

AVENANTHRAMIDES AND NUTRITIONAL COMPONENTS OF FOUR MEXICAN OAT (*Avena sativa* L.) VARIETIES

AVENANTRAMIDAS Y COMPONENTES NUTRICIONALES DE CUATRO VARIEDADES MEXICANAS DE AVENA (*Avena sativa* L.)

Faviola Ortiz-Robledo¹, Ignacio Villanueva-Fierro^{1*}, B. Dave Oomah², Ismael Lares-Asef¹, J. Bernardo Proal-Nájera¹, J. Jesús Návar-Chaidez¹

¹IPN CIIDIR Durango, Sigma 119 Fraccionamiento 20 Noviembre II, 34220. Durango, Durango, México. COFAA scholars. (ifierro62@yahoo.com). ²Pacific Agri-Food Research Centre, Agriculture and Agri-Food Canada (AAFC), 4200 Highway 97, P. O. Box 5000, Summerland, British Columbia, V0H 1Z0, Canada.

ABSTRACT

Oat (*Avena sativa* L.) is a cereal grain, its seeds are rich in nutrients, is consumed as whole grain with health benefits for humans due to its antioxidants, such as the avenanthramides (Avns). The contents of Avns 2c, 2f and 2p were evaluated by HPLC in groats and hulls of oat varieties Chihuahua, Cuauhtémoc, Karma and Avemex cultivated in Durango, México. The association of these Avns with protein, fat, crude fiber and ash of oat was also investigated. A 4×2 bifactorial design was used, with the number of varieties and groats or hulls as factors. Avns contents differed significantly ($p \leq 0.05$) among oat varieties, groats and hulls. Avemex groats had the highest concentrations of Avns: 3.6 ± 0.7 , 3.0 ± 0.5 and 3.3 ± 0.6 mg kg⁻¹ for 2c, 2f and 2p Avns. Avemex groats also had the highest protein content and Avns showed positive correlation with protein content indicating that Avns could be found in oat varieties with high protein content. Karma and Avemex had higher protein content with Avemex containing three times more Avns than other varieties.

Keywords: antioxidants, groats, hulls, oat, polyphenols.

INTRODUCTION

Chihuahua and Durango are two Mexican States accounting for 78.7 % of the total oat production in Mexico (Financiera Rural, 2010). Chihuahua and Cuauhtémoc are the most commonly grown varieties, followed by Avemex and Karma, varieties that were genetically modified by

RESUMEN

La avena (*Avena sativa* L.) es un cereal, sus semillas son ricas en nutrientes y se consume como grano entero con beneficios para los humanos, gracias a los antioxidantes como las avenantramidas (Avns). Los contenidos de Avns 2c, 2f y 2p por HPCL se evaluaron en granos descascarillados y cascarillas de las variedades de avena Chihuahua, Cuauhtémoc, Karma y Avemex, cultivadas en Durango, México. También se investigó la asociación de estas Avns con proteína, grasa, fibra cruda y cenizas de avena. Se utilizó un diseño bifactorial 4×2, con el número de variedades y granos descascarillados o cascarillas como factores. Los contenidos de Avns difirieron significativamente ($p \leq 0.05$) entre las variedades de avena, los granos descascarillados y las cascarillas. Los granos descascarillados de Avemex tuvieron la concentración más alta de Avns: 3.6 ± 0.7 , 3.0 ± 0.5 y 3.3 ± 0.6 mg kg⁻¹ para las Avns 2c, 2f y 2p. Los granos descascarillados de Avemex también tuvieron el contenido de proteína más alto y las Avns mostraron una correlación positiva con el contenido de proteína, indicando que las Avns pueden encontrarse en variedades de avena con alto contenido de proteína. Karma y Avemex tuvieron contenido mayor de proteína y Avemex tuvo tres veces más Avns que las otras variedades.

Palabras clave: antioxidantes, granos descascarillados, cascarillas, avena, polifenoles.

INTRODUCCIÓN

Chihuahua y Durango son dos estados mexicanos con 78.7 % del total de avena producida en México (Financiera Rural, 2010). Chihuahua y Cuauhtémoc son las variedades más frecuentemente cultivadas, seguidas de Avemex y

* Author for correspondence ♦ Autor responsable.

Received: July, 2012. Approved: March, 2013.

Published as ARTICLE in *Agrociencia* 47: 225-232. 2013.

the Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Mexico (Mariscal-Amaro *et al.*, 2009), to confer moderate resistance to stem rust (*Puccinia graminis*) and crown rust (*Puccinia coronata*). The benefit of consuming oats for humans and livestock are due to its proteins, lipids, carbohydrates, fiber, vitamins, minerals and antioxidants (Peterson *et al.*, 2002, Singh *et al.*, 2013), particularly the avenanthramides (Avns); compounds formed from an anthranilic acid linked with an amide bond to a hydroxycinnamic acid (Peterson and Dimberg, 2008). Among cereals, Avns are only present in oats and are biosynthesized through the enzyme hydroxycinnamoyl CoA:hydroxyanthranilate *N*-hydroxycinnamoyl transferase (Wise *et al.*, 2009). The most abundant Avns found in grain are *N*-(3', 4'-dihydroxy-(*E*)-cinnamoyl)-5-hydroxyanthranilic acid (2c), *N*-(4'-hydroxy-3'-methoxy-(*E*)-cinnamoyl)-5-hydroxyanthranilic acid (2f) and *N*-(4'-hydroxy-(*E*)-cinnamoyl)-5-hydroxyanthranilic acid (2p), 2 indicating 5-hydroxyanthranilic acid and p, f and c indicating *p*-coumaric, ferulic and caffeic acids (Bratt *et al.*, 2003; Singh *et al.*, 2013). Avns were first referred as Avns A, B and C by Collins (1989), who found over 40 different Avns-like compounds in methanolic extracts of oat groats and hulls. Other studies reported the presence of these phenolic compounds (Dimberg *et al.*, 1993; Emmons and Peterson, 1999; Handelman *et al.*, 1999). Besides oats, Avns are found in carnation leaves and eggs of white cabbage butterfly (Wise *et al.*, 2009) and oat leaves (Ishihara *et al.*, 1999; Peterson and Dimberg, 2008; Dimberg and Peterson, 2009). Avns possess biological properties such as antioxidant activity (Peterson *et al.*, 2002; Fagerlund *et al.*, 2009; Ren *et al.*, 2011) that increases with the number of radical-stabilizing groups ortho to the phenolic hydroxyl group (Fagerlund *et al.*, 2009). Avns also exhibit anti-inflammatory (Liu *et al.*, 2004; Guo *et al.*, 2008; Sur *et al.*, 2008), anti-atherogenic (Liu *et al.*, 2004; Nie *et al.*, 2006), anti-irritant (Sur *et al.*, 2008) and anti-proliferative activities (Guo *et al.*, 2010), and prevents heart disease by reducing LDL cholesterol (Ryan *et al.*, 2007). Avns have also been associated with crown rust (*Puccinia coronata*) incidence and genetic resistance to the disease (Wise *et al.*, 2008; Mariscal-Amaro *et al.*, 2009).

Although oat is recognized as a nutrient-rich cereal with human health benefits, mainly by the presence

Karma que fueron genéticamente modificadas por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), México (Mariscal-Amaro *et al.*, 2009), para conferir una resistencia moderada a la roya del tallo (*Puccinia graminis*) y a la roya de la corona (*Puccinia coronata*). El beneficio de consumir avenas para los humanos y el ganado se debe a sus proteínas, lípidos, carbohidratos, fibra, vitaminas, minerales y antioxidantes (Peterson *et al.*, 2002, Singh *et al.*, 2013), particularmente las avenantramidas (Avns), compuestos formados por un ácido antranílico unido con un enlace peptídico a un ácido hidroxicinámico (Peterson y Dimberg, 2008). Entre los cereales, las Avns sólo se presentan en la avena y se biosintetizan a través de la enzima hidroxicinamoil CoA:hidroxiantranilato *N*-hidroxicinamoil transferasa (Wise *et al.*, 2009). Las Avns más abundantes en el grano son el ácido *N*-(3', 4'-dihidroxi-(*E*)-cinamoil)-5-hidroxiantranílico (2c), ácido *N*-(4'-hidroxi-3'-metoxi-(*E*)-cinamoil)-5-hidroxiantranílico (2f) y el ácido *N*-(4'-hidroxi-(*E*)-cinamoil)-5-hidroxiantranílico (2p); el 2 indica al ácido 5-hidroxiantranílico y p, f y c, indican los ácidos *p*-cumárico, ferúlico y cafeico (Bratt *et al.*, 2003; Singh *et al.*, 2013). Las Avns se conocieron primero como Avns A, B y C por Collins (1989) quien encontró más de 40 Avns diferentes en extractos metanólicos de granos descascarillados y cascarillas. Otros estudios reportaron la presencia de estos compuestos fenólicos (Dimberg *et al.*, 1993; Emmons y Peterson, 1999; Handelman *et al.*, 1999). Además de la avena, las Avns se encuentran en hojas de clavel y en huevos de la mariposa blanca de la col (Wise *et al.*, 2009), y en hojas de avena (Ishihara *et al.*, 1999; Peterson y Dimberg, 2008; Dimberg y Peterson, 2009). Las Avns poseen propiedades biológicas como actividad antioxidante (Peterson *et al.*, 2002; Fagerlund *et al.*, 2009; Ren *et al.*, 2011), que aumenta con el número de grupos orto que estabilizan los radicales para el grupo hidroxilo fenólico (Fagerlund *et al.*, 2009). Las Avns también exhiben actividades anti-inflamatoria (Liu *et al.*, 2004; Guo *et al.*, 2008; Sur *et al.*, 2008), anti-aterogénica (Liu *et al.*, 2004; Nie *et al.*, 2006), anti-irritante (Sur *et al.*, 2008) y anti-proliferativa (Guo *et al.*, 2010), y previenen la enfermedad cardiaca al reducir el colesterol LDL (Ryan *et al.*, 2007). Las Avns también se asocian con la incidencia de la roya de la corona (*Puccinia coronata*) y la resistencia genética a la enfermedad (Wise *et al.*, 2008; Mariscal-Amaro *et al.*, 2009).

of antioxidants, there is limited information about Avns content in oats and its anatomical fractions (Liu *et al.*, 2011; Hole *et al.*, 2012). Thus, the objective of this study was to determine the content of Avns 2p, 2f and 2c in four oat varieties grown in the State of Durango, México, as well as their correlation with the chemical composition of the grain in order to provide nutritious and nutraceutical profiles. This study aims to show that oat varieties resistant to stem and crown rusts may have high Avns contents and therefore are more nutritious than susceptible varieties.

MATERIALS AND METHODS

Oats varieties Chihuahua, Cuahtémoc, Avemex and Karma were used in this study. The first two were grown during 2010 in Nuevo Ideal, Durango (24° 53' 51.3" N; 105° 02' 32" W; altitude 1990 m). The soil, sandy clay loam and pH 8.28, was not fertilized and no pathogens were observed. Avemex and Karma were genetically modified by INIFAP, in order to confer moderate resistance to stem (*Puccinia graminis*) and crown rusts (*Puccinia coronata*) (Mariscal-Amaro *et al.*, 2009). These varieties were grown during 2010 in Valle del Guadiana, Durango (23° 59' 12.4" N; 104° 37' 38.7" W; altitude 1878 m). The loam textured soil (pH 8.0) was fertilized with 120 and 60 kg ha⁻¹ of nitrate and phosphate, respectively. Since the soil had no observable pathogens it was not treated with any pesticides.

Chemicals. Synthetic Avns *N*-(3', 4'-dihydroxy-(*E*)-cinnamoyl)-5-hydroxyanthranilic acid (2c), *N*-(4'-hydroxy-3'-methoxy-(*E*)-cinnamoyl)-5-hydroxyanthranilic acid (2f) and *N*-(4'-hydroxy-(*E*)-cinnamoyl)-5-hydroxyanthranilic acid (2p) were provided by Dr. Mitchell L. Wise (Cereal Crops Research, ARS, USDA, Madison, WI, United States). Methanol and orthophosphoric acid were obtained from Fermont (Monterrey, México) and acetonitrile from Aldrich (D.F., México).

Chemical analysis of oat groats and hulls. Ash (942.05), crude protein (960.52), crude fat (920.39) and crude fiber content (962.09) were determined according to AOAC (2000). Chemical analyses were performed in triplicate.

Avns extraction and analysis. Extraction and analysis of Avns were performed as described by Bryngelsson *et al.* (2002). Groats and hulls were separated by hand and ground in a blender until the powder passed through a 0.5 mm sieve. 5 g of each sample (in triplicate) were used to extract Avns with methanol (36 mL) by stirring, for 30 min, twice at room temperature the same day that the grinding was performed. The mixture was centrifuged for 10 min, the supernatants pooled, filtered through Whatman filter paper No. 41, and the solvent evaporated under vacuum at 40 °C. The residue was resuspended to 2 mL in methanol

Aunque la avena se reconoce como un cereal rico en nutrientes con beneficios para la salud humana, principalmente por la presencia de antioxidantes, hay información limitada sobre el contenido de Avns en la avena y sus fracciones anatómicas (Liu *et al.*, 2011; Hole *et al.*, 2012). Por tanto, el objetivo de este estudio fue determinar el contenido de las Avns 2p, 2f y 2c en cuatro variedades de avena cultivadas en el estado de Durango, México, así como su correlación con la composición química del grano, para proporcionar perfiles nutricionales y nutraceuticos. Este estudio intenta mostrar que las variedades de avena resistentes a las royas del tallo y de la corona tienen contenidos altos de Avns y, por tanto, son más nutritivas que las variables susceptibles.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron las variedades de avena Chihuahua, Cuahtémoc, Avemex y Karma en este estudio. Las primeras dos se cultivaron durante 2010 en Nuevo Ideal, Durango (24° 53' 51.3" N; 105° 02' 32" O; altitud 1990 m). El suelo, de textura franco-arcillo-arenosa y pH 8.28, no se fertilizó y no se observaron patógenos. Avemex y Karma fueron genéticamente modificadas por INIFAP, para conferirles una resistencia moderada a las royas del tallo (*Puccinia graminis*) y de la corona (*Puccinia coronata*) (Mariscal-Amaro *et al.*, 2009). Estas variedades se cultivaron durante 2010 en Valle del Guadiana, Durango (23° 59' 12.4" N; 104° 37' 38.7" O; altitud 1878 m). El suelo de textura franca (pH 8.0) se fertilizó con 120 y 60 kg ha⁻¹ de nitrato y fosfato, respectivamente. Dado que el suelo no tenía patógenos observables, no se trató con pesticidas.

Químicos. El Dr. Mitchell L. Wise (Cereal Crops Research, ARS, USDA, Madison, WI, EE.UU.) proporcionó Avns sintéticas *N*-(3', 4'-dihidroxi-(*E*)-cinamoil)-5- ácido hidroxiantranílico (2c), *N*-(4'-hidroxi-3'-metoxi-(*E*)-cinamoil)-5-ácido hidroxiantranílico (2f) y *N*-(4'-hidroxi-(*E*)-cinamoil)-5- ácido hidroxiantranílico (2p). El metanol y el ácido ortofosfórico se obtuvieron de Fermont (Monterrey, México) y el acetonitrilo de Aldrich (D.F., México).

Análisis químico de granos descascarillados y cascarillas. El contenido de cenizas (942.05), proteína cruda (960.52), grasa cruda (920.39) y fibra cruda (962.09), se determinó con los procedimientos de AOAC (2000). Los análisis químicos se realizaron por triplicado.

Extracción y análisis de Avns. La extracción y el análisis de las Avns se realizó según Bryngelsson *et al.* (2002). Los granos descascarillados y las cascarillas se separaron a mano y se molieron en una licuadora hasta que el polvo pasara por una malla de 0.5 mm.

and stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ until further analysis. Avns were analyzed by HPLC in an Agilent HPLC 1100 equipped with a degasser, quaternary pump and diode-array detector using a reversed phase column (Waters C-18 Symmetry $3.9\times 150\text{ mm}$). The mobile phase consisted of two solvents: solvent A (0.01 M phosphoric acid in acetonitrile:water 5:95, v/v) and acetonitrile as solvent B. Samples were run with a linear gradient for 60 min from 0-40 % B at 1 mL min^{-1} flow rate. The analytes were detected at 340 nm, with a bandwidth of 8 nm, and 500 nm as reference with a bandwidth of 50 nm. Synthetic standards of each Avns were used to identify and quantify oats Avns.

Validation of analytical system. Accuracy and relative errors were parameters considered in this study. Precision was measured in terms of repeatability of values (standard deviation) obtained under the same (day, analyst, sample, and machine) operating conditions; linearity (the slope of the calibration curves) was measured to determine if results were directly proportional to the concentration of analyte (coefficient of determination); noise was taken as two standard deviations of the baseline, and limit of quantification was 10 times the noise.

Experimental design. A 4×2 completely randomized bifactorial design was used: factor 4 the number of varieties and factor 2 groats or hulls of each variety. Three extractions of each sampled variety were injected twice in the HPLC.

Statistical analysis. The experimental design was used to determine the influence of variety and fraction on Avns content. Analysis of variance was performed with the GLM procedure, means comparison with Duncan's test to determine variety, fraction, and variety-fraction effects and Pearson correlation performed according to SAS Institute Inc. (Cary, North Carolina, 1990).

RESULTS AND DISCUSSION

The results of accuracy showed relative errors of 2.79, 5.67 and 0.85 %, for Avs 2c, 2p and 2f, at 1 mg L^{-1} concentration; a relative error of 10 % is considered accurate. Precision (expressed as standard deviation) was 0.42, 0.088 and 0.214 mg kg^{-1} , for Avns 2c, 2p and 2f. For linearity, the coefficients of determination (R^2) were 0.999, 0.998 and 0.997 for Avns 2c, 2p and 2f. Limits of quantification were 0.152, 0.147 and 0.143 mg kg^{-1} , for Avns 2c, 2p and 2f. Chihuahua hulls had the highest ash content and the groats the highest fat content. Avemex groats had the highest protein (20.7 %) content, and Cuauhtémoc hulls the richest in crude fiber content. Protein content of Karma and Avemex were significantly ($p\leq 0.05$) higher than those of Chihuahua and Cuauhtémoc for

De cada muestra se usaron 5 g (por triplicado) para extraer las Avns con metanol (36 mL) al mezclar dos veces por 30 min a temperatura ambiente, el mismo día que se molió la muestra. La mezcla se centrifugó 10 min, los sobrenadantes se reunieron, se filtraron con papel Whatman No. 41, y el disolvente se evaporó usando vacío a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$. El residuo se resuspendió hasta 2 mL en metanol y se almacenó a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su análisis. Las Avns se analizaron por HPLC en un Agilent HPLC 1100 equipado con degasificador, bomba cuaternaria y detector de matriz de diodos, usando una columna de fase revertida (Waters C-18 Symmetry $3.9\times 150\text{ mm}$). La fase móvil tuvo dos disolventes: el solvente A (0.01 M ácido fosfórico en acetonitrilo:agua 5:95, v/v) y el acetonitrilo como solvente B. Las muestras se corrieron 60 min por un gradiente lineal de 0-40 % B a una velocidad de flujo de 1 mL min^{-1} . Los compuestos se detectaron a 340 nm, con un ancho de banda de 8 nm, y a 500 nm como referencia, con un ancho de banda de 50 nm. Los estándares sintéticos de cada Avn se usaron para identificar y cuantificar las Avns en la avena.

Validación del sistema analítico. La precisión y los errores relativos fueron parámetros considerados en este estudio. La precisión se midió en términos de repetibilidad de valores (desviación estándar), obtenida bajo las mismas condiciones operativas (día, analista, muestra y máquina); la linealidad (pendiente de las curvas de graduación) se midió para determinar si los resultados fueron directamente proporcionales a la concentración del analítico (coeficiente de determinación); el ruido se tomó como dos desviaciones estándar de la línea basal, y el límite de cuantificación fue 10 veces el ruido.

Diseño experimental. El diseño fue bifactorial completamente aleatorio 4×2 : factor 4 fue el número de variedades y factor 2 los granos descascarillados o cascarillas de cada variedad. Tres extracciones de cada variedad o se inyectaron dos veces en el HPLC.

Análisis estadístico. El diseño experimental se usó para determinar la influencia de la variedad y la fracción en el contenido de Avns. El análisis de varianza se realizó con el procedimiento GLM, las medias se compararon con la prueba de Duncan para determinar la variedad, la fracción y realizó los efectos de variedad-fracción, y la correlación de Pearson se realizó de acuerdo con SAS Institute Inc. (Cary, North Carolina, 1990).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de exactitud mostraron errores relativos de 2.79, 5.67 y 0.85 %, para las Avns 2c, 2p y 2f, a 1 mg L^{-1} de concentración; un error relativo de 10 % se considera exacto. La precisión (expresada como desviación estándar) fue 0.42, 0.088 y 0.214 mg kg^{-1} , para las Avns 2c, 2p y 2f. Para linealidad, los

groats and hulls (Table 1). Our results are consistent with those reported (Shewry *et al.*, 2008) on ash and fiber rich oat hulls and (Zwer, 2010; Welch, 2011) for protein and lipid rich groats.

Avns content was significantly different ($p \leq 0.05$) among varieties and between fractions (groats and hulls). Avemex had the highest concentration of the three measured Avns, in both oats hull and groats. The lowest concentration for Avn 2c and 2p occurred in Chihuahua hulls and Karma hulls. Chihuahua, Cuauhtémoc and Karma hulls showed the lowest values for Avn 2f and Karma hulls for Avn 2p. The hulls-groats ratio (%) revealed that Avemex, Karma and Chihuahua synthesized greater amount of Avn 2c in groats than hulls. Cuauhtémoc variety had greater amount of Avn 2c in hull than groats in hull than in groats. Avn 2f content was similar in Chihuahua hull and groats, whereas Chihuahua and Cuauhtémoc had higher Avn 2p contents in hulls than other varieties (Table 2).

Avns concentration depended on variety and fraction confirming previous reports (Emmons and Peterson, 1999; Emmons and Peterson, 2001; Dimberg *et al.*, 2005). However, Avns concentrations (in groats and hulls) in this study were lower than those reported by Emmons and Peterson (2001), Bratt *et al.* (2003) and Dokuyucu *et al.* (2003), but similar to those observed by Peterson *et al.* (2005). These differences can be explained by the genotype and the strong influence of growing environment that influences the Avns synthesis.

coeficientes de determinación (R^2) fueron 0.999, 0.998 y 0.997 para las Avns 2c, 2p y 2f. Los límites de cuantificación fueron 0.152, 0.147 y 0.143 mg kg^{-1} , para las Avns 2c, 2p y 2f. Las cascarillas de la variedad Chihuahua tuvieron el mayor contenido de cenizas y los granos descascarillados el mayor contenido de grasa. Los granos descascarillados de Avemex tuvieron el mayor contenido de proteína (20.7 %) y las cascarillas de Cuauhtémoc fueron las más ricas en contenido de fibra cruda. El contenido de proteína de Karma y Avemex fue significativamente ($p \leq 0.05$) mayor que el de Chihuahua y Cuauhtémoc para granos descascarillados y cascarillas (Cuadro 1). Estos resultados son consistentes con los reportados (Shewry *et al.*, 2008) para cascarillas de avena ricas en cenizas y fibra, y para granos descascarillados ricos en proteína y lípidos (Zwer, 2010; Welch, 2011).

El contenido de Avns fue significativamente diferente ($p \leq 0.05$) entre variedades y entre fracciones (granos descascarillados y cascarillas). Avemex tuvo la concentración más alta de las tres Avns medidas, tanto en granos descascarillados como en cascarillas de avena. La concentración más baja para Avns 2c y 2p ocurrió en las cascarillas de Chihuahua y Karma. Las cascarillas de Chihuahua, Cuauhtémoc y Karma mostraron los valores más bajos para Avn 2f y las cascarillas Karma para Avn 2p. La tasa cascarillas-granos descascarillados (%) mostró que Avemex, Karma y Chihuahua sintetizaron una mayor cantidad de Avn 2c en granos descascarillados que en cascarillas. La variedad Cuauhtémoc tuvo una mayor cantidad de

Table 1. Chemical composition (%) of four oat varieties.
Cuadro 1. Composición química (%) de cuatro variedades de avena.

Fraction	Ash	Protein	Fat	Crude fiber
Groats				
Chihuahua	2.44 ± 0.08a [†]	12.8 ± 0.90c	9.72 ± 0.08a	1.10 ± 0.69ab
Cuauhtémoc	2.05 ± 0.09b	15.6 ± 0.44b	7.93 ± 0.97b	2.06 ± 0.55a
Karma	2.43 ± 0.17a	19.8 ± 1.08a	6.59 ± 0.02c	1.01 ± 0.32b
Avemex	2.32 ± 0.07a	20.7 ± 1.67a	7.52 ± 0.30bc	1.72 ± 0.32ab
Hulls				
Chihuahua	10.21 ± 0.06a	5.14 ± 0.63b	3.03 ± 0.14a	21.41 ± 3.42c
Cuauhtémoc	8.53 ± 0.07b	4.91 ± 0.32b	1.57 ± 0.03b	33.08 ± 2.71a
Karma	7.16 ± 0.06c	7.63 ± 0.19a	1.5 ± 0.10b	26.53 ± 1.26b
Avemex	6.90 ± 0.12d	6.62 ± 0.86a	1.53 ± 0.12b	29.19 ± 1.01ab

[†]Mean ± standard deviation ♦ Media ± desviación estándar.

Means in columns within each fraction with different letters are significantly different ($p \leq 0.05$) ♦ Las medias en las columnas dentro de cada fracción con distintas letras son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$).

Table 2. Avenanthramides contents (mg kg⁻¹) and hull-groat ratio (%) of oats.**Cuadro 2. Contenidos de avenantramidas (mg kg⁻¹) y tasa de cascarillas-granos descascarillados (%) de las avenas.**

Variety/ Fraction	Concentration			Hulls-groats ratio (%)		
	Avn 2c	Avn 2f	Avn 2p	Avn 2c	Avn 2f	Avn 2p
Groats						
Chihuahua	0.4c [†]	0.7c	0.7c	76.8b	99.1a	172.7a
Cuauhtémoc	0.5c	1.4b	1.2b	188.2a	57.1bc	126.9b
Karma	1.2b	1.0c	1.2b	38.9c	71.6b	87.8c
Avemex	3.6a	3.0a	3.3a	29.4c	54.0c	59.9c
Mean	1.4	1.5	1.6	83.3	70.4	111.8
Hulls[†]						
Chihuahua	0.3y	0.7y	1.2yz			
Cuauhtémoc	1.0x	0.7y	1.5y			
Karma	0.5y	0.7y	1.1z			
Avemex	1.0x	1.6x	1.9x			
Mean	0.7	0.9	1.4			
Overall Means	1.06	1.21	1.51			

[†]Means followed by different letters within rows or columns are significantly different ($p \leq 0.05$) ♦ Las medias seguidas por distintas letras dentro de renglones o columnas son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$).

Protein in oats showed positive correlation with fat, Avns 2f and 2c, and it is inversely associated with ash and fiber (Table 3). Dimberg *et al.* (2005) found correlation among protein and Avns in a study of oat grain grown in conventional and organic systems. Correlation among protein and Avns 2f and 2c suggests that oat grain rich in protein will also be rich in Avns. In the present study fat was negatively correlated with ash and fiber, whereas Avns showed high positive correlations among them (Table 3). High correlation among the three Avns indicates that their production in oat grain is related, that is, if any one of the Avns is found in grain it is very likely that the other two Avns are also found.

In oat hulls, Avns showed positive correlation among them, but correlation with protein was no significant, this may be due to low amount of protein in the hulls. Protein was inversely associated with ash content, while fat showed positive correlation with ash content and inverse correlation with fiber. In groats, protein content showed a negative correlation with fat, while protein content showed positive correlation with Avns 2p and 2c (Table 3). Correlation among protein content and Avns

Avn 2c in cascarillas que en granos descascarillados. El contenido de Avn 2f fue similar en las cascarillas y granos descascarillados de Chihuahua, mientras que Chihuahua y Cuauhtémoc tuvieron mayores contenidos de Avn 2p en cascarillas que otras variedades (Cuadro 2).

La concentración de Avns dependió de la variedad y la fracción, confirmando reportes anteriores (Emmons y Peterson, 1999; Emmons y Peterson, 2001; Dimberg, *et al.*, 2005). Sin embargo, las concentraciones de Avns (en granos descascarillados y cascarillas) en este estudio fueron menores que las reportadas por Emmons y Peterson (2001), Bratt *et al.* (2003) y Dokuyucu *et al.* (2003), aunque similares a las observadas por Peterson *et al.* (2005). Estas diferencias se pueden explicar por el genotipo y la fuerte influencia del ambiente de crecimiento que afecta la síntesis de Avns.

La proteína en la avena mostró una correlación positiva con la grasa, Avns 2f y 2c, y está inversamente asociada con cenizas y fibra (Cuadro 3). Dimberg *et al.* (2005) encontraron correlación entre la proteína y las Avns en un estudio sobre el crecimiento del grano de avena en sistemas convencionales y orgánicos. La correlación entre la proteína y las Avns 2f y 2c sugiere que el grano de avena rico en proteína también será rico en Avns. En este estudio, la grasa estuvo negativamente correlacionada con cenizas y fibra, mientras que las Avns mostraron altas correlaciones positivas entre ellas (Cuadro 3). La correlación alta entre las tres Avns indica que su producción en el grano de avena está relacionado, es decir, si cualquiera de las Avns se encuentra en el grano es muy probable que las otras dos Avns también estén presentes.

En cascarillas de avena, las Avns mostraron correlación positiva entre ellas, pero la correlación con la proteína no fue significativa; esto puede deberse a una baja cantidad de proteína en las cascarillas. La proteína estuvo inversamente asociada con el contenido de cenizas, mientras que la grasa mostró una correlación positiva con el contenido de cenizas y una correlación inversa con la fibra. En granos descascarillados, el contenido de proteína mostró una correlación negativa con la grasa, mientras que el contenido de proteína mostró una correlación positiva con las Avns 2p y 2c (Cuadro 3). La correlación entre contenido de proteína y las Avns sugiere nuevamente que los granos de avena con alto contenido de proteína producen mayores concentraciones de Avns que los granos de avena con bajo contenido de proteína.

Table 3. Correlation coefficients for chemical components of oats and avenanthramides.
Cuadro 3. Coeficientes de correlación para componentes químicos de avenas y aventramidas.

	Ash	Protein	Fat	Fiber	Avn 2p	Avn 2f	Avn 2c
Overall (n=24)							
Protein	-0.899 [†]		0.776 [†]	-0.885 [†]	ns	0.543 [§]	0.560 [§]
Fat	-0.867 [†]	0.776 [†]		-0.949 [†]	ns	ns	ns
Fiber	0.888 [†]	-0.885 [†]	-0.949 [†]		ns	ns	ns
Avn 2f	-0.43 [§]	0.543 [§]	ns	ns	0.923 [†]		0.901 [†]
Avn 2p	ns	ns	ns	ns		0.923 [†]	0.926 [†]
Hulls (n=12)							
Protein	-0.731 [§]		ns	ns	ns	ns	ns
Fat	0.882 [†]			-0.759 [§]	ns	ns	ns
Fiber	ns	ns	-0.759 [§]		ns	ns	ns
Avn 2p	ns	ns	ns	ns		0.810 [§]	0.709 [§]
Groats (n=12)							
Protein	ns		-0.802 [§]	ns	0.653 [§]	ns	0.694 [§]
Avn 2p	ns	0.653 [§]	ns	ns		0.977 [†]	0.981 [†]
Avn 2f	ns	ns	ns	ns	0.977 [†]		0.933 [†]

[†]p≤0.0001; [§]p≤0.005; [§]p≤0.05; ns: not significant. ♦ ns: no significativo.

suggests again that oat grains with high protein content produce higher concentrations of Avns than oat grains with low protein content.

CONCLUSIONS

The oats of Avemex and Karma varieties had the highest protein contents, but Avemex contained three times higher Avns concentrations than the rest. Karma also considered as a stem rust resistant variety had Avns content similar to non-resistant varieties Cuauhtémoc and Chihuahua. The use of Avemex variety is suggested for the preparation of food like snacks, meals, or cereals, as well as alcoholic extracts, but it is necessary to study the range of safe use.

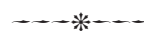
ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank a M.Sc. Jesús López Hernandez (INIFAP) and M.Sc. Jesús Herrera (CIIDIR-IPN, Durango) for providing oats samples and Dr Mitchell L Wise for providing synthetic avenanthramides. Support was provided by COCYTED No. DGO 2008-C04-94500 and SIP from Instituto Politécnico Nacional No. 20091283, 20101637 and 20110855.

CONCLUSIONES

Las variedades de avena Avemex y Karma tuvieron los contenidos de proteína más altos, pero Avemex presentó concentraciones tres veces mayores de Avns que las otras. Karma, también considerada como una variedad resistente a la roya del tallo, tuvo contenidos de Avns similares a las variedades no resistentes Cuauhtémoc y Chihuahua. El uso de la variedad Avemex se sugiere para preparar alimentos como botanas, comidas o cereales, así como para extractos alcohólicos, pero es necesario estudiar el rango de uso seguro.

—Fin de la versión en Español—



LITERATURE CITED

- AOAC. 2000. Official methods of analysis. Association official Analytical Chemists Inc (17th edition) Washington DC USA.
 Bratt, K., K. Sunnerheim, S. Bryngelsson, A. Fagerlund, L. Engman, R. E. Andersson, and L. H. Dimberg. 2003.

- Avenanthramides in oats (*Avena sativa* L.) and structure-antioxidant activity relationships. *J. Agric. Food Chem.* 51: 594-600.
- Bryngelsson, S., L. H. Dimberg, and A. E. Kamal. 2002. Effects of commercial processing on levels of antioxidants in oats (*Avena sativa* L.). *J. Agric. Food Chem.* 50: 1890-1896.
- Collins, F. W. 1989. Oat phenolics: Avenanthramides, novel substituted N-cinnamoylanthranilate alkaloids from oat groats and hulls. *J. Agric. Food Chem.* 37: 60-66.
- Dimberg, L. H., O. Theander, and H. Lingnert. 1993. A group of phenolic antioxidants in oats. *Cereal Chem.* 70(6): 637-641.
- Dimberg, L. H., C. Gissen, and J. Nilsson. 2005. Phenolic compounds in oat grains (*Avena Sativa* L.) grown in conventional and organic systems. *Ambio* 34(4-5): 331-337.
- Dimberg L. H., and D. M. Peterson. 2009. Phenols in spikelets and leaves of field-grown oats (*Avena sativa*) with different inherent resistance to crown rust (*Puccinia coronata* f. sp. *Avenae*). *J. Sci. Food Agric.* 89: 1815-1824.
- Dokuyucu, T., D. M. Peterson, and A. Akkaya. 2003. Contents of antioxidant compounds in Turkish oats: Simple phenolics and Avenanthramide concentrations. *Cereal Chem.* 80(5): 542-543.
- Emmons, C. L., and D. M. Peterson. 1999. Antioxidant activity and phenolic contents of oat groats and hulls. *Cereal Chem.* 76(6): 902-906.
- Emmons, C. L., and D. M. Peterson. 2001. Antioxidant activity and phenolic content of oat as affected by cultivar and location. *Crop Sci.* 41: 1676-1681.
- Fagerlund, A., K. Sunnerheim, and L. H. Dimberg. 2009. Radical-scavenging and antioxidant activity of avenanthramides. *Food Chem.* 113: 550-556. <http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Documents/Monografias/Monograf%C3%ADa%20Avena%20%28oct%2010%29%20vf.pdf>. (Accessed: June 2012).
- Guo, W., M. L. Wise, F. W. Collins, and M. Meydani. 2008. Avenanthramides, polyphenols from oats, inhibit IL-1 β -induced NF- κ B activation in endothelial cells. *Free Radical Biol. Med.* 44: 415-429.
- Guo, W., L. Nie, D. Wu, M. L. Wise, F. W. Collins, S. N. Meydani, and M. Meydani. 2010. Avenanthramides inhibit proliferation of human colon cancer cell lines *in vitro*. *Nutr. and Cancer* 62(8): 1007-1016.
- Handelman, G. J., G. Cao, M. F. Walter, Z. D. Nightingale, G. L. Paul, R. L. Prior, and J. B. Blumberg. 1999. Antioxidant capacity of oat (*Avena Sativa* L.) extracts. 1. Inhibition of low-density lipoprotein oxidation and oxygen radical absorbance capacity. *J. Agric. Food Chem.* 47: 4888-4893.
- Hole, A. S., S. Grimmer, M. R. Jensen and S. Sahlström. 2012. Synergistic and suppressive effects of dietary phenolic acids and other phytochemicals from cereal extract on nuclear factor kappa B activity. *Food Chem.* 133: 969-977.
- Ishihara, A., Y. Ohtsu, and H. Iwamura. 1999. Biosynthesis of oat avenanthramide phytoalexins. *J. Phytochem.* 50: 237-242.
- Liu, L., L. Zubik, F. W. Collins, M. Marko, and M. Meydani. 2004. The antiatherogenic potential of oat phenolic compounds. *Atherosclerosis.* 175: 39-49.
- Liu, S., N. Yang, Z-h. Hou, Y. Yao, L. Lü, X-r. Zhou, G-x- Ren. 2011. Antioxidant effects of oats avenanthramides on human serum. *Agric. Sci. China.* 10(8): 1301-1305.
- Mariscal-Amaro, L. A., J. Huerta-Espino, H. Villaseñor-Mir, E., G. Leyva-Mir, S., S. Sandoval-Islas, J., and I. Benítez-Riquelme. 2009. Genetics of resistance to stem rust (*Puccinia graminis* f. sp. *Avenae*) in three genotypes of oat (*Avena sativa* L.). *Agrociencia* 43: 869-879.
- Nie, L., M. L. Wise, D. M. Peterson, and M. Meydani. 2006. Mechanisms by which avenanthramide-c, a polyphenol of oats, blocks cell cycle progression in vascular smooth muscle cells. *Free Radic. Biol. Med.* 41: 702-708.
- Peterson, D. M., M. J. Hahn, and C. L. Emmons. 2002. Oat avenanthramides exhibit antioxidant activities *in vitro*. *Food Chem.* 79: 473-478.
- Peterson, D. M., D. M. Wesenberg, D. E. Burrup, and C. A. Erickson. 2005. Relationships among agronomic traits and grain composition in oat genotypes grown in different environments. *Crop Sci.* 45: 1249-1255.
- Peterson, D. M., and L. H. Dimberg. 2008. Avenanthramide concentrations and hydroxycinnamoyl-CoA: hydroxyanthranilate *N*-hydroxycinnamoyltransferase activities in developing oats. *J. Cereal Sci.* 47: 101-108.
- Ren Y., X. Yang, X. Niu, S. Liu and G. Ren. 2011. Chemical characterization of the avenanthramide-rich extract from oat and its effect on D-galactose-induced oxidative stress in mice. *J. Agric. Food Chem.* 59: 206-211.
- Ryan, D., M. Kendall, and K. Robards. 2007. Bioactivity of oats as it relates to cardiovascular disease. *Nutr. Res Rev.* 20: 147-162.
- Shewry, P. R., V. Piironen, A. Lampi, L. Nyström, M. Rakszegi, A. Fraš, D. Boros, K. Gebruers, C. M. Courtin, J. A. Delcour, A.A. M. Andersson, L. Dimberg, Z. Bedő, and J. L. Ward. 2008. Phytochemical and fiber components in oat varieties in the HEALTHGRAIN diversity screen. *J. Agric. Food Chem.* 56: 9777-9784.
- Singh, R., S. De and A. Belkheir. 2013. *Avena sativa* (Oat), a potential nutraceutical and therapeutic agent: an overview. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 53: 126-144.
- Sur, R., A. Nigam, D. Grote, F. Liebel, and M. D. Southall. 2008. Avenanthramides, polyphenols from oats, exhibit anti-inflammatory and anti-itch activity. *Arch. Dermatol. Res.* 300: 569-574.
- Welch, R. W. 2011. Nutrient composition and nutritional quality of oats and comparisons with other cereals. *In: Webster, F. H., and P. J. Wood (eds). Oats. Chemistry and Technology, 2nd edn, AACC International Inc., pp: 95-107.*
- Wise M. L., D.C. Doehlert, and M. S. McMullen. 2008. Association of avenanthramide concentration in oat (*Avena Sativa* L.) grain with crown rust incidence and genetic resistance. *Cereal Chem.* 85(5): 639-641.
- Wise, M. L., H. K. Sreenath, R. W. Skadsen, and H. F. Kaeppler. 2009. Biosynthesis of avenanthramides in suspension cultures. *Plant Cell Tis. Organ. Cult.* 97: 81-90.
- Zwer, P. 2010. Oats: characteristics and quality requirements. *In: Wrigley, C. W., and I. L. Batey (eds). Cereal Grains. Assessing and Managing Quality, Oxford Press: Boca Raton. pp: 163-182.*