., L. Ercali. 1994. Influencia de la época de cosecha sobre el rendimiento de concentrado de proteína foliar de amaranto. *El amaranto y su potencial* 1:17-23.

- Matia Martin, P., E. Lecumberri Pascual, A.L. Calle Pascual. 2007. Nutrition and metabolic síndrome. Rev. Esp. Salud Públ. 81:489-505.
- Matteucci, S.D., L. Pla, A. Colma. 1999. Recolección sistemática de germoplasmas de *Amaranthus* spp. en ecosistemas secos del estado Falcón, Venezuela. Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ). 16:356-370.
- McKeown, N.M., J.B. Meigs, S. Liu, E. Saltzman, P.W. Wilson, P.F. Jacques. 2004. Carbohydrate nutrition, insulin resistance, and the prevalence of the metabolic syndrome in the Framingham Offspring Cohort. Diabetes Care 27:538-546.
- Meigs, J.B., P.W. Wilson, D.M. Nathan, Sr R.B. D'Agostino, K. Williams, S.M. Haffner. 2003. Prevalence and characteristics of the metabolic syndrome in the San Antonio Heart and Framingham Offspring Studies. Diabetes 52:2160-2167.
- Mirmiran, P., N. Noori, M.B. Zavareh, F. Azizi. 2009. Fruit and vegetable consumption and risk factors for cardiovascular disease. Metabolism 58:460-468.
- Molina, E., P. González-Redondo, K. Montero, R. Ferrer, R. Moreno-Rojas, A. Sánchez-Urdaneta. 2011. Efecto de la época de recolecta y órgano de la planta sobre el contenido de metales de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. Interciencia. 36(5):386-391.
- Montero-Quintero, K., R. Moreno-Rojas, E. Molina y A.B. Sánchez-Urdaneta. Composición química del *Amaranthus dubius*: una alternativa para la alimentación humana y animal. Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ). 28 (Supl. 1):619-627.
- Morros, M., B. Trujillo, M. Ponce. 1990. Descripción del genero *Amaranthus* L., con tres nuevos registros para Venezuela y consiguiente clave para las especies. Ernstia 58-59-60:45-51.
- Mujica-Sánchez, A., M. Berti-Díaz. 1997. El cultivo del amaranto (*Amaranthus* spp.): producción, mejoramiento genético y utilización. Cultivos Andinos FAO. Oficial Regional de Producción Vegetal. FAO.
- Nama-Medoua, G., W.H. Oldewage-Theron. 2011. Effect of drying and cooking on nutritional value and antioxidant capacity of morogo (*Amaranthus hybridus*) a traditional leafy vegetable grown in South Africa. Journal of Food Science and Technology 1:1-7.

- Odhav, B., S. Beekrum, U. Akula, H. Baijnath. 2007. Preliminary assessment of nutritional value of traditional leafy vegetables in KwaZulu-Natal, South Africa. *Journal of Food Composition and Analysis* 20:430-435.
- Oleszek, W., M. Junkuszew. A. Stochmal. 1999. Determination and toxicity of saponins from *Amaranthus cruentus* seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47:3685-3687.
- Olivares, E., E. Peña. 2009. Bioconcentración de elementos minerales en *Amaranthus dubius* (bledo, pira), creciendo silvestre en cultivos del estado Miranda, Venezuela, y utilizado en alimentación. *Interciencia* 24:604-611.
- Omami, E.N., P.S. Hammes, P.J. Robbertse. 2006. Differences in salinity tolerance for growth and water-use efficiency in some amaranth (*Amaranthus* spp.) genotypes. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 34:11-22.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). 2004. Global Strategy on Diet, Physical Activity and Health. Doc WHA57.17.
- Ortega, L. 1992. Usos y valor nutritivo de los cultivos Andinos. Instituto Nacional de Investigación Agraria, Programa Nacional de Cultivos Andinos. INIA, PICA. Puno, Perú. 15-96 pp.
- Pandhare, R., S. Balakrishnan, P. Mohite, S. Khanage. 2012. Antidiabetic and antihyperlipidaemic potential of *Amaranthus viridis* (L.) Merr. instreptozotocin induced diabetic rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* *Falta el volume de la revista* 180-185.
- Paredes-Lopez, O. 1994. Amaranth biology, Chemistry and Technology. CRC Press. Salem, United States. pp 1-2.
- Piloto, J., C. Mederos, L. Acion. 2004. Uso del Amaranto (*Amaranthus cruentus*) en la alimentación de los cerdos. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición* 9:1-3.
- Plate, A.Y.A., J.A.G. Arêas. 2002. Cholesterol-lowering effect of extruded amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) in hypercholesterolemic rabbits. *Food Chemistry* 76:1-6.
- Posadas, C. 2005. Obesidad y el síndrome metabólico en niños y adolescentes. *Revista Endocrinología y Nutrición*. 13(3) Supl.1:45-46.
- Rana, J.C., K. Pradheep, S.K. Yadav, V.D. Verma, P.C. Sharma. 2007. Durga: A new variety of grain amaranth for cultivation in hill regions.

IndianFarming 57:27-28.

Reaven, G.M. 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 37:1595-1607.

Repo-Carrasco-Valencia, R., J. Peña, H. Kallio, S. Salminen. 2009. Dietary fiber and other functional components in two varieties of crude and extrude kiwicha (*Amaranthus caudatus*). *Journal of Cereal Science* 49:219-224.

Rodríguez, L., M. Sánchez, L. Martínez. 2002. Síndrome metabólico. Enfoque actual. *Revista Cubana de Endocrinología* 13(3):238-252.

Sahyoun, N.R., P.F. Jacques, X.L. Zhang, W. Juan, N.M. McKeown. Whole-grain intake is inversely associated with the metabolic syndrome and mortality in older adults. *American Journal Clinical Nutrition* 83:124-131.

Sanz-Penella, J.M., J.A. Tamayo-Ramos, Y. Sanz, M. Haros. 2009. Phytate reduction in bran-enriched bread by phytase-producing bifidobacteria. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 57:239-244.

Saunders, R., R. Becker. 1984. *Amaranthus*: A potential food and feed resource. En: *Advances Cereal Science Technology*. Y. Pomeranz (Ed.). Vol. VI. Am. Assn. Cereal Chemists, St. Paul, MN. 357 p.

Singhal, R., P. Kulkarni. 1988. Review: amaranths-as underutilized resource. *Food Science and Technology* 23:125-139.

Sloan, E. 1999. The new market: foods for the not-so-healthy. *Food Technology* 53:54-60.

Sorrentino, M.J. 2005. Implications of the metabolic syndrome: the new epidemic. *American Journal of Cardiology* 96(4A):3E-7E.

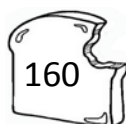
Stumvoll, M. 2005. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *Seminar* 365:1333-1346.

Tapia, M. 1997. Cultivos andinos sub explotados y su aporte a la alimentación. 2da. Edición. FAO, Oficina Regional para América Latina y el caribe. Santiago, Chile. 273 p.

Tejeda, S.O., E.A. Escalante, G.M. Soto, H. Rodríguez, G.M. Vibrans, H.M. Ramírez. 2004. Inhibidores de la germinación en el residuo seco de tallo de amaranto. *Revista de la Sociedad Química de México* 48:118-123.

Teutonico, R.A., D. Knorr. 1985. Amaranth: composition, properties and applications of a rediscovered food crop. *Food Technology* 39:49-61.

Tourlouki, E., A.L. Matalas, D.B. Panagiotakos. 2009. Dietary habits and



- cardiovascular disease risk in middle-aged and elderly populations: a review of evidence. *Clinical Interventions Aging* 4:319-330.
- Venn, B.J., J.I. Mann. Cereal grains, legumes and diabetes.2004. *European Journal Clinical Nutrition* 58:1443-1461.
- Weiss, R., J. Dziura, T. Burgert, W. Tamborlane, S. Taksali, C. Yeckel. 2004. Obesity and the metabolic syndrome in children and adolescents. *New England Journal Medical* 350:2362-2374.
- Yañez, E., I. Zacarías, D. Granger, M. Vásquez, A. Estévez. 1994. Caracterización química y nutricional del amaranto (*Amaranthus cruentus*). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 44(1):57-62.
- Zimmet, P., K.G. Alberti, J. Shaw. 2001. Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature* 414:782-787.

ANEXO

Rev. Fac. Agron. (LUZ). 2011, 28 Supl. 1: 619-627

Composición química del *Amaranthus dubius*: una alternativa para la alimentación humana y animal

Chemical composition of *Amaranthus dubius*: an
alternative for human and animal feeding

K. Montero-Quintero¹, R. Moreno-Rojas², E. Molina¹ y A. B. Sánchez-Urdaneta³

¹Departamento de Química, Facultad de Humanidades y Educación, Universidad del Zulia, Venezuela. ²Departamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos. 14071. Córdoba, España. ³Departamento de Botánica, Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia, Venezuela.

Resumen

Amaranthus dubius es una especie altamente diseminada en Venezuela, considerándose un arvense de cultivos de subsistencia, como el maíz, sorgo y leguminosas. En general, el género *Amaranthus* se caracteriza por su alto contenido de nutrientes en hojas y semillas. En este trabajo se evaluó su composición proximal, el contenido mineral, las sustancias tóxicas y antinutricionales de muestras recolectadas en una siembra experimental en el estado Miranda, Venezuela. En los análisis se utilizaron métodos analíticos clásicos. Se demostró un alto contenido de nutrientes en hojas, tallos y panículas, especialmente proteínas y minerales y bajas concentraciones de sustancias tóxicas y antinutricionales, lo cual sugiere que el *A. dubius* podría ser empleado en la alimentación humana y animal.

Palabras clave: *Amaranthus*, composición química, sustancias tóxicas, alimentación.

Abstract

Amaranthus dubius is highly disseminated specie in Venezuela, is considered a weed of subsistence crops, as corn, sorghum and legumes. In general, the genus *Amaranthus*, is characterized by its high content of nutrients in leaves and seeds. Proximate composition, mineral content, toxic and

Recibido el 30-6-2010 • Aceptado el 5-9-2011
Autor de correspondencia e-mail: keylamq@gmail.com

Montero Quintero *et al.*

antinutritional substances were evaluated, in samples recollected in an experimental planting in Miranda state, Venezuela. In the analysis was used the classical analytical methods. It showed a high content of nutrients in leaves, stems and panicles, especially minerals and proteins and low concentrations of toxic and antinutritional, which suggests that *A. dubius* might be used in the human and animal feeding.

Keywords: *Amaranthus*, chemical composition, toxic substances, feeding.

Introducción

El amaranto es una planta perteneciente a la familia Amaranaceae, género *Amaranthus*, la cual tiene más de 60 especies distribuidas en zonas tropicales y subtropicales. Es una planta fotosintética del tipo C_4 , con alta diversidad genética, alta productividad y se adapta a diferentes condiciones edafoclimáticas, especialmente a suelos secos y altas temperaturas (Olivares y Peña, 2009).

En Venezuela se encuentran distribuidas unas 12 especies de amaranto, conocidas como bledo o pira; siendo las principales *A. dubius*, *A. spinosus* y *A. hybridus* (Acevedo *et al.*, 2007; Olivares y Peña, 2009), éstas crecen en forma silvestre y comúnmente se consideran arvenses de varios cultivos de subsistencia, como el maíz, sorgo y algunas leguminosas (Matteucci *et al.*, 1999); sin embargo, se usan de manera marginal en sus regiones de origen; con un interés medicinal, como verdura para la alimentación humana o como forraje complementario en la alimentación de animales (Matteucci *et al.*, 1999).

En los últimos años el amaranto ha sido ampliamente estudiado, una de las razones del renovado interés es su excelente perfil de nutrientes; comparable con los cereales. Recientemente se ha demostrado

Introduction

Amaranth is a plant that belongs to the family Amaranaceae, *Amaranthus* gender, which has more than 60 species distributed in tropical and tropical areas. It is a photosynthetic plant of the C_4 type, with a high genetic diversity, high productivity and adapts to different soil-weather conditions, especially in dry soils and high temperatures (Olivares and Peña, 2009).

In Venezuela, are distributed 12 species of amaranths, known as "bledo" or "pira", being the most important *A. dubius*, *A. spinosus* and *A. hybridus* (Acevedo *et al.*, 2007; Olivares and Peña, 2009), these grow wildly and are commonly considered arvense of different subsistent crops, such as, corn, sorghum and some legumes (Matteuci *et al.*, 1999); however, have a marginal use or used as complimentary forage in the alimentation of animals (Matteucci *et al.*, 1999).

In the last years amaranth has been widely studied, one of the reasons for its interest is its excellent profile of nutrients, compare to other cereals. Recently, it has been proved that the amaranth seeds have a high nutritional value, associated to the quantity and quality of its proteins, also, it contains fats, fibers, minerals

Rev. Fac. Agron. (LUZ). 2011, 28 Supl. 1: 619-627

que las semillas de amaranto tienen un alto valor nutricional, asociado con la cantidad y calidad de sus proteínas; además de, contener grasas, fibras, minerales y vitaminas; así como compuestos bioactivos, tales como, saponinas, fitoesteroles, escualeno y polifenoles (Odhav *et al.*, 2007; Acevedo *et al.*, 2007; Barba de la Rosa *et al.*, 2009).

Las cualidades nutricionales y características agronómicas de las distintas especies de amaranto las convierten en plantas de potencial interés para ser empleadas en la industria agroalimentaria. En la alimentación humana se consumen sus semillas como cereal y sus hojas y tallos como verdura (Olivares y Peña, 2009); se emplea también como planta forrajera en la alimentación de cerdos, ovinos, caprinos, vacunos, entre otros (Matteucci *et al.*, 1999).

En este trabajo se evaluó la composición proximal, contenido mineral y la presencia de sustancias tóxicas y antinutricionales de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell, como una especie de potencial interés para uso agroindustrial.

Materiales y métodos

Recolección y procesamiento de las muestras

Las muestras de *A. dubius* se recolectaron en una siembra experimental ubicada en la finca El Néctar, sector Merecure, municipio Acevedo, estado Miranda, Venezuela. Se separaron hojas, tallos y panículas, las cuales fueron secadas en una estufa (50 a 60°C.40 h⁻¹) con rotación y aireación constante. Luego se molieron

and vitamins such as bioactive compounds like saponins, phytosterols, squalene and polyphenol (Odhav *et al.*, 2007; Acevedo *et al.*, 2007; Barba de la Rosa *et al.*, 2009).

The nutritional qualities and agronomic characteristics of the different species of amaranth make of it in plants of interest potential to be employed in the food industry. In the human alimentation are consumed its seeds as cereal and their leaves and stems as legumes (Olivares and Peña, 2009); it is also employed as a foreign plant in the alimentation of pigs, sheep, cattle, among others (Matteucci *et al.*, 1999).

In this research was evaluated the proximal composition, mineral content and presence of toxic substances and antinutritional of *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell, as species of potential interest for its agro industrial use.

Materials and methods

Collection and processing of samples

Samples of *A. dubius* were collected at an experimental crop located in "El Néctar" farm, Merecure area, Acevedo parish, Miranda state, Venezuela. Leaves, stems and panicles were divided, which were let dried in a stove (50 to 60°C.40 h⁻¹) with rotation and constant ventilation. Then, were ground and sift at 0.5 mm (Resh Muhle Dietz, LB1-27) and stored in plastic containers with hermetic caps and covered with fabric for their posterior analysis.

Montero Quintero et al.

y tamizaron a 0,5 mm (Resh Muhle Dietz, LB1-27) y almacenaron en envases de plástico con tapa hermética y cubiertas con un saco de tela para su posterior análisis.

Métodos analíticos

La composición proximal se determinó por los métodos de la Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1997), para la concentración de oxalato se utilizó un kit de análisis (Oxalate urinalysis diagnostic kit: Procedure No. 591, Sigma, St. Louis, MO) (Ilarslan *et al.*, 1997). El contenido de fitatos se determinó por el método de la solución cromogénica y para fenoles se empleó el método de Folin Ciocalteu (Onyango *et al.*, 2005). El contenido de nitratos se determinó por la técnica colorimétrica de nitración del ácido salicílico (Valdes *et al.*, 2004). El contenido de mineral se realizó por espectrofotometría de absorción y emisión atómica.

Análisis estadísticos

Se empleó un diseño experimental completamente al azar con ocho repeticiones y tres submuestras. Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza y subsecuente comparación múltiple de medias con la prueba de Tukey; para ello se utilizó el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System, 2002-2003 versión 9.1).

Resultados y discusión

Se observaron diferencias estadísticas en cuanto a la composición proximal, contenido mineral y de sustancias tóxicas y antinutricionales, entre las diferentes partes de las plan-

Analytical methods

The proximal composition was determined by methods at the Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1997), for the concentrate of oxalate was used an analysis kit.

(Oxalate urinalysis diagnostic kit: Procedure No. 591, Sigma, St. Louis, MO) (Ilarslan *et al.*, 1997). The content of phytates was determined by the chromogenic solution method, and for phenols were employed the Folin Ciocalteu method (Onyango *et al.*, 2005). The nitrates content was determined by the colorimetric technique of salicylic acid (Valdes *et al.*, 2004). The mineral content was done by spectrophotometer of absorption and atomic emission.

Statistical analysis

A completely randomized experimental design was used with 8 replications and three sub-samples. The information obtained was submitted to a variance analysis and a posterior mean multiple comparison test of Tukey; for this, was used the statistical software SAS (Statistical Analysis System, 2002-2003 version 9.1).

Results and discussion

Statistical differences regarding the proximal composition, content of minerals, toxic substances and antinutritionals were observed among the different parts of the analyzed plants ($P < 0.05$). The ashes content (table 1) varied from 13.52 to 20.18% between the parts of the plant, being the leaves and panicles the ones that presented the highest values. The

tas analizadas ($P < 0,05$). El contenido de cenizas (cuadro 1) varió de 13,52 a 20,18% entre las partes de la planta, siendo las hojas y las panículas las que presentaron los mayores valores. Los porcentajes encontrados fueron altos comparados con otros vegetales de consumo convencional (Hernández *et al.*, 1987). Este hallazgo pudiera determinar la importancia de la especie como fuente de minerales para cubrir los requerimientos en humanos y animales.

Las distintas partes de las plantas no mostraron diferencias estadísticas en el contenido de Mg, Al y Hg ($P > 0,05$), pero sí entre algunas partes de la planta con respecto a la composición en Na, K, Ca, Fe, Zn y Cu ($P < 0,05$; cuadro 1). En relación al contenido de minerales se observó que la concentración de Mg presentó una variación entre 673,84 y 455,04 mg.100 g⁻¹, el Ca entre 3088,20 y 1294,50 mg.100 g⁻¹ y el Fe entre 73,08 y 41,75 mg.100 g⁻¹. Las hojas presentaron los valores más altos de metales esenciales con respecto a los tallos y las panículas, en el caso de los metales pesados, en los tallos se observaron los valores más altos de Al y Hg con 215,86 mg.100 g⁻¹ y 0,38 mg.100 g⁻¹, respectivamente, no se evidenció la presencia de Cd y Pb (cuadro 1).

La alta concentración de Ca, Mg y Fe en comparación con los cereales, y los bajos niveles de oxalatos (29,24 a 17,62 mg oxalato.100g⁻¹; cuadro 1) encontrados, permiten proponer al *A. dubius* como una fuente importante de minerales, su consumo pudiera prevenir y mejorar enfermedades como la osteoporosis, osteomalacia y

percentages found were high compared to the ones of others vegetables of conventional consumption (Hernández *et al.*, 1987). This finding might determine the importance of the species as mineral source to cover the requirements in humans and animals.

The different parts of the plants did not show statistics differences in the content of Mg, Al and Hg ($P > 0,05$), but they do in some parts of the plant regarding the composition in Na, K, Ca, Fe, Zn and Cu ($P < 0,05$; table 1). In relation to the mineral content was observed that the concentration of Mg presented a variation from 673.84 to 455.04 mg.100 g⁻¹, Ca from 3088.20 to 1294.50 mg.100 g⁻¹ and Fe from 73.08 to 41.75 mg.100 g⁻¹. Leaves presented the highest values of essential metals in relation to stems and panicles, in the case of heavy metals, in stems were observed the highest values of Al and Hg with 215.86 mg.100 g⁻¹ and 0.38 mg.100 g⁻¹, respectively, it was not observed the presence of Cd neither of Pb (table 1).

The high concentration of Ca, Mg and Fe in comparison to cereals, and the low oxalates levels (29.24 to 17.62 mg oxalate.100g⁻¹; table 1) found, allow posing *A. dubius* as an important source of minerals, and its consumption might prevent and improve diseases such as osteoporosis, osteomalacia, anemia (Mahan y Escott-Stump, 2001).

The values of the proteins content show statistic differences among the parts of the plant analyzed ($P < 0,05$), being for the specie under study higher in leaves (26.34%), followed by panicles (20.53%) and

Montero Quintero *et al.***Cuadro 1. Composición proximal, contenido mineral y de sustancias tóxicas y antinutricionales en hojas, tallos y panículas de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.****Table 1. Proximal composition, mineral content and toxic and antinutritional substances in leaves, stems, and panicles of *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.**

Variables	Partes de la planta		
	Hojas	Tallos	Paniculas
Análisis proximal (%)			
Materia seca	89,90 ^b	91,76 ^a	91,15 ^a
Cenizas	20,18 ^a	17,35 ^b	13,52 ^b
Proteína cruda	26,34 ^a	6,41 ^c	20,53 ^b
Fibra cruda	9,24 ^c	33,28 ^a	23,02 ^b
Extracto etéreo	1,04 ^b	0,62 ^b	1,83 ^a
ELN	43,22 ^a	42,38 ^{ab}	41,12 ^b
NDT	62,68 ^b	64,28 ^b	67,75 ^a
Tóxicos y antinutricionales			
Fenoles totales (mg.100 g ⁻¹)	1,15 ^a	0,55 ^b	1,24 ^a
Fitatos (mg fitato.g ⁻¹)	2,29 ^b	1,14 ^c	6,99 ^a
Oxalato (mg oxalato.100g ⁻¹)	29,24 ^a	20,98 ^b	17,62 ^b
Nitratos (mg NO ₃ ⁻¹ .kg ⁻¹)	135,40 ^b	255,88 ^a	220,70 ^a
Minerales (mg.100g ⁻¹)			
Na	72,09 ^a	54,42 ^{ab}	38,58 ^b
K	2898,10 ^b	4184,50 ^a	2744,40 ^b
Mg	673,84 ^a	455,04 ^a	518,22 ^a
Ca	3088,20 ^a	1294,50 ^b	1559,50 ^b
Fe	73,08 ^a	41,75 ^b	60,71 ^{ab}
Zn	12,05 ^a	4,34 ^b	5,57 ^b
Cu	1,90 ^a	1,41 ^b	1,65 ^{ab}
Al	195,18 ^a	215,86 ^a	199,30 ^a
Hg	0,38 ^a	0,34 ^a	0,24 ^a

Los valores con letras diferentes en la misma fila presentaron diferencias estadísticas ($P < 0,05$).

Nd: no se detectó la presencia de Pb y Cd.

anemias ferropénicas (Mahan y Escott-Stump, 2001).

Los valores de contenidos de proteínas arrojaron diferencias estadísticas entre las partes de la planta analizadas ($P < 0,05$). Siendo para la

stems (6.41% table 1); considering high for a legume and in some cases it even duplicated the concentration reported in other species of amaranth, cereals or vegetables normally consumed as a protein source

especie en estudio mayor en las hojas (26,34%), seguido por las panículas (20,53%) y los tallos (6,41%; cuadro 1). Considerándose elevados para un vegetal, y en algunos casos hasta se duplicó la concentración reportada en otras especies de amaranto, de cereales o de vegetales consumidos habitualmente como fuente de proteínas (Hernández *et al.*, 1987; Acevedo *et al.*, 2007; Barba de la Rosa *et al.*, 2009).

Estos resultados pudieran determinar la importancia de la especie como fuente de proteínas para cubrir los requerimientos en humanos y animales, una vez que se establezca su calidad biológica.

Se presentaron diferencias estadísticas para los contenidos de fenoles totales, fitatos, oxalatos y nitratos entre algunas partes de la planta ($P < 0,05$). Se observó que la concentración de oxalatos varió entre 29,24 mg oxalato.100g⁻¹ y 17,62 mg oxalato.100g⁻¹ siendo mayor en la hoja; el contenido de nitratos fue mayor en el tallo (255,88 mg NO₃⁻¹.kg⁻¹) seguido por la panícula (220,70 mg NO₃⁻¹.kg⁻¹), en el caso de fenoles totales y fitatos se presentaron los valores más altos en la panícula con 1,24 mg.100 g⁻¹ y 6,99 mg fitato.g⁻¹, respectivamente.

Las bajas concentraciones de sustancias tóxicas y antinutricionales y la ausencia de metales pesados como Cd y Pb; así como, los bajos niveles de Hg y Al encontrados, permiten inferir que el consumo de *A. dubius* no representa un riesgo para el consumo. Además, el reducido contenido de fitatos se ha relacionado con efectos positivos como, el retardo de la

(Hernández *et al.*, 1987; Acevedo *et al.*, 2007; Barba de la Rosa *et al.*, 2009).

These results might determine the importance of this specie as a protein source to fulfill the requirements in humans and animals, once established its biological quality.

Statistics differences were presented for the content of total phenoles, phytates, oxalates and nitrates among some parts of the plant ($P < 0,05$). It was observed that the concentration of oxalates varied from 29.24 mg oxalate.100g⁻¹ and 17.62 mg oxalate.100g⁻¹, being higher in the leaf; the nitrate content was higher in stems (255.88 mg NO₃⁻¹.kg⁻¹) followed by panicles (220.70 mg NO₃⁻¹.kg⁻¹), in the case of the total phenols and phytates were presented the highest values in the panicle with 1.24 mg.100 g⁻¹ and 6.99 mg fitato.g⁻¹, respectively.

The low concentrations of toxic and antinutritional substances, and the absence of heavy metals such as Cd and Pb, as well as the low levels of Hg and Al found, allow inferring that the consumption of *A. dubius* does not represent a risk for its consumption. Also, the reduced content of phytates has been related to positive effects such as the retard in the digestion of the starch, reduction in the response of glucose, low levels of cholesterol, prevention to the formation of calculus in kidneys, and cancer preventing (Kumar *et al.*, 2009), while the phenols have been related to the antioxidant activity (Barba de la Rosa *et al.*, 2009).

Montero Quintero *et al.*

digestibilidad del almidón, disminución de la respuesta de glucosa, hipocolesterolemia, prevención de cálculos renales, anticancerígeno, (Kumar *et al.*, 2009); mientras que los fenoles han sido relacionados con actividad antioxidante (Barba de la Rosa *et al.*, 2009).

Conclusiones

El *Amaranthus dubius* presentó alta concentración de proteínas y minerales; especialmente Ca, Mg y Fe, bajas concentraciones de sustancias tóxicas y antinutricionales, y no se detectó la presencia de metales pesados como Cd y Pb. La composición química del *A. dubius* le confiere un gran interés nutricional, ya que puede ser empleado como una nueva fuente de nutrientes de bajo costo en materias primas de la industria agroalimentaria, comparable con fuentes convencionales como leguminosas y forrajeras.

Literatura citada

- A.O.A.C. 1997. Official method of analysis 20 th Ed. Kenneth Heirich (Eds.). Washington, D.C. 1110-1117 pp.
- Acevedo, I., O. García, I. Acevedo, & C. Perdomo. 2007. Valor nutritivo de bleado (*Amaranthus spp*) identificado en el municipio Morán, Estado Lara. *Revista Agrollanía*, 4, 77-93.
- Barba de la Rosa, A., I. Fomsgaard, B. Laursen, A. Mortensen, L. Olvera-Martínez, C. Silva-Sánchez, C. Mendoza-Herrera, J. González-Castañeda y A. De León-Rodríguez. 2009. Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) as an alternative crop for sustainable food production: Phenolic acids

Conclusions

Amaranthus dubius presented high concentration of proteins and minerals, especially Ca, Mg and Fe, low concentrations of toxic and antinutritional substances and were not detected the presence of heavy metals such as Cd and Pb. The chemical composition of *A. dubius* gives a great nutritional interest, since it can be employed as a new source of nutrients low of price in organic matter of the food industry, compare to conventional sources such as legumes and fodder legumes.

End of english version

and flavonoids with potential impact on its nutraceutical quality. *J. Cereal Sci.* 49:117-121.

- Hernández, M., M. Chavez y H. Bourges. 1987. Valor nutritivo de los alimentos mexicanos. Inst. Nal. De la nutrición. México. Publ. Div. Nutrición L-12.
- Ilarslan, H., R. Palmer, J. Imsande y H. Horner. 1997. Quantitative determination of calcium oxalate and oxalate in developing seeds of soybean (Leguminosae). *Am. J. Bot.* 84:1042-1046.
- Kumar, V., A. Sinha, H. Makkar y K. Becker. 2009. A review. Dietary role of phytate and phytase in human nutrition. *Food Chem.* 1-52.
- Mahan, L. y S. Escott-Stump. 2001. *Nutrición y dietoterapia de Krauser*. 10ª edición. Editorial Interamericana McGraw-Hill, MADRID 1274 pp.
- Matteucci, S., L. Pla y A. Colma. 1999. Recolección sistemática de germoplasmas de *Amaranthus spp.* en ecosistemas secos del

Rev. Fac. Agron. (LUZ). 2011, 28 Supl. 1: 619-627

- estado Falcón, Venezuela. Rev. Fac. Agron. (LUZ). 16:356-370.
- Odhav, B., S. Beekrum, U. Akula, H. Baijnath. 2007. Preliminary assessment of nutritional value of traditional leafy vegetables in KwaZulu-Natal, South Africa. *Journal of Food Composition and Analysis* 20:430-435
- Olivares E. y E. Peña. 2009. Bioconcentración de elementos minerales en *Amaranthus dubius* (bledo, pira), creciendo silvestre en cultivos del estado Miranda, Venezuela, y utilizado en alimentación. *Interciencia* 24(9):604-611.
- Onyango, C., H. Noetzold, A. Ziemis, T. Hofmanna, T. Bley y T. Henle. 2005. Digestibility and antinutrient properties of acidified and extruded maize-finger millet blend in the production of Fuji. *Food Sci. Tech.* 38(7):697-707.
- Valdés, A., M. Filippini, L. Martí y C. Salcedo. 2004. Determinación de nitratos en vegetales comparación de cuatro métodos analíticos. *Rev. FCA. UNCuyo.* 36(1):21-28.