

**Toxic and antinutritional substances content of
Amaranthus dubius Mart. ex Thell.
Effect of plant part and harvesting season**

Sustancias tóxicas y antinutricionales de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. Efecto de la parte de la planta y la época de recolecta

Conteúdo de substâncias tóxicas e antinutricionais de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. Efeito das partes da planta e época de colheita

Edgar Molina¹, Pedro González-Redondo², Rafael Moreno-Rojas³, Keyla Montero-Quintero¹, Rosa Ferrer¹, and Adriana Beatriz Sánchez-Urdaneta⁴

¹Departamento de Química, Facultad de Humanidades y Educación, Universidad del Zulia, 4001 Maracaibo, Zulia, Venezuela. ²Departamento de Ciencias Agroforestales, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Universidad de Sevilla, 41013 Sevilla, Spain. ³Departamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Córdoba, 14071 Córdoba, Spain. ⁴Departamento de Botánica, Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia, 4001 Maracaibo, Zulia, Venezuela.

Abstract

Amaranth species are gaining increasing interest for human and animal nutrition, although its use is limited due to their toxic and antinutritional substances contents. The contents of toxic and antinutritional substances (oxalates, phytates, total phenols, condensate tannins, hydrolysable tannins and cyanide) in the leaves, stems, and panicles of *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell., not yet investigated, were evaluated in both rainy and dry seasons. The plants were cultivated in El Néctar Hacienda, located in Merecure, in the municipality of Acevedo, Miranda State, Venezuela (10°31'38" N, 66°33'16" W). The concentration of oxalates, phytates, total phenols, condensate and hydrolysable tannins were determined by classic colorimetric techniques, the cyanide being determined by silver nitrate titration. The content of toxic and antinutrients in

A. dubius ranged from 169.6 to 368.5 mg of oxalates.kg⁻¹ DM, 0.771 to 7.482 mg of phytates.g⁻¹ DM, 0.47 to 1.77 mg of total phenols.g⁻¹ DM, and 0.22 to 1.20 mg of condensate tannins.g⁻¹ DM. Cyanide and hydrolysable tannins were not detected. The values of most of these substances presented differences according to harvesting seasons and plant part (P<0.001), as well as an interaction between both factors. The content of toxic and antinutrients was generally higher in the dry than in the rainy season for all parts of the plant. The harvesting season and the plant part affect the content of toxic and antinutritional substances in *A.dubius*, whose values were, however, below the maximum levels allowed by regulators for human consumption. Therefore, as raw material it does not need to be processed in order to guarantee its harmlessness.

Key words: *Amaranthus dubius*, antinutrients, harvesting season, toxic substances.

Resumen

Las especies de amaranto están generando creciente interés para la nutrición humana y animal, aunque su uso es limitado debido al contenido de sustancias tóxicas y antinutricionales. El contenido de sustancias tóxicas y antinutrientes (oxalatos, fitatos, fenoles totales, taninos condensados, taninos hidrolizables y cianuro) en las hojas, tallos y panículas de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell., no ha sido investigado, por ello se evaluaron en época lluviosa y seca. Las plantas fueron cultivadas en la hacienda El Néctar, localizada en Merecure, municipio Acevedo, estado Miranda, Venezuela (10°31'38" N, 66°33'16" O). La concentración de oxalatos, fitatos, fenoles totales, taninos condensados y taninos hidrolizables se determinaron mediante técnicas colorimétricas clásicas y el cianuro se determinó por titulación con nitrato de plata. El contenido de tóxicos y antinutrientes en *A. dubius* osciló entre 169,6-368,5 mg de oxalatos.kg⁻¹ en biomasa seca (BS); 0,771-7,482 mg de fitatos.g⁻¹ BS; 0,47-1,77 mg de fenoles totales.g⁻¹ BS y 0,22-1,20 mg de taninos condensados.g⁻¹ BS. No se detectó cianuro ni taninos hidrolizables. Los valores de la mayoría de estas sustancias presentaron diferencias de acuerdo a la época de recolecta y partes de la planta (P<0,001), así como interacción entre ambos factores. El contenido de tóxicos y antinutrientes fue generalmente mayor en la época seca que en la época lluviosa para todas las partes de la planta. La época de recolecta y la parte de la planta afectaron el contenido de sustancias tóxicas y antinutricionales de *A. dubius*; sin embargo, los valores estuvieron por debajo de los niveles máximos permitidos regulados para el consumo humano. Por lo tanto, la materia prima no necesita ser procesada para garantizar su inocuidad.

Palabras clave: *Amaranthus dubius*, antinutrientes, época de recolecta, sustancias tóxicas.

Resumo

As espécies de amaranto estão gerando crescente interesse pela nutrição humana e animal, ainda que o seu uso é limitado devido a seu conteúdo de substâncias tóxicas e antinutricionais. O conteúdo de substâncias tóxicas e antinutrientes (oxalatos, fitatos, fenóis totais, taninos condensados, taninos hidrolisáveis, e cianuro) nas folhas, talos e panículas de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell., não tem sido investigado, é por isso que elas têm-se avaliado em época seca e chuvosa. As plantas têm sido cultivadas na fazenda. O néctar é encontrado em Merecure, no município Acevedo do estado Miranda, Venezuela (10°31'38" N, 66°33'16" W). A concentração de oxalatos, fitatos, fenóis totais, taninos condensados e taninos hidrolisáveis têm-se determinado mediante técnicas colorimétricas clássicas e o cianuro tem-se determinado por titulação com nitrato de prata. O conteúdo de tóxicos e antinutrientes em *A. dubius* oscilam entre 169,6-368,5 mg de oxalatos.kg⁻¹ em biomassa seca (BS); 0,771-7,482 mg de fitatos.g⁻¹ BS; 0,47-1,77 mg de fenóis totais.g⁻¹ BS e 0,22-1,20 mg de taninos condensados.g⁻¹ BS. O cianuro e os taninos hidrolisáveis não têm sido detectados. Os valores da maioria destas substâncias apresentaram diferenças de acordo com a época de colheita e as partes da planta (P<0,001), e também interação entre os dois fatores. O conteúdo de tóxicos e antinutrientes foi geralmente maior na época seca que na época chuvosa para todas as partes da planta. A época da colheita e a parte da planta afetaram o conteúdo de substâncias tóxicas e antinutricionais de *A. dubius*; apesar disso, os valores estiveram por baixo dos níveis máximos permitidos regulados para o consumo humano. Portanto, a matéria prima não tem necessidade de ser processada para garantir a sua inocuidade.

Palavras chave: *Amaranthus dubius*, antinutrientes, época de colheita, substâncias tóxicas.

Introduction

The amaranth is a plant belonging to the Amaranaceae family, genus *Amaranthus*, with more than 60 species distributed in tropical and subtropical regions. The most studied species are *Amaranthus cruentus*, *A. caudatus* and *A. hypochondriacus* (Repo-Carrasco-Valencia *et al.*, 2009). This plant has a high genetic diversity, high productivity and adapts itself to different edaphoclimatic conditions, especially dry soils and high temperatures (Matteucci *et al.*, 1999;

Introducción

El amaranto es una planta que pertenece a la familia Amaranaceae, género *Amaranthus*, con más de 60 especies distribuidas en las regiones tropicales y sub-tropicales. Las especies más estudiadas son *Amaranthus cruentus*, *A. caudatus* y *A. hypochondriacus* (Repo-Carrasco-Valencia *et al.*, 2009). Esta planta tiene una alta diversidad genética, alta productividad y se adapta muy bien a diferentes condiciones edafoclimáticas, especialmente a suelos secos y altas

Nama-Medoua and Oldewage-Theron, 2014).

Amaranth (*Amaranthus* spp.) is a plant that was used by pre-Spanish original populations of America. After the Spanish conquer, the consumption of this crop decreased (Paredes-López, 1994). During the 1960s and 1970s, amaranth was considered as a food due to its high level of protein and its excellent aminoacid profile (Aguilar *et al.*, 2011).

Approximately 12 species of amaranth are to be found in Venezuela, principally *A. dubius*, *A. spinosus* and *A. hybridus* (Matteucci *et al.*, 1999; Acevedo *et al.*, 2007). These are plants that grow wild, commonly known as amaranth, and they grow as weeds in fields sown with various subsistence crops, such as corn, sorghum, and several legumes (Acevedo *et al.*, 2007; Carmona, 2007).

The amaranth has been widely studied in recent years (Mburu *et al.*, 2012; Molina *et al.*, 2015); one of the reasons for this renewed interest is its excellent nutrient profile, comparable to cereals. Recent investigations show that amaranth seeds have a high nutritional value, associated with the quantity and the quality of their proteins, fats, fibres, minerals, and vitamins (Odhav *et al.*, 2007; Chlopicka *et al.*, 2012). In addition, they also contain bioactive compounds such as saponins, phytosterols, squalene, and polyphenols (Alvarez-Jubete *et al.*, 2010).

Seed and sprouts consumption has become increasingly popular among people interested in improving and maintaining good health. Such sprouts and seeds are an excellent

temperaturas (Matteucci *et al.*, 1999; Nama-Medoua y Oldewage-Theron, 2014).

El amaranto (*Amaranthus* spp.) es una planta que fue utilizada por las poblaciones pre-españolas de América. Después de la conquista el consumo de este cultivo se redujo (Paredes-López 1994). Durante los años 1970 y 1980, el amaranto fue considerado como un alimento, debido a sus altos niveles de proteínas y su excelente perfil de aminoácidos (Aguilar *et al.*, 2011).

Aproximadamente 12 especies de amaranto se encuentran en Venezuela, principalmente *A. dubius*, *A. spinosus* y *A. hybridus* (Matteucci *et al.*, 1999; Acevedo *et al.*, 2007). Estas son plantas que crecen de forma silvestre como arvenses de varios cultivos de subsistencia, como maíz, sorgo y diversas legumbres (Acevedo *et al.*, 2007; Carmona, 2007).

El amaranto ha sido ampliamente estudiado en los últimos años (Mburu *et al.*, 2012; Molina *et al.*, 2015); una de las razones de este renovado interés es su excelente perfil de nutrientes, comparable con los cereales. Investigaciones recientes muestran que las semillas de amaranto tienen un alto valor nutricional, asociado con la cantidad y la calidad de sus proteínas, grasas, fibras, minerales y vitaminas (Odhav *et al.*, 2007; Chlopicka *et al.*, 2012). Además, también contienen compuestos bioactivos tales como saponinas, fitosteroles, escualeno y polifenoles (Alvarez-Jubete *et al.*, 2010).

El consumo de semillas y germinados es cada vez más popular entre las personas interesadas en mejorar y mantener una buena salud. Tales bro-

example of functional foods, since their components diminish the risk of contracting various diseases, such as cardiovascular diseases, cancers, neurodegenerative diseases, diabetes and osteoporosis; and provide beneficial effects upon health (Drewnowski and Gómez-Carneros, 2000; Liu, 2003; Repo-Carrasco-Valencia *et al.*, 2009). However, the basic focus of the majority of recently-published research works is upon typical sprouts available on the market, such as alfalfa (*Medicago sativa* L.), lettuce (*Lactuca sativa* L.), cabbage (*Brassica* spp.), soybean (*Glycine max* L.), beet (*Beta vulgaris* var. *vulgaris* L.), among others (Arellano *et al.*, 2004; Jiratanan and Liu, 2004; Chen *et al.*, 2006; Alvarez-Jubete *et al.*, 2010). Nevertheless, in recent decades, not only there has been an increase in the use of *Amaranthus* seeds and sprouts as well as non-traditional vegetables, in the common diet, but they are also increasingly consumed by vegans, by vegetarians, by people who suffer from celiac disease and by those who are allergic to certain commonly-consumed vegetables (Berti *et al.*, 2005; Paćeko *et al.*, 2009).

The use of amaranth in human and animal diets is limited due to its content of toxic and antinutritional substances which negatively interfere on the absorption of essential nutrients, such as minerals and amino acids. Furthermore, they may cause direct toxicity in sensitive people (Arellano *et al.*, 2004; Steffensen *et al.*, 2011). High oxalate and nitrate values have been reported in various species of amaranth, as well as a lesser proportion of saponins, phytic acid,

tes y semillas son un excelente ejemplo de alimentos funcionales, ya que sus componentes disminuyen el riesgo de contraer enfermedades cardiovasculares, cáncer, enfermedades neurodegenerativas, diabetes y osteoporosis; y proporcionan efectos beneficiosos para la salud (Drewnowski y Gómez-Carneros, 2000; Liu, 2003; Repo-Carrasco-Valencia *et al.*, 2009). Sin embargo, la mayor parte de las investigaciones recientemente publicadas están enfocadas principalmente sobre el estudio de brotes típicos disponibles en el mercado, como la alfalfa (*Medicago sativa* L.), lechuga (*Lactuca sativa* L.), repollo (*Brassica* spp.), soja (*Glycine max* L.), remolacha (*Beta vulgaris* var. *vulgaris* L.), entre otros (Arellano *et al.*, 2004; Jiratanan y Liu, 2004; Chen *et al.*, 2006; Alvarez-Jubete *et al.*, 2010). No obstante, en las últimas décadas, se ha incrementado el uso de semillas y brotes de *Amaranthus* y otros vegetales no tradicionales, no sólo en la dieta común, sino también en veganos o vegetarianos y en personas que presentan enfermedad celiaca o que son alérgicos a ciertos vegetales de consumo habitual (Berti *et al.*, 2005; Paćeko *et al.*, 2009).

El uso del amaranto en la dieta humana y animal es limitado, debido a su contenido de sustancias tóxicas y antinutricionales que interfieren negativamente en la absorción de nutrientes esenciales, como minerales y aminoácidos. Además, puede causar toxicidad directa en las personas sensibles (Arellano *et al.*, 2004; Steffensen *et al.*, 2011). En varias especies de amaranto se ha reportado la presencia de valores elevados de oxalatos, nitratos y una menor proporción de saponinas, ácido

lectins, alkaloids, tannins, trypsin inhibiting enzymes and hemagglutinant, among others (De Paula-Naves *et al.*, 2010; Repo-Carrasco-Valencia *et al.*, 2010). These values varied according to the species, the plant's part, the crop's agroenvironmental conditions, and the impact of the different industrial or semi-industrial processing methods used (Cruz *et al.*, 2005).

The evaluation of the content of toxic and antinutritional substances present in leaves, stems and panicles of *A. dubius* in two harvesting season, will be useful to demonstrate the part of the plant with the greatest potential for use in human feeding or as a complementary fodder for animal, according to their composition, and will serve as an indicator to select the best season for sowing and harvesting of the species under study.

The objective of the present study was to evaluate the effect of the plant's part and harvesting season on the content of toxic and antinutritional substances in *A. dubius* Mart. ex Thell. These results will be valuable in determining its potential use as a human and animal foodstuff and whether this raw material needs to be processed in order to guarantee its harmlessness.

Materials and methods

Collection and sample processing

The samples were selected on an experimentally-sown field of *A. dubius* located in Merecure, municipality Acevedo, Miranda State, Venezuela (10°31'38" N, 66°33'16" W). Planting

fítico, lectinas, alcaloides, taninos, enzimas inhibidoras de tripsina, hematoaglutinantes, entre otros (De Paula-Naves *et al.*, 2010; Repo-Carrasco-Valencia *et al.*, 2010). Estos valores varían según la especie, parte de la planta, condiciones agroambientales del cultivo y el impacto de los diferentes métodos de procesamiento industrial o semi industrial utilizados (Cruz *et al.*, 2005).

La evaluación del contenido de sustancias tóxicas y antinutricionales presentes en hojas, tallos y panículas de *A. dubius* en dos épocas de recolecta, será útil para demostrar la parte de la planta con mayor potencial de uso en la alimentación humana o como forraje complementario para animales, según su composición, y servirá como un indicador para seleccionar la mejor época para la siembra y la cosecha de la especie bajo estudio.

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la parte de la planta y época de recolecta en el contenido de sustancias tóxicas y antinutricionales en *A. dubius* Mart. ex Thell. Estos resultados serán valiosos para la determinación de su uso potencial en la alimentación humana y animal, para determinar si esta materia prima debe ser procesada para garantizar su inocuidad.

Materiales y métodos

Recolección y procesamiento de la muestra

Las muestras fueron seleccionadas en una siembra experimental de *A. dubius* localizada en Merecure, municipio Acevedo, Estado Miranda, Venezuela (10°31'38" N, 66°33'16" O).

was done in the rainy season (September-December of 2007, with 270.35 mm rainfall, 82.68% relative humidity and 27.08°C temperature) and in the dry season (January-April of 2008, with 69.73 mm precipitation, 82.35% relative humidity and 26.08°C temperature). In both cases, soil was prepared with a harrow, fertilized and seeds were sown in furrows. It was subsequently irrigated until the stage of plant emergence. Samples were collected approximately 80 days after planting, and leaves were subsequently separated from stems and panicles. Each part of the plant was subjected to oven drying (between 50 and 60°C, for 40 h), with constant rotation and aeration. The plant's parts were grounded and sifted at 0.5 mm (Resh Muhle Dietz, LB1-27), placed in hermetically-closed plastic containers, covered with sackcloth, and stored in a cool environment until analysis.

Analytical methods

The moisture content was determined by difference of biomass according to the Official Analytical Chemists Method (AOAC, 1995).

Total oxalates (OX) were determined in grinded sample of vegetal material (0.05 g) by the enzymatic colorimetric method described by Ilarslan *et al.* (1997), using a test kit (Oxalate urinalysis diagnostic kit of Sigma: procedure No. 591). Dihydrate oxalic acid was used as standard for the calibration curve (0.7-8.4 µg).

Phytates (PHY) were determined in grinded sample of plant material (0.5 g) by the chromogenic solution method (Mohamed *et al.*, 1986). Phytic acid, dodecasodium salt was used as

La siembra se realizó durante la temporada de lluvias (septiembre-diciembre de 2007, con 270,35 mm de precipitación, 82,68% de humedad relativa y una temperatura de 27,08°C y en la estación seca (enero-abril de 2008, con 69,73 mm de precipitación, 82,35% de humedad relativa y 26,08°C de temperatura. En ambos casos, el terreno se preparó con una rastra, fertilizado y las semillas se sembraron en surcos. Posteriormente, se regó hasta la etapa de emergencia de las plantas. Las muestras fueron recolectadas aproximadamente 80 días después de la siembra, luego las hojas se separaron de los tallos y las panículas. Cada parte de la planta fue secada al horno (entre 50 y 60°C, durante 40 h), con aireación y rotación constante. Las partes de la planta fueron tamizadas a 0,5 mm (Resh Muhle Dietz, LB1-27), colocadas en recipientes de plástico con tapa hermética, cubiertas con un saco de tela y almacenadas en un ambiente fresco para su posterior análisis.

Métodos analíticos

El contenido de humedad se determinó por diferencia de la biomasa según el método oficial de análisis químicos (AOAC, 1995).

Los oxalatos totales (OX) fueron determinados en muestras del material vegetal molido (0,05 g) por el método colorimétrico enzimático descrito por Ilarslan *et al.* (1997), utilizando un kit de análisis (Oxalate urinalysis diagnostic kit: procedure No. 591, Sigma, St. Louis, MO). El ácido oxálico dihidratado se utilizó como estándar para la elaboración de la curva de calibración (0,7-8,4 µg).

Los fitatos (FIT) se determinaron

standard for the preparation of the calibration curve (6.8-68.1 μg).

Total phenols (TPH) were determined colorimetrically from extracts of plant material, using Folin-Ciocalteu reagent, as was described by Velioglu *et al.* (1998). Tannic acid monohydrate was used as standard, for the preparation of the calibration curve (0.005-1.005 μg). The extraction of TPH was performed as described below (Makkar *et al.*, 1993; Waterman and Mole, 1994). A grinded sample of vegetal material (0.7 g) was macerated for 4 h in 70 mL a mixture acetone:water 70:30, at room temperature and mechanical agitation in darkness. The slurry was centrifuged in fractions (3000 rpm.30 min⁻¹), and the residue was subjected to a second extraction with 20 mL mixture acetone:water. The extracts were then blended, filtered, and the remaining pigments and fat with 20 mL of diethyl ether containing 1% (v/v) acetic acid were removed. The extract was placed in a 100 mL volumetric flask and was standardized to final volume with extractor mixture, was kept in cooling and covered in aluminium foil up to a maximum of 4 hours.

The condensate tannins (CT) were determined by the modified vanillin method (Butler *et al.*, 1982), from 1 mL the extract obtained in TPH determination. Catechin was used as standard, according to a calibration curve (0.025-0.042 mg).

The hydrolysable tannins (HT) were determined by the ferric chloride method (Mhinzi and Mrosso, 1995), from 5 mL the extract obtained in TPH determination. Tannic acid monohydrate was used as standard,

en muestras del material vegetal molido (0,5 g) por el método de la solución cromogénica (Mohamed *et al.*, 1986). La sal del ácido fítico dodecasodio monohidratado fue usada como estándar para la elaboración de la curva de calibración (6,8-68,1 μg).

Los fenoles totales (FT) se determinaron colorimétricamente en extractos de material vegetal, utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu como fue descrito por Velioglu *et al.*, (1998). El ácido tánico monohidratado fue utilizado como estándar según una curva de calibración (0,005-1,005 μg). La extracción de FT se realizó como se describe a continuación (Makkar *et al.*, 1993; Waterman y Mole, 1994). Una muestra del material vegetal molido (0,7 g) se maceró durante 4 h en 70 mL de una mezcla acetona:agua 70:30, a temperatura ambiente y agitación mecánica en la oscuridad. La mezcla se centrifugó en fracciones (3000 rpm.30 min⁻¹), y el residuo fue sometido a una segunda extracción con 20 mL de la mezcla acetona: agua. Luego, se mezclaron los extractos, se filtraron, y se eliminaron los pigmentos remanentes y grasas con 20 mL de éter etílico que contenía ácido acético al 1% (v/v). El extracto se colocó en un matraz aforado de 100 mL, se estandarizó hasta el volumen final con una mezcla extractora, se mantuvo en refrigeración y se cubrió con papel de aluminio hasta un máximo de 4 horas.

Los taninos condensados (TC) se determinaron por el método de vainillina modificado (Butler *et al.*, 1982). A partir de 1 mL del extracto obtenido en la determinación de FT.

according to a calibration curve (0.01-0.44 mg).

The cyanide (CN) was determined after extraction and distillation, by the silver nitrate titration method (Oboh *et al.*, 2005).

In all colorimetric determinations a spectrophotometer UNICO UV/VIS S1100TM (New Jersey, USA) was used; OX were measured at 590 nm, TPH at 725 nm, CT at 500 nm and HT at 430 nm.

Statistical analysis

A totally randomized block design of 3×2 treatments was applied in an experimental design with four replications and three subsamplings. The factors were the plant's parts at three levels (leaves, stems, and panicles), and the harvesting season at two levels (rainy and dry). The data was subjected to a variance analysis and LSMEANS was used for the interactions, using the SAS[®] statistical program (SAS, 2007).

Results and discussion

Total oxalates

The OX content presented values ranging from 169.60 to 368.46 mg.kg⁻¹ dry biomass (DB) (table 1). The leaves and the stems registered a greater OX content during the dry season when compared to the rainy season ($P < 0.001$). However, no seasonal (dry/rainy) difference was observed in the panicles ($P > 0.278$). The lowest OX content corresponded to the panicles, followed by the stems and the leaves. An interaction between plant's parts and harvesting season with regard to OX content was observed (figure 1A).

The values found were higher

La catequina se usó como estándar, para la elaboración de la curva de calibración (0,025-0,042 mg).

Los taninos hidrolizables (TH) se determinaron por el método de cloruro férrico (Mhinzi y Mrosso, 1995), a partir de 5 mL del extracto obtenido en la determinación de FT. El ácido tánico monohidratado fue utilizado como estándar, para la elaboración de la curva de calibración (0,01-0,44 mg).

El cianuro (CN) se determinó después de la extracción y la destilación, por el método de titulación de nitrato de plata (Oboh *et al.*, 2005).

En todas las determinaciones colorimétricas se utilizó un espectrofotómetro UV/VIS marca UNICO S1100TM (New Jersey, USA), el OX se midió a 590 nm, FT a 725 nm, TC a 500 nm y TH a 430 nm.

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental en bloques completamente al azar con arreglo factorial de tratamientos 3×2 , con cuatro repeticiones y tres submuestras. Los factores estudiados fueron partes de la planta (hojas, tallos y panículas) y la época de recolección (lluviosa y seca). Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza y subsecuente comparación múltiple de medias con la prueba de Tukey para los efectos simples y LSMeans para las interacciones; para ello se utilizó el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System; 2007, versión 9.1).

Resultados y discusión

Oxalatos totales

El contenido de OX presenta valores que oscilaron desde 169,60 hasta

Table 1. Contents of oxalates, phytate, total phenols, and condensate tannins (mean±SD) in *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. plant parts, harvested in the rainy and the dry seasons, in the State Miranda, Venezuela.

Cuadro 1. Contenido de oxalatos, fitatos, fenoles totales y taninos condensados (media±SD) en *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. En las partes de la planta, durante las épocas lluviosa y seca, en el estado Miranda, Venezuela.

Season	Parts of the plant								Significance
	Leaf		Stem		Panicle		Part		
	Rainy	Dry	Rainy	Dry	Rainy	Dry	Part	Season Part × Season	
Total oxalates (mg oxalates.kg ⁻¹ DM)	216.27±42.4 ^c	368.46±45.6 ^a	176.87±10.1 ^d	242.71±32.7 ^b	182.88±7.9 ^d	169.60±14.0 ^d	P<0.001	P<0.001	P<0.001
Phytates (mg phytate.g ⁻¹ DM)	2.09±0.34 ^c	2.50±0.21 ^d	0.77±0.22 ^a	1.50±0.18 ^b	6.50±0.40 ^e	7.48±0.21 ^f	P<0.001	P<0.001	P<0.002
Total phenols (mg tannic acid.g ⁻¹ DM)	0.53±0.10 ^d	1.77±0.29 ^a	0.47±0.04 ^d	0.62±0.06 ^d	0.88±0.07 ^b	1.59±0.09 ^b	P<0.001	P<0.001	P<0.001
Condensate tannins (mg catechin.g ⁻¹ DM)	0.41±0.74 ^d	1.09±0.08 ^a	0.22±0.14 ^e	0.55±0.36 ^c	0.74±0.07 ^b	1.20±0.05 ^a	P<0.001	P<0.001	P<0.002

^{a,b,c,d,e,f}The values in the same row with different letters show significant differences (P<0.01). The presence of hydrolysable tannins and cyanide was not detected during analysis.

than those reported in vegetative material of the same species harvested in Argentina (Arellano *et al.*, 2004). Nevertheless, these values were lower than those observed in the seeds of *A. cruentus* and *A. hybridus* and in the vegetative material of *A. gangeticus* (Aletor and Adeogun, 1995; Gupta *et al.*, 2005).

Oxalate is a synthesized anti-nutrient as part of the normal metabolism of vegetables and is therefore to be found widely distributed in both plants and foods. It has been reported that it interferes with the absorption of divalent metals such as calcium, magnesium, and iron (Reddy *et al.*, 1982). In this research the levels found were regarded as harmless to human health (Naudé and Naidoo, 2007).

Phytates

The PHY content ranged between 0.77 and 7.48 mg.g⁻¹ DB (table 1). The lowest value corresponded to the stems in the rainy season and the highest to the panicles in the dry season. The plant's parts presented a higher PHY value in the dry season than in the rainy season (P<0.005). It has been reported that these substances are synthesized in the plant as phosphorus deposits, cation sources, latency starters, or energy deposits. Environmental conditions which cause stress in the plant accelerate this process (Bohnert *et al.*, 1995).

In both harvesting seasons, the highest PHY values corresponded to the panicles, followed by the leaves, and then by the stems. While values in the last two were comparable, those of the panicle were very high (P<0.001). Interaction was observed

368,46 mg.kg⁻¹ biomasa seca (BS) (cuadro 1). Las hojas y los tallos registraron un mayor contenido de OX durante la época seca en comparación con la época lluviosa (P<0,001). Sin embargo, no se observaron diferencias en las panículas en relación con las épocas estudiadas (seca/lluviosa) (P>0,278). El menor contenido de OX correspondió a las panículas, seguidas por los tallos y las hojas. Se observó interacción en el contenido de OX de las partes de la planta con respecto a las épocas de recolecta (figura 1A).

Los valores encontrados fueron superiores a los reportados en el material vegetativo de la misma especie cosechada en Argentina (Arellano *et al.*, 2004). Sin embargo, estos valores fueron menores a los observados en las semillas de *A. cruentus* y *A. hybridus* y en el material vegetativo de *A. gangeticus* (Aletor y Adeogun, 1995; Gupta *et al.*, 2005).

El oxalato es un antinutriente sintetizado como parte del metabolismo normal de los vegetales y por lo tanto se encuentra ampliamente distribuido en plantas y alimentos. Se ha reportado que interfirió con la absorción de metales divalentes como el calcio, magnesio y hierro (Reddy *et al.*, 1982). En esta investigación los niveles encontrados fueron considerados inocuos para la salud humana (Naudé y Naidoo, 2007).

Fitatos

El contenido de FIT varió entre 0,77 y 7,48 mg.g⁻¹ BS (cuadro 1). El valor más bajo correspondió a los tallos en la época lluviosa y el más alto a las panículas en la época seca. Las partes de la planta presentaron un mayor valor de FIT en la estación seca que en la época lluviosa (P<0,005). Se

in the PHY content between the plant's parts and the harvesting seasons (figure 1B). The values obtained in the leaves and stems were comparable to those reported in *A. cruentus* and *A. hybridus* (Aletor and Adeogun, 1995; Fasuyi, 2006). Nevertheless, all of the samples presented values higher than those reported for seeds of *A. cruentus*, *A. edulis*, *A. hypochondriacus* and *A. hybridus* (Sánchez-Marroquín, 1980; Afolabi *et al.*, 1981; Lorenz and Wright, 1984), and for the leaf of *A. tricolor* (Gupta *et al.*, 2005).

Phytates are found widely distributed in vegetables and are regarded as anti-nutrient factors since they interfere in the absorption of essential minerals, proteins, and starch (Phillippy, 2003; Onyango *et al.*, 2005). They also inhibit proteolytic and amilolytic enzymes (Pizzani *et al.*, 2008). Nevertheless, low PHY concentrations have been related to positive effects, such as the delay in the starch digestibility, a decrease in the glucose response, hypocholesterolemic, prevention of kidney stone formation and cancer prevention, among others (Kumar *et al.*, 2010). The PHY levels found were not regarded as harmful to the absorption of essential minerals such as iron, zinc, and calcium (Nolan *et al.*, 1987).

Total phenols

The TPH ranged from 0.47 to 1.77 mg tannic acid.g⁻¹ DB, corresponding to the stems in the rainy season and to the leaves in the dry season, respectively. The plant's parts presented a higher value in the dry season than in the rainy season (table 1). In the case of the stems, the values

ha reportado que estas sustancias se sintetizaron en las plantas como depósitos de fósforo, fuente de cationes, iniciadores de latencia o depósitos de energía. Las condiciones ambientales que causaron estrés en la planta aceleraron este proceso (Bohnert *et al.*, 1995).

En ambas épocas de recolecta, los valores más altos de FIT correspondieron a las panículas, seguidas por las hojas y luego por los tallos. Los valores en estos dos últimos fueron comparables, mientras que los de las panículas fueron muy altos ($P < 0,001$). Se observó interacción en el contenido de FIT entre las partes de la planta y las épocas de recolecta (figura 1B). Los valores obtenidos en las hojas y tallos fueron comparables a los reportados en *A. cruentus* y *A. hybridus* (Aletor y Adeogun, 1995; Fasuyi, 2006). Sin embargo, todas las muestras presentaron valores mayores que los reportados para semillas de *A. cruentus*, *A. edulis*, *A. hypochondriacus* y *A. hybridus* (Sánchez-Marroquín, 1980; Afolabi *et al.*, 1981; Lorenz y Wright, 1984) y para las hojas de *A. tricolor* (Gupta *et al.*, 2005).

Los fitatos se encontraron ampliamente distribuidos en los vegetales y fueron considerados como factores antinutricionales puesto que interfirieron en la absorción de minerales esenciales, proteínas y almidón (Phillippy, 2003; Onyango *et al.*, 2005). También inhibieron enzimas proteolíticas y amilolíticas (Pizzani *et al.*, 2008). Sin embargo, bajas concentraciones de FIT se han relacionado con efectos positivos, tales como el retraso en la digestibilidad del almidón, una disminución en la respuesta de la glucosa, es hipocolesterolemia, ayuda en la

were comparable in both harvesting seasons; whereas in the leaves and the panicles, the contents were very different ($P < 0.001$). It would appear that the dry conditions generated some kind of stress in leaves and panicles, plant's parts where water accumulation might have been lower, and evidently a larger content of TPH was produced if compared to that of the rainy season, where accumulation in leaves and stems was similar. There was no interaction in the TPH content of the plant parts with respect to the harvesting seasons (figure 1D).

The TPH values were comparable to those reported in some organs of *A. cruentus* and *A. hybridus* (Fasuyi, 2006). Nevertheless, they were lower than those reported in the vegetable material of the same species cultivated in Argentina (Arellano *et al.*, 2004), as well as in *A. gangeticus*, *A. paniculatus*, *A. veridis* and *A. blitum*, all originating in Malaysia (Amin *et al.*, 2006), and in *A. hypochondriacus* K-343, *A. cruentus* R-104 and *A. cruentus* M-7, proceeding from Japan (Yawadio-Nsimba *et al.*, 2008).

Total phenols values included tannins, both condensate and hydrolysable, and other non-tannin phenols. These were secondary metabolites that were synthesized during the normal development of the plant as a response to stressful conditions such as disease, insect attack and radiation, among other (Naczka and Shahidi, 2004; Isaza, 2007). These compounds are regarded as antinutritional factors due to the astringency they provide to foods; they can also precipitate proteins and affect the absorption of biomolecules of

prevención de la formación de cálculos renales y del cáncer, entre otros (Kumar *et al.*, 2010). Los niveles de FIT encontrados en la investigación no fueron considerados como dañinos para la absorción de minerales esenciales como hierro, calcio y zinc (Nolan *et al.*, 1987).

Fenoles totales

Los FT variaron entre 0,47 y 1,77 mg ácido tánico.g⁻¹ BS, correspondiente a los tallos en la época lluviosa y a las hojas en la época seca, respectivamente. Las partes de la planta presentan un valor más alto en la época seca que en la época lluviosa (cuadro 1). En el caso de los tallos, los valores fueron comparables en ambas épocas de recolecta; mientras que en las hojas y las panículas, los contenidos fueron muy diferentes ($P < 0,001$). Al parecer, las condiciones secas generaron algún tipo de estrés en hojas y panículas, partes de la planta donde la acumulación de agua podría haber sido menor, y evidentemente se produjo un mayor contenido de FT si se compara con la de la época lluviosa, donde la acumulación en hojas y tallos fue similar. No hubo interacción en el contenido de FT de las partes de la planta con respecto a las épocas de recolecta (figura 1).

Los valores de FIT fueron comparables con los reportados en algunos órganos de *A. cruentus* y *A. hybridus* (Fasuyi, 2006). Sin embargo, ellos fueron más bajos que los reportados en el material vegetal de la misma especie cultivada en Argentina (Arellano *et al.*, 2004), así como en *A. gangeticus*, *A. paniculatus*, *A. veridis* y *A. blitum*, todos originarias de Malasia (Amin *et al.*, 2006) y *A. hypochondriacus* K-343, R-104 de *A. cruentus* y *A. cruentus* M-7, procedentes de Japón (Yawadio-

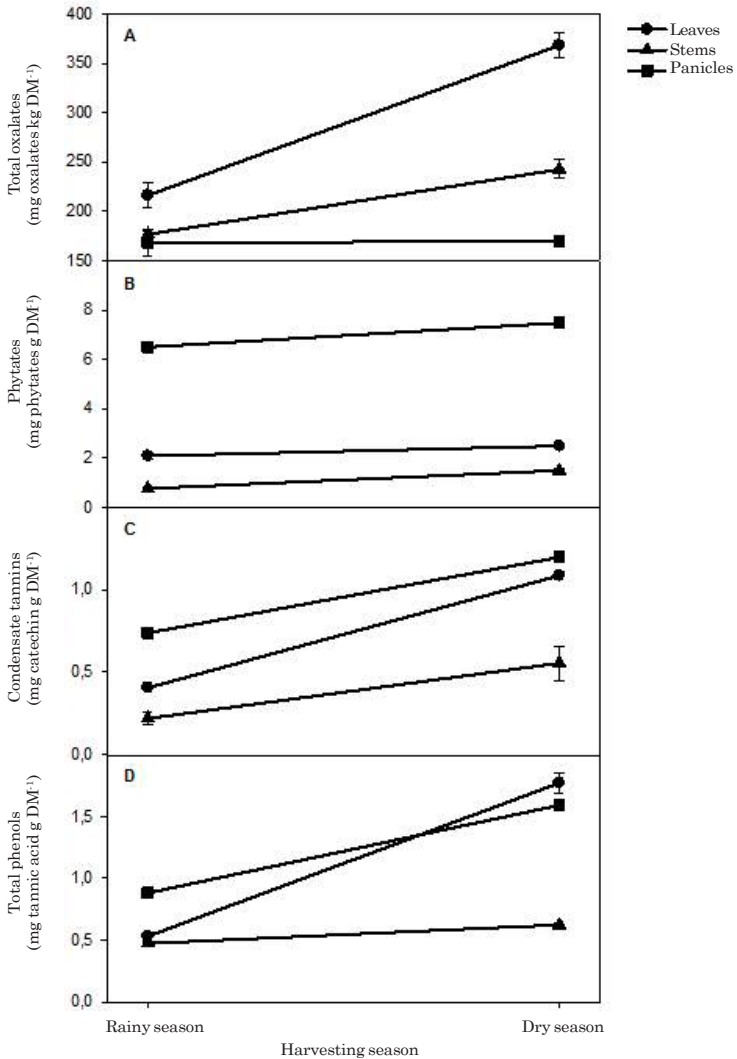


Figure 1. Interaction effect between the parts of the plant and the harvesting season on the content of total oxalates (A), phytates (B), condensate tannins (C) and total phenols (D) in *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. harvested in the State Miranda, Venezuela.

Figura 1. Efecto de la interacción entre las partes de la planta y la época de recolecta en el contenido de oxalatos totales (A), fitatos (B), taninos condensados (C) y fenoles totales (D) en *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. cultivada en el estado Miranda, Venezuela.

nutritional interest as they deactivate the digestive enzymes. This was especially true for the CT that was digestibility (Liener, 1990). On the other hand, in certain concentrations, they were attributed with beneficial functions in the organism, fundamentally due to their antioxidant capacity (Yawadio-Nsimba *et al.*, 2008). The TPH content in the samples analysed were all lower than 10% and therefore are not regarded as harmful to human nutrition or to ruminants under supplementation conditions (Makkar, 2003).

Condensate tannins

The CT content values ranged from 0.22 to 1.20 mg.g⁻¹ DB, the lowest value corresponding to the stem in the rainy season and the highest to the panicle in the dry season. The plant's parts presented a higher CT value in the dry season than in the rainy season (P<0.001), with the exception of the leaves and the panicles in the dry season (P>0.103).

The content was lower in the stems, followed by the leaves and the panicles. None of the values was comparable in terms of the plant's part or of the season under study. Nevertheless, the tendency was similar in both harvesting seasons with the values being higher in the leaves and the panicles. No interaction was observed in the CT content of the plant's parts with respect to the harvesting seasons (figure 1C).

The CT values were comparable to those reported in *A. tricolor* and lower than those reported in the seeds of *A. edulis*, *A. cruentus*, *A. hypochondriacus* and *A. hybridus* (Afolabi *et al.*, 1981; Lorenz and

Nsimba *et al.*, 2008).

Los valores de FT incluyeron taninos condensados e hidrolizables y algunos fenoles sin taninos. Estos son metabolitos secundarios que son sintetizados durante el desarrollo normal de la planta como respuesta a condiciones de estrés, tales como la enfermedades, ataque de insectos, y radiación, entre otras (Naczk y Shahidi, 2004; Isaza, 2007). Estos compuestos son considerados como factores antinutricionales debido a la astringencia que proporcionan a los alimentos; también pueden precipitar proteínas y afectan la absorción de biomoléculas de interés nutricional de la misma forma en que desactivan las enzimas digestivas. Esto es especialmente cierto para los TC que afectaron la digestibilidad (Liener, 1990). Por otra parte, en ciertas concentraciones, se atribuyeron funciones beneficiosas en el organismo, fundamentalmente por su capacidad antioxidante (Yawadio-Nsimba *et al.*, 2008). El contenido de FT en las muestras analizadas fue menor de 10% y por lo tanto no fue considerado como nocivo para la nutrición humana o de los rumiantes en condiciones de suplementación (Makkar, 2003).

Taninos condensados

Los valores del contenido de TC oscilaron entre 0,22 y 1,20 mg.g⁻¹ BS, el valor más bajo correspondió al tallo en época lluviosa y el más alto a la panícula en época seca. Las partes de la planta presentaron un valor más alto de TC en época seca en comparación con la época lluviosa (P<0,001), con excepción de las hojas y las panículas en la época seca (P>0,103).

Wright, 1984). Found values were much lower than those regarded as harmful for human consumption (Aletor, 1993).

Hydrolysable tannins

The HT were not detected in samples under the conditions of analysis. The absence of HT was interesting, because it indicates that the difference between TPH and CT was represented by phenolic substances different to tannins, which should be investigated.

There were not previous reports on the presence of HT in amaranth, although these have been reported in tropical forage plants (García and Medina, 2006).

Cyanide

The CN was not detected in samples under the conditions of analysis. This was consistent with that reported by Abreu *et al.* (1995) in *A. uranguesis* and *A. maurensis*. On the contrary, Fasuyi (2006) reported 420 mg.kg⁻¹ and 473 mg.kg⁻¹ of CN in seeds of *A. cruentus* and *A. hybridus*, respectively.

The low content of toxic and anti-nutrient substances in samples from *A. dubius* analysed and excellent nutritional composition previously reported (Arellano *et al.*, 2004; Odhav *et al.*, 2007; Molina *et al.*, 2011), open the prospects for the exploitation of this plant as a crop, and promotion of large scale consumption, fresh or as processed products. Furthermore, in tropical and subtropical countries this plant could be used as raw material in the production of animal feeds, to replace dehydrated alfalfa (*M. sativa*), soy (*G. max*), or cereals, whose price is very high in the market.

El contenido fue menor en los tallos, seguidos por las hojas y las panículas. Ninguno de los valores fue comparable en cuanto a la parte de la planta o de la época en estudio. Sin embargo, la tendencia fue similar en ambas épocas de recolecta, siendo mayor en las hojas y en las panículas. No se observó interacción en el contenido de TC de las partes de la planta con respecto a las épocas de recolecta (figura 1C).

Los valores de TC fueron comparables con los reportados en el *A. tricolor* y menores a los registrados en las semillas de *A. edulis*, *A. cruentus*, *A. hypochondriacus* y *A. hybridus* (Afolabi *et al.*, 1981; Lorenz y Wright, 1984). Los valores encontrados fueron muy inferiores a los considerados nocivos para el consumo humano (Aletor, 1993).

Taninos hidrosolubles

Las TH no fueron detectadas en las muestras en las condiciones de análisis. La ausencia de TH fue interesante, porque indicó que la diferencia entre FT y TC fue representada por sustancias fenólicas diferentes a los taninos, las cuales deben ser investigadas.

No se han encontrado reportes anteriores sobre la presencia de TH en amaranto, aunque éstos se han reportado en las plantas forrajeras tropicales (García y Medina, 2006).

Cianuro

El CN no se detectó en las muestras durante las condiciones de análisis. Esto fue consistente con lo reportado por Abreu *et al.*, (1995) en *A. uranguesis* y *A. maurensis*. Por el contrario, Fasuyi (2006) reportó 420 mg.kg⁻¹ y 473 mg.kg⁻¹ de CN en semillas de *A. cruentus* y *A. hybridus*, respectivamente.

Further research on *A. dubius* should be aimed at the standardization of cultivation, food design for replacing traditional ingredients and biological testing to demonstrate its effects in animals and humans.

Conclusions

The content of PHY, OX, TPH and CT in the plant's parts of *A. dubius* varied as a function of the harvesting seasons, being higher in the dry season than in the rainy season. Moreover, these values were below the maximum levels allowed by regulators for human consumption. For this reason, leaves, stems and panicles of *A. dubius* as raw materials do not need to be processed in order to guarantee its harmlessness and such contents confer interesting properties for using it in the food industry. With regard to plant parts, the contents of PHY, TPH and CT were higher in the panicles, followed by the leaves and stems. OX content was higher in the leaves, stems, and panicles.

Literature cited

- Abreu, M., M. Hernández, A. Castillo, E. Sampere y M. Guerra. 1995. Evaluación nutricional y toxicológica de dos variedades de amaranto de semillas de color negro (*Amaranthus uranguesis* y *A. maurensis*). Rev. Cubana Aliment. Nutr. 9:94-99.
- Acevedo, I., O. García, I. Acevedo y C. Perdomo. 2007. Valor nutritivo del bleado (*Amaranthus* spp.) identificado en el municipio Morán, estado Lara. Agrollanía 4:77-93.
- Afolabi, A.O., O.L. Oke and I.B. Umoh. 1981. Preliminary studies on the nutritive value of some cereal-like grains. Nutr.Rep. Int. 24:389-394.

El bajo contenido de sustancias tóxicas y antinutricionales en muestras tomadas de *A. dubius* reportaron una excelente composición nutricional (Arellano *et al.*, 2004; Odhav *et al.*, 2007; Molina *et al.*, 2011), lo que sugiere la explotación de este cultivo y la promoción para su consumo en productos frescos o procesados. Además, en países tropicales y sub-tropicales, la planta podría ser utilizada como materia prima para la alimentación de animales para reemplazar a la alfalfa deshidratada (*M. sativa*), soya (*G. max*), o cereales, cuyo precio resulta muy alto en el mercado.

Las futuras investigaciones sobre *A. dubius* deben orientarse a la estandarización del cultivo como un alimento sustituto de ingredientes tradicionales y biológicos para demostrar sus efectos en animales y humanos.

Conclusiones

El contenido de FIT, OX, FT y TC en las partes de la planta de *A. dubius* varió en función de las épocas de recolecta, siendo mayor en la época seca que en la época lluviosa. Por otra parte, estos valores estuvieron por debajo de los niveles máximos permitidos por los regulados para el consumo humano. Por esta razón, las hojas, los tallos y las panículas de *A. dubius* como materia prima no necesitan ser procesadas para garantizar la inocuidad y dichos contenidos le confieren interesantes propiedades para el uso en la industria alimentaria. En cuanto a las partes de la planta, los contenidos de FIT, FT y TC fueron mayores en las panículas, seguidas por

- Aguilar, E.G., M.A. Cantarelli, E.J. Marchevsky, N.L. Escudero and J.M. Camiña. 2011. Multielemental analysis and classification of amaranth seeds according to their botanical origin. *J. Agric. Food Chem.* 59:9059-9064.
- Aletor, V.A. 1993. Allelochemicals in plant foods and feedingstuffs: I. Nutritional, biochemical and physiopathological aspects in animal production. *Vet. Hum. Toxicol.* 35:57-67.
- Aletor, V.A. and O.A. Adeogun. 1995. Nutrient and anti-nutrient components of some tropical leafy vegetables. *Food Chem.* 53:375-379.
- Alvarez-Jubete, L., H. Wijngaard, E.K. Arendt and E. Gallagher. 2010. Polyphenol composition and *in vitro* antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. *Food Chem.* 119:770-778.
- Amin, I., Y. Norazaidah and K.I.E. Hainida. 2006. Antioxidant activity and phenolic content of raw and blanched *Amaranthus* species. *Food Chem.* 94:47-52.
- AOAC. 1995. Official method of analysis. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists (AOAC), Washington DC, USA.
- Arellano, M.A.L., G. Albarraçin, S. Arce y S. Mucciarelli. 2004. Estudio comparativo de hojas de *Beta vulgaris* con *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. *Phyton* 73:193-197.
- Berti, C., P. Riso, A. Brusamolino and M. Porrini. 2005. Effect on appetite control of minor cereal and pseudocereal products. *Br. J. Nutr.* 94:850-858.
- Bohnert, H.J., D.E. Nelson and R.G. Jensen. 1995. Adaptations to environmental stresses. *Plant Cell* 7:1099-1111.
- Butler, L.G., M.L. Price and J.E. Brotherton. 1982. Vanillin assay for proanthocyanidins (condensed tannins): modification of the solvent for estimation of the degree of polymerization. *J. Agric. Food Chem.* 30:1087-1089.
- las hojas y tallos. El contenido de OX fue mayor en las hojas, tallos y panículas.
- Fin de la versión español*
-
- Carmona, W. 2007. Las especies del género *Amaranthus* (Amaranthaceae) en Venezuela. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 24:190-195.
- Chen, L.H., C.E. Wells and J.R. Fordham. 2006. Germinated seeds for human consumption. *J. Food Sci.* 40 (6):1290-1294.
- Chlopicka, J., P. Pasko, S. Gorinstein, A. Jedryas and P. Zagrodzki. 2012. Total phenolic and total flavonoid content, antioxidant activity and sensory evaluation of pseudocereal breads. *LWT-Food Sci. Technol.* 46:548-555.
- Cruz, M., M.C. Valadez y M. Cuellar. 2005. Identificación de compuestos antinutricionales en amaranto (íntegro y reventado) cultivado en algunas regiones del centro del país. *RESPYN* 13:306-311.
- De Paula-Naves, L., A. Duarte Corrêa, C. Donizete-Dos Santos e M. Patto De Abreu. 2010. Componentes antinutricionais e digestibilidade proteica em sementes de abóbora (*Cucurbita maxima*) submetidas a diferentes processamentos. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 30(1):180-184.
- De Troiani, R.M. y L. Ferramola. 2005. Elaboración y calidad de cubos compactados realizados con biomasa de amaranto. *Rev. Desarro. Rural Coop. Agrar.* 9:103-112.
- Drewnowski, A. and C. Gomez-Carneros. 2000. Bitter taste, phytonutrients, and the consumer: a review. *Amer. J. Clin. Nutr.* 72:1424-1435.
- Fasuyi, A.O. 2006. Nutritional potentials of some tropical vegetable leaf meals: chemical characterization and functional properties. *Afr. J. Biotechnol.* 5:49-53.
- García, D.E. y M.G. Medina. 2006. Composición química, metabolitos

- secundarios, valor nutritivo y aceptabilidad relativa de diez árboles forrajeros. *Zoot. Trop.* 24:233-250.
- Gupta, S., A.J. Lakshmi, M.N. Manjunath and J. Prakash. 2005. Analysis of nutrient and antinutrient content of under utilized green leafy vegetables. *LWT-Food Sci. Technol.* 38:339-345.
- Harslan, H., R.G. Palmer, J. Imsande and H.T Horner. 1997. Quantitative determination of calcium oxalate and oxalate in developing seeds of soybean (*Leguminosae*). *Am. J. Bot.* 84:1042-1046.
- Isaza, J.H. 2007. Taninos o polifenoles vegetales. *Sci. Tech.* 13(33):13-18.
- Jiratanan, Y. and R.H. Liu. 2004. Antioxidant activity of processed table Beets (*Beta vulgaris* var. conditiva) and Green Beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Agric. Food Chem.* 52 (9):2659-2670.
- Kumar, V., A.K. Sinha, H.P.S. Makkar and K. Becker. 2010. Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review. *Food Chem.* 120:945-959.
- Liener, I.E. 1990. Naturally occurring toxic factors in animal feedstuffs. p. 377-394. *In*: Feedstuff evaluation. Wiseman, J., and D.J.A. Cole (Eds.). Butterworths-Heinemann, London, England.
- Liu, R.H. 2003. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *Am. J. Clin. Nutr.* 78:517-520.
- Lorenz, K. and B. Wright. 1984. Phytate and tannin content of amaranth. *Food Chem.* 14:27-34.
- Makkar, H.P.S., M. Blümmel, N. Borowy and K. Becker. 1993. Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. *J. Sci. Food Agr.* 61:161-165.
- Makkar, H.P.S. 2003. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Res.* 49:241-256.
- Matteucci, S.D., L. Pla y A. Colma. 1999. Recolección sistemática de germoplasmas de *Amaranthus* spp. en ecosistemas secos del estado Falcón, Venezuela. *Rev. Fac. Agron. (LUZ).* 16:356-370.
- Mburu, M.W., N.K. Giconyo, G.M. Kenji and A.M. Mwasaru. 2012. Nutritional and functional properties of a complementary food based on Kenyan amaranth grain (*Amaranthus cruentus*). *AJFAND.* 12(2):5959-5977.
- Mhinzi, G.S. and H.D.J. Mrosso. 1995. Studies on Tanzanian *Acacia* gums. Part. 3. Some properties of gum exudates from the series Vulgares and Gummiferae. *Food Chem.* 54:261-264.
- Mohamed, A.I., P.A.J., Perera and Y.S Hafez. 1986. New chromophore for phytic acid determination. *Cereal Chem.* 63:475-478.
- Molina, E., P. González-Redondo, K. Montero, R. Ferrer, R. Moreno-Rojas y A.B. 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.
- Molina, E., P. González-Redondo, R. Moreno-Rojas, K. Montero-Quintero, B. Bracho and A. Sánchez-Urdaneta. 2015. Effects of diets with *Amaranthus dubius* Mart. *ex Thell.* on performance and digestibility of growing rabbits. *World Rabbit Science* 23:9-18.
- Naczki, M. and F. Shahidi. 2004. Review: Extraction and analysis of phenolics in food. *J. Chromatogr. A.* 1054:95-111.
- Nama-Medoua, G. and W.H. Oldewage-Theron. 2014. Effect of drying and cooking on nutritional value and antioxidant capacity of morogo (*Amaranthus hybridus*) a traditional leafy vegetable grown in South Africa. *LWT-Food Sci. Technol.* 51:736-742.
- Naudé, T.W. and V. Naidoo. 2007. Oxalate containing plants. p. 880-891. *In*: Veterinary toxicology. Basic and

- clinical principles. Gupta R.C. (Ed.). Academic Press, New York, USA.
- Nolan, K.B., P.A. Duffin and D.J. McWeeny. 1987. Effects of phytate on mineral bioavailability. *In vitro* studies on Mg²⁺, Ca²⁺, Fe³⁺, Cu²⁺ and Zn²⁺ (also Cd²⁺) solubilities in the presence of phytate. *J. Sci. Food Agr.* 40:79-85.
- Oboh, G., M.M. Ekperigin and M.I. Kazeem. 2005. Nutritional and haemolytic properties of eggplants (*Solanum macrocarpon*) leaves. *J. Food Compos. Anal.* 18:153-160.
- Odhav, B., S. Beekrum, U. Akula and H. Baijnath. 2007. Preliminary assessment of nutritional value of traditional leafy vegetables in KwaZulu-Natal, South Africa. *J. Food Compos. Anal.* 20:430-435.
- Onyango, C., H. Noetzold, A. Ziemis, T. Hofmann, T. Bley and T. Henle. 2005. Digestibility and antinutrient properties of acidified and extruded maize-finger millet blend in the production of *uji*. *LWT-Food Sci. Technol.* 38:697-707.
- Paredes-López, O. 1994. Amaranth, biology, chemistry and technology. CRC-Press, Florida, USA. 234 p.
- Pasko, P., H. Barton, P. Zagrodzki, S. Gorinstein, M. Foltá and Z. Zachwieja. 2009. Anthocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. *Food Chem.* 115:994-998.
- Phillippy, B.Q. 2003. Inositol phosphates in foods. *Adv. Food Nutr. Res.* 4:51-60.
- Pizzani, P., S. Godoy, M. León, E. Rueda, M.V. Castañeda y A. Arias. 2008. Efecto de concentraciones crecientes de fósforo fítico sobre la actividad de las enzimas fitasa y fosfatasa alcalina en el epitelio intestinal de ovinos jóvenes. *Rev. Cient. FCV-LUZ* 18:59-64.
- Reddy, N.R., S.K. Sathe and D.K. Salunkhe. 1982. Phytates in legumes and cereals. *Adv. Food Res.* 28:1-92.
- Repo-Carrasco-Valencia, R., J. Peña, H. Kallio and S. Salminen. 2009. Dietary fiber and other functional components in two varieties of crude and extruded kiwicha (*Amaranthus caudatus*). *J. Cereal Sci.* 49:219-224.
- Repo-Carrasco-Valencia, R., J.K. Hellström, J.M. Pihlava y P.H. Mattila. 2010. Flavonoids and other phenolic compounds in Andean indigenous grains: Quinoa (*Chenopodium quinoa*), kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) and kiwicha (*Amaranthus caudatus*). *Food Chem.* 120:128-133.
- Sánchez-Marroquín, A. 1980. Potencialidad agroindustrial del amaranto, Centro de Estudios Económicos y Sociales del Tercer Mundo, Distrito Federal, Cuidad de México, Distrito Federal, México. 238 p.
- SAS. 2007. Statistical Analysis System. SAS/STAT®. User's guide, Version 9.1. 4th Ed. Vol. Carym North Carolina, USA.
- Steffensen, S.K., Å. Rinnan, A.G. Mortensen, B. Laursen, R.M. De Troiani, E.J. Noellemeyer, D. Janovska, K. Dusek, J. Délano-Frier, A. Taberner, C. Christophersen and I.S. Fomsgaard. 2011. Variations in the polyphenol content of seeds of field grown *Amaranthus* genotypes. *Food Chem.* 129:131-138.
- Velioglu, Y.S., G. Mazza, L. Gao and B.D. Oomah. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J. Agric. Food Chem.* 46:4113-4117.
- Waterman, P.G. and S. Mole. 1994. Analysis of phenolic plant metabolites. Blackwell Scientific Publication, Oxford, UK. 238 p.
- Yawadio-Nsimba, R., H. Kikuzaki and Y. Konishi. 2008. Antioxidant activity of various extracts and fractions of *Chenopodium quinoa* and *Amaranthus* spp. seeds. *Food Chem.* 106:760-766.