

Caratterizzazione biochimica di genotipi di carciofo e di cardo coltivato e selvatico

Alessandra Durazzo¹, Maria Stella Foddai¹, Andrea Temperini², Elena Azzini¹, Eugenia Venneria¹, Massimo Lucarini¹, Enrico Finotti¹, Paola Crinò^{2,3}, Francesco Saccardo² e Giuseppe Maiani¹

¹ Istituto Nazionale di Ricerca per gli Alimenti e la Nutrizione (INRAN), Roma

² Dipartimento DAFNE, Università della Tuscia, Viterbo

³ ENEA C.R. Casaccia, Unità Sviluppo sostenibile ed innovazione del sistema agro-industriale, Roma

Biochemical characterization of seeds from lines of artichoke and cultivated and wild cardoon

Abstract. Globe artichoke (*Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* L.), cultivated cardoon (*Cynara cardunculus* var. *altilis* DC.) and wild cardoon (*Cynara cardunculus* var. *sylvestris* L.) are species widely distributed in the Mediterranean basin. The aim of this research was the biochemical characterization of seeds from lines of artichoke and cultivated and wild cardoon. This research has been carried out by the following evaluations: 1) the total fat content and lipid fatty acid profile; 2) the profile of relevant carotenoids; 3) the total antioxidant capacity and the total antioxidant efficiency. Both artichoke and cardoon seeds are a good source of antioxidants. Our results could provide information about the potential industrial use and application of artichoke and/or cardoon seeds.

Key words: seeds; lipid fatty acids; antioxidants.

Introduzione

Il carciofo (*Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* L.), il cardo coltivato (*Cynara cardunculus* var. *altilis* DC.) e il cardo selvatico (*Cynara cardunculus* var. *sylvestris* L.) sono specie diffuse nell'area Mediterranea. Tali piante erano note e apprezzate dai Greci e dai Romani sia per scopi alimentari che farmaceutici (Sonnante *et al.* 2007; Lattanzio *et al.* 2009). Come suggerito precedentemente da Rottenberg e Zohary (2005), recenti studi molecolari (Acquadro *et al.* 2005) hanno confermato che il cardo selvatico è il progenitore di entrambe le specie coltivate, che si sono evolute separatamente come risultato di differenti criteri di selezione. La coltivazione del cardo è meno diffusa di quella del carciofo; studi precedenti hanno mostrato che sia la forma coltivata che

selvatica vengono utilizzate per la produzione di semi da olio, interessanti sia per la qualità che per la quantità di prodotto ottenuto (Foti *et al.* 1999). Inoltre i semi di cardo possono essere utilizzati come fonte di energia rinnovabile nella produzione di biocarburanti (Gominho *et al.* 2011). I risultati di Raccuia e Melilli (2007) hanno mostrato come i genotipi di cardo siano promettenti per la produzione di biomassa, semi e olio. Raccuia e Melilli (2007) hanno indicato l'olio di carciofo e cardo adatto al consumo alimentare.

L'olio di carciofo e cardo ha composizione simile a quella dell'olio di girasole e di cartamo (Fernández, 2000; Curt *et al.* 2002). Differenti studi hanno mostrato la presenza di saponine, sesquiterpeni, steroli, cumarine e lignani nei semi di carciofo e cardo (Valentao *et al.* 2002; Wang *et al.* 2003; Falleh *et al.* 2008).

Obiettivo di tale ricerca è stato la caratterizzazione biochimica di genotipi di carciofo e di cardo coltivato e selvatico. Sono state valutate:

- la resa in olio e la composizione in acidi grassi;
- il profilo di carotenoidi;
- la capacità antiossidante totale e l'efficienza antiossidante totale.

Materiali e metodi

Preparazione del campione

In tabella 1 sono riportati i campioni di semi di carciofo, di cardo coltivato e selvatico e gli ibridi oggetto del presente studio. I campioni sono stati sottoposti ad una macinazione refrigerata per la preservazione delle molecole bioattive.

Determinazione della percentuale dei lipidi totali

La determinazione del grasso totale è stata effettuata attraverso sistemi automatici di estrazione Soxtec. L'estrazione effettuata mediante etere dietilico si compone di quattro fasi: ebollizione, risciacquo, recupero e pre-essiccazione. Tale estrazione include uno step preparatorio di idrolisi acida che permette di estrarre i grassi in forma legata.

* durazzo@inran.it

Tab. 1 - Genotipi di carciofo e di cardo coltivato e selvatico oggetto della sperimentazione.

Tab. 1 - Genotypes of globe artichoke and cultivated and wild cardoon studied.

Prodotto	Genotipi	Abbreviazione
Carciofo	Brawley North	BN
	Cavi	CA
	Cyl	CYL
	F19	F-19
	Vert de Provence	VP
	With the bloomer	WB
	22BD	22BD
Cardo coltivato	Bianco avorio	BA
	Belgio	BE
	F.S.	F.S.
	Madrid	MA
Cardo selvatico	Cerveteri	CE
	Siena	S
	Tarquini	T
<i>Ibridi</i>		
Ibrido F1	Madrigal	MG
Ibrido F1	Romolo	RO
Ibrido cardo x carciofo	F1 103	F1 103
Ibrido cardo x carciofo	F1 104	F1 104
Varietà sintetica	Istar	I

Profilo degli acidi grassi

L'estrazione dei lipidi è stata effettuata con una miscela di cloroformio/metanolo (2:1, v/v), secondo il metodo di Folch (1957). Si è proceduto alla preparazione degli esteri metilici degli acidi grassi (Regolamento CEE n. 2568/91 – L248) per la successiva separazione mediante gascromatografia. È stata utilizzata una colonna capillare Megawax Crossbond (spessore film 0,25 micron, diametro interno 0,32 micron, lunghezza 30 metri).

Le condizioni utilizzate nell'analisi gascromatografica sono le seguenti: He come gas di trasporto (flusso di 1 ml/min), volume di iniezione 1,5 µl con splittaggio 1:60, temperatura dell'iniettore e del rivelatore (FID) 250 °C. Per l'eluizione degli acidi grassi è stata utilizzata la seguente sequenza di temperature: da 150 °C a 200 °C incremento di 10 °C/min, isoterma a 200 °C per 4 minuti, da 200 °C a 220 °C incremento di 5 °C/min., isoterma a 220 °C per 23 minuti. Sono stati identificati e quantificati gli acidi grassi palmitico, oleico e linoleico. I risultati sono espressi in percentuale sul totale degli acidi grassi identificati.

Estrazione e quantificazione dei carotenoidi

I carotenoidi sono stati determinati tramite la metodica di Sharpless *et al.* (1999), usata e convalida-

ta dal National Institute of Standards and Technology (NIST). Gli estratti sono stati analizzati in un sistema HPLC Perkin-ElmerI SS 200 series (Perkin-Elmer, Norwalk, CO, USA).

Valutazione della capacità antiossidante totale

I campioni sono stati sottoposti ad una procedura di estrazione messa a punto ed ottimizzata in base alle metodiche di Durazzo *et al.* (2012). Tale metodica implica l'ottenimento di una frazione organico-acquosa e di una frazione residuale. La capacità antiossidante totale dell'estratto acquoso-organico e del residuo è stata valutata mediante il FRAP (*Ferric Reducing-Antioxidant Power*) ed il TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*). Il FRAP è stato determinato in accordo con la metodica di Benzie e Strain (1996) e di Pulido *et al.* (2000). Questa determinazione sfrutta la capacità degli antiossidanti di ridurre un complesso incolore tripiridiltriiazinico ferrico, presente in eccesso stechiometrico, nella sua forma ferrosa di intenso colore blu. Il TEAC misura la capacità degli antiossidanti di intrappolare il radicale cationico come riportato nelle metodiche di Re *et al.* (1999).

Valutazione dell'efficienza antiossidante totale

L'efficienza antiossidante totale del genotipo Romolo (RO) è stata valutata su un modello sperimentale (pool di plasma umano) sottoposto a stress ossidativo con un iniziatore di radicali descritto da Lotito e Fraga (1998) e da noi adattato per le nostre condizioni sperimentali. Il pool plasmatico è stato sottoposto ad uno stress ossidativo indotto chimicamente a 37 °C, con 2,2'-azobis(2-amidinopropano) diidroclore (ABAP) 0,37 mM (= 0,1 mg/ml plasma), una concentrazione minima, vicina ad uno stress ossidativo naturale.

Il plasma, ottenuto da prelievi di sangue effettuati a digiuno su soggetti sani, è stato trasferito in 3 provette con aggiunta di ABAP 0,37 mM e posto in un bagnetto termostato, con agitazione continua, alla temperatura di 37 °C dando così inizio alla decomposizione con la conseguente produzione di radicali perossilici. Da ogni provetta è stata prelevata un'aliquota a T0. In una provetta rimane il sistema plasma+ABAP, mentre nelle altre due provette dopo 3 ore sono stati aggiunti 20 µl di estratto acquoso-organico e della frazione residuale rispettivamente. Ad intervalli successivi, dopo l'aggiunta degli estratti, sono state prelevate aliquote da ciascuna provetta a tempi diversi: 3 ore (T3), 4 ore (T4), 5 ore (T5) e 7 ore (T7). Le aliquote sono state conservate a -80 °C e successivamente analizzate per verificare variazioni nel corso

dei vari tempi della capacità antiossidante totale misurata come FRAP con il metodo descritto sopra.

Analisi statistica

Tutte le analisi sono state condotte in triplicato e i dati sono presentati come media±deviazione standard (SD). I dati sono stati analizzati utilizzando il programma STATISTICA per Windows (release 4.5; StatSoft Inc, Vigonza PD, Italia). Il limite di significatività statistica è stato fissato a $P < 0,05$.

Risultati e discussione

Per i semi di carciofo i valori ottenuti per la percentuale di olio nel seme (dati non mostrati) si collocano tra un valore minimo di 16,65% per il genotipo Brawley north (BN) ad un valore massimo di 25,57% per il genotipo F19, con valori medi di 21,64%.

Per i semi di cardo coltivato e selvatico le percentuali medie di olio nel seme erano rispettivamente del 22,81% e 21,61%, valori che non si discostano da quelli ottenuti per il carciofo. La percentuale di olio nel seme per gli ibridi di carciofo e cardo è nel range di 14,70-23,41%, con un valore medio di 19,47%; il genotipo più produttivo è risultato Madrigal (MG).

L'olio dei semi di carciofo e cardo può essere considerato una interessante fonte di acidi grassi alimentari (Curt *et al.* 2002; Raccuia e Melilli, 2007).

Nella tabella 2 è riportata la composizione in acidi grassi (ac. palmitico, ac. oleico, ac. linoleico) nei semi selezionati. Per tutti i campioni analizzati l'acido grasso predominante è risultato essere l'acido linoleico tranne per F19 e VP.

Per i genotipi di carciofo, l'acido palmitico varia da 15,82 a 19,57%, l'acido oleico da 14,92 a 47,81% e l'acido linoleico da 36,38 a 51,17%. In particolare per l'acido palmitico non si evidenziano differenze significative tra i genotipi, per l'acido oleico i valori maggiori si registrano per i genotipi CYL, F19 e VP e per l'acido linoleico risultano interessanti i genotipi Withe bloomer (WB) e 22BD. Hassanein *et al.* (2011) hanno mostrato che gli acidi grassi insaturi costituiscono l'84,7% nei semi di carciofo; in particolare l'acido linoleico risultava il maggiore tra gli acidi grassi insaturi e l'acido palmitico tra quelli saturi. Maccarone *et al.* (1999), studiando la composizione in acidi grassi di oli estratti da semi di carciofo e cardo coltivato e selvatico, hanno evidenziato come i genotipi di cardo, in particolare quelli appartenenti al genotipo selvatico, siano più interessanti per la resa e composizione in olio.

Nella nostra ricerca, non si osservano differenze significative nella composizione di acidi grassi tra i

Tab. 2 - Composizione in acidi grassi (ac. palmitico, ac. oleico, ac. linoleico) nei semi selezionati*.

Tab. 2 - Lipid fatty acid profile (palmitic acid, oleic acid, linoleic acid) in selected seeds.

Prodotti	Ac. palmitico (%)	Ac. oleico (%)	Ac. linoleico(%)
Carciofo			
BN	19,54±2,16	32,86±1,53 ^b	47,61±0,63 ^{ab}
CA	18,88±1,37	33,12±0,05 ^b	44,80±1,47 ^{ab}
CYL	17,93±0,66	35,06±0,45 ^{bc}	47,02±0,21 ^{ab}
F-19	15,82±1,61	47,81±10,57 ^c	36,38±8,96 ^a
VP	19,57±2,93	39,64±1,61 ^{bc}	40,80±1,32 ^{ab}
WB	19,51±1,76	29,33±1,20 ^b	51,17±0,56 ^b
22BD	19,12±0,08	14,92±0,52 ^a	50,33±0,01 ^b
Cardo Coltivato			
BA	17,53±0,50 ^b	23,54±0,30 ^a	58,94±0,21 ^c
BE	18,66±0,94 ^b	30,20±3,42 ^{ab}	51,14±0,35 ^a
F.S.	11,82±0,09 ^a	34,39±0,41 ^b	51,71±0,29 ^a
MA	11,66±0,06 ^a	29,23±0,38 ^{ab}	57,23±0,33 ^b
Cardo selvatico			
CE	18,27±1,07	32,28±5,82	49,45±6,89
S	15,72±1,19	33,42±0,61	50,87±0,57
T	18,56±0,96	33,18±0,66	48,26±0,29
Ibridi carciofo/ cardo			
MG	13,98±0,02 ^c	32,09±0,10 ^c	52,10±0,11 ^b
RO	15,68±0,03 ^c	29,82±0,16 ^c	52,33±0,20 ^b
F1 103	12,21±0,05 ^a	28,74±0,08 ^b	56,53±0,09 ^c
F1 104	13,18±0,04 ^b	27,11±0,13 ^a	57,62±0,22 ^d
I	15,25±0,06 ^d	30,64±0,01 ^d	50,96±0,00 ^a

* media±SD. Anova, Tukey HSD Test; all'interno di ogni categoria di prodotti e per ogni composto, lungo le colonne medie seguite da lettere differenti sono significative ($P < 0,05$)

genotipi di cardo coltivato e selvatico. Bianco Avorio (BA) raggiunge il valore più alto in acido palmitico e linoleico tra i cardo coltivati, mentre tra i genotipi di cardo selvatico non si registrano differenze significative.

Raccuia *et al.* (2012) hanno caratterizzato 8 cultivar di cardo coltivato e 4 di cardo selvatico: gli acidi grassi insaturi erano predominanti rispetto ai saturi, in particolare, il più abbondante era l'acido linoleico. Curt *et al.* (2002) hanno descritto il profilo in acidi grassi di 18 genotipi di *Cynara cardunculus* L. trovando in media valori di 10,7% per acido palmitico, di 3,7% per l'acido stearico, di 25,0% per l'acido oleico e di 59,7% per l'acido linoleico; inoltre la variazione nella composizione in acidi grassi rispetto al luogo e all'anno di coltivazione risulta essere bassa (Curt *et al.* 2002).

Tra gli ibridi è stato trovato in media valori di 14,06% per l'acido palmitico, di 29,68% per l'acido oleico e di 53,91% per acido linoleico.

In tabella 3 sono riportati i valori di luteina e α -tocoferolo per i genotipi selezionati. Per i semi di carciofo i valori di luteina variano in un range da $2,00\pm 0,25$ a $7,27\pm 1,00$ $\mu\text{g/g}$ ss, mentre l' α -tocoferolo varia da $42,89\pm 5,43$ a $68,57\pm 1,65$ $\mu\text{g/g}$ ss. I genotipi Vert de Provence (VP) e Withe Bloomer (WB) raggiungono i valori tra i più alti sia per la luteina che per l' α -tocoferolo.

Tra i genotipi di cardo coltivato, i genotipi Bianco Avorio (BA) e Belgio (BE) mostrano un contenuto in luteina significativamente più alto, rispettivamente $6,16\pm 0,45$ $\mu\text{g/g}$ ss e $6,78\pm 0,94$ $\mu\text{g/g}$ ss, mentre per l' α -tocoferolo non si riportano differenze significative. Per i genotipi di cardo selvatico, non si rilevano differenze significative per la luteina e per l' α -tocoferolo.

Tra gli ibridi, i valori di luteina variano tra $1,51\pm 0,11$ a $1,81\pm 0,55$ $\mu\text{g/g}$ ss, mentre per l' α -tocoferolo Madrigal, F1 103, F1 104, raggiungono i valori più alti rispettivamente $78,46\pm 15,52$, $121,44\pm 9,02$ e $83,30\pm 20,63$ $\mu\text{g/g}$ ss.

Tab. 3 - Profilo in carotenoidi (luteina, α -tocoferolo) nei semi selezionati*.

Tab. 3 - Carotenoids profile (lutein, α -tocopherol) in selected seeds.

Prodotti	Luteina ($\mu\text{g/g}$ d.w.)	α -tocoferolo ($\mu\text{g/g}$ d.w.)
Carciofo		
BN	$2,77\pm 0,54^a$	$53,21\pm 7,47^{ab}$
CA	$2,00\pm 0,25^a$	$42,89\pm 5,43^a$
CYL	$5,46\pm 0,37^{bc}$	$49,00\pm 0,20^a$
F-19	$5,26\pm 0,05^{bc}$	$49,51\pm 3,05^a$
VP	$6,01\pm 1,01^{bc}$	$59,31\pm 5,79^{ab}$
WB	$7,27\pm 1,00^c$	$68,57\pm 1,65^b$
22BD	$4,47\pm 0,34^b$	$42,92\pm 2,20^a$
Cardo Coltivato		
BA	$6,16\pm 0,45^b$	$71,62\pm 4,63$
BE	$6,78\pm 0,94^b$	$69,09\pm 3,88$
F.S.	$1,62\pm 0,26^a$	$67,09\pm 11,03$
MA	$1,05\pm 0,12^a$	$105,60\pm 26,85$
Cardo selvatico		
CE	$4,90\pm 3,12$	$73,17\pm 13,05$
S	$6,77\pm 0,99$	$66,32\pm 8,43$
T	$5,48\pm 1,56$	$58,13\pm 10,93$
Ibridi carciofo/ cardo		
MG	$1,69\pm 0,17$	$78,46\pm 15,52^{a,b,c}$
RO	$1,81\pm 0,55$	$67,52\pm 4,05^b$
F1 103	$1,81\pm 0,03$	$121,44\pm 9,02^c$
F1 104	$1,69\pm 0,50$	$83,80\pm 20,63^{a,b,c}$
I	$1,51\pm 0,11$	$51,31\pm 6,86^a$

* media \pm SD. Anova, Tukey HSD Test; all'interno di ogni categoria di prodotti e per ogni composto, lungo le colonne medie seguite da lettere differenti sono significative ($P<0,05$).

Per i genotipi di carciofo, cardo coltivato e selvatico e tra per gli ibridi è stata rilevata una grande variabilità nel contenuto di α -tocoferolo.

Sono state inoltre valutate le proprietà antiossidanti (dati non mostrati). Tra i semi di carciofo, il genotipo Withe bloomer (WB) raggiunge i valori FRAP più alti sia nell'estratto acquoso-organico che nel residuo.

Tra i cardo coltivati, il genotipo Madrid (MA) raggiunge i valori FRAP e TEAC più bassi per entrambe le frazioni. Tra i cardo selvatici, il genotipo Siena (S) raggiunge i valori TEAC più alti in entrambe le frazioni e valori FRAP più alti nella frazione residuale.

Per gli ibridi i valori FRAP variano da $231,32\pm 17,99$ a $331,82\pm 12,30$ mmol/kg ss e da $159,80\pm 39,37$ a $391,48\pm 30,14$ mmol/kg ss rispettivamente per la frazione acquosa-organica e il residuo, mentre per i valori TEAC si riporta un range di $94,89$ - $123,51$ mmol/kg ss per l'estratto acquoso-organico e di $17,89$ - $32,08$ mmol/kg ss per il residuo.

Per il genotipo Romolo (RO), risultato interessante per le proprietà antiossidanti, è stata valutata e confrontata l'efficienza antiossidante totale dell'estratto acquoso-organico e della frazione residuale. Il modello sperimentale si basa sul probabile effetto protettivo di sostanze ad attività antiossidante contenute negli estratti aggiunti ad un modello sperimentale (pool di plasma umano) sottoposto a stress ossidativo con un iniziatore di radicali.

Nelle figure 1 e 2 sono espressi i valori di efficienza antiossidante totale misurata come FRAP del modello sperimentale (plasma) esposto a stress ossidativo continuo con ABAP $0,37$ mM in assenza (fig. 1) e in presenza di estratto acquoso-organico e residuo rispettivamente (fig. 2). Nel sistema plasma +ABAP non si osservano variazioni significative dei valori FRAP (fig. 1). Dopo 1 ora dall'aggiunta dell'estratto acquoso-organico al tempo T4, si nota un incremento significativo ($P<0,05$) della efficienza antiossidante

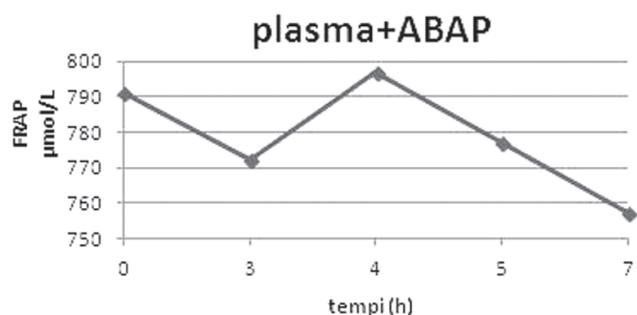


Fig. 1 - Efficienza antiossidante totale misurata come FRAP del sistema Plasma + ABAP. I valori rappresentano la media di tre repliche analitiche.

Fig. 1 - Total antioxidant efficiency measured as FRAP of system Plasma + ABAP.

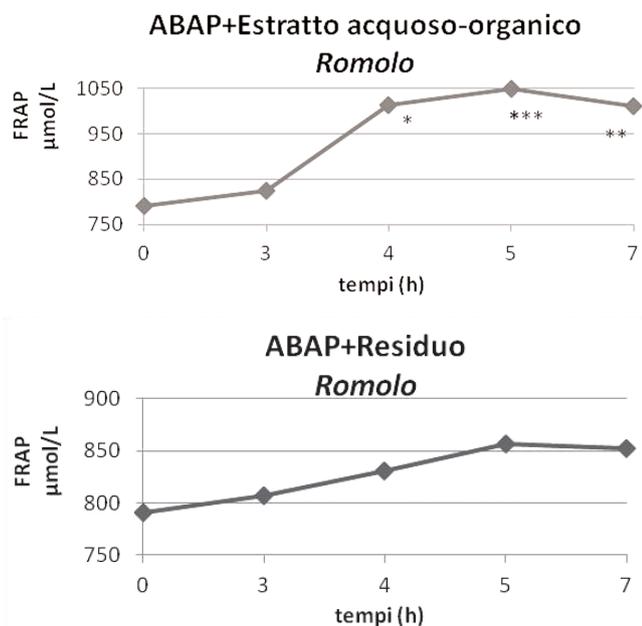


Fig. 2 - Efficienza antiossidante totale misurata come FRAP del sistema Plasma + ABAP+Estratto acquoso-organico e Plasma + ABAP +Residuo. I valori rappresentano la media di tre repliche analitiche; test Anova ad una via: variazione significativa rispetto a T0 *P<0,05, **P<0,01,*** P<0,001

Fig. 2 - Total antioxidant efficiency measured as FRAP of systems Plasma + ABAP+Aqueous-organic extract and Plasma + ABAP +Residue.

del sistema che raggiunge livelli superiori a T5 per poi ridiscendere a T7 (fig. 2). L'aggiunta della frazione residuale al sistema non influenza in maniera significativa l'efficienza antiossidante del modello (fig. 2).

Conclusioni

I nostri risultati indicano come i semi di carciofo e di cardo coltivato e selvatico, e gli ibridi, rappresentino una buona sorgente di acidi grassi essenziali e antiossidanti. In particolare, tra i genotipi analizzati Withe bloomer (WB), è risultato avere i semi tra i più ricchi in acido linoleico, luteina e α -tocoferolo e con buone proprietà antiossidanti. Confrontando i valori medi, dai nostri risultati non si evidenziano differenze significative tra il cardo coltivato e il tipo selvatico.

Riassunto

Il carciofo (*Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* L.), il cardo coltivato (*Cynara cardunculus* var. *altilis* DC.) e il cardo selvatico (*Cynara cardunculus* var. *sylvestris* L.) sono specie diffuse nell'area Mediterranea. Obiettivo di tale ricerca è stato la caratterizzazione biochimica di semi di genotipi di carciofo e di cardo coltivato e selvatico. A tale scopo sono

state valutate: 1) la resa in olio e la composizione in acidi grassi; 2) il profilo di carotenoidi; 3) la capacità antiossidante totale e l'efficienza antiossidante totale. Sia i semi di carciofo e cardo rappresentano una ricca sorgente di antiossidanti

Parole chiave: semi, acidi grassi, antiossidanti.

Bibliografia

- ACQUADRO A., PORTIS E., LEE D., DONINI P., LANTERI S., 2005. *Development and characterization of microsatellite markers Cynara cardunculus* L. Genome, 48:217-225.
- BENZIE I.F.F., STRAIN J.J., 1996. *The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay*. Analytical Biochemistry, 239:70-76.
- CURT M.D., SANCHEZ G., FERNANDEZ J., 2002. *The potential of Cynara cardunculus* L. for seed oil production in a perennial cultivation system. Biomass Bioenergy, 23:33-46
- DURAZZO A., TURFANI V., AZZINI E., MAIANI G. CARCEA M., 2012. *Phenols, lignans and antioxidant properties of legume and sweet chestnut flours*. Food Chemistry, In press. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.062>
- FALLEH H., KSOURI R., CHAIEB K., KARRAY-BOURAOUI N., TRABELSI N., BOULAABA M., ABDELLY C., 2008. *Phenolic composition of Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. Comptes Rendus Biologies, 331, 372-379.
- FERNANDEZ J., HIDALGO M., MONTE J.P., CURT M.D., 2000. *Cynara cardunculus* L. as a perennial crop for non irrigated lands: yields and applications. Int. Congress on Artichoke. Valenzano (Bari, Italy) 17-21/10/2000.
- FOLCH J., LEES M., SLOANE STANLEY G.H. J.P., 1957. *A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues*. The Journal of Biological Chemistry, 226:497-509.
- FOTI S., MAUROMICALE G., RACCUA S.A., FALLICO B., FANELLA F., MACCARONE E., 1999. *Possible alternative utilization of Cynara spp. I. Biomass, grain yield and chemical composition of grain*. Industrial Crops and Products, 10:219-228.
- GOMINHO J., LOURENCO A., PALMA P., LOURENCO M. E., CURT M. D., FERNANDEZ J., PEREIRA H., 2011. *Large scale cultivation of Cynara cardunculus* L. for biomass production – A case study. Industrial Crops and Products, 33:1-6.
- HASSANEIN M.M.M., EL-SHAMI S.M., EL-MALLAH M.H., 2011. *Investigation of lipids profiles of nigella, lupin and artichoke seed oils to be used as healthy oils*. Journal of Oleo Science, 60:99-107.
- LATTANZIO V., KROON P.A., LINSALATA V., CARDINALI A., 2009. *Globe artichoke: a functional food and source of nutraceutical ingredients*. Journal of Functional Foods, 1:131-144.
- LOTITO S.B. AND FRAGA C.G. 1998. *(+)-Catechin prevents human plasma oxidation*. Free Radic. Biol. Med. 24(3), 435-41.
- MACCARONE E., FALLICO B., FANELLA F., MAUROMICALE G., RACCUA S.A., FOTI S., 1999. *Possible alternative utilization of Cynara spp.: II. Chemical characterization of their grain oil*. Industrial Crops and Products, 10: 229-237.
- PULIDO R., BRAVO L., SAURA-CALIXTO F., 2000. *Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48:3396-3402.
- RACCUA S.A., MELILLI M.G., PISCIONERI I., SHARMA N., 2012. *Evaluation of fatty acids composition in grain oil of cardoon (Cynara Cardunculus L.)*. ISHS Acta Horticulturae 942: VII International Symposium on Artichoke, Cardoon and Their Wild Relatives.

- RACCUA S.A., MELILLI, M.G., 2007. *Biomass and grain oil yields in Cynara cardunculus L. genotypes grown in a Mediterranean environment*. Field Crops Research 101: 187-197.
- RE R., PELLEGRINI N., PROTEGGENTE A., PANNALA A., YANG M., RICE-EVANS C., 1999. *Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay*. Free Radical Biology and Medicine, 26:1231-1237.
- ROTTENBERG A., ZOHARY D., 2005. *Wild genetic resources of cultivated artichoke*. Acta Horticulturae, 681:307-311.
- SHARPLESS K.E., ARCE-OSUNA M., THOMAS J.B., GILL L.M., 1999. *Value assignment of retinol retinyl palmitate, tocopherol, and carotenoids concentration in standard reference material 2383 (baby food composite)*. J. AOAC., 82:288-296.
- SONNANTE G., PIGNONE D., HAMMER K., 2007. *The domestication of artichoke and cardoon: from Roman times to the genomic age*. Annals of Botany, 100:1095-1100.
- VALENTÃO P., FERNANDES E., CARVALHO F., ANDRADE P.B., SEABRA R.M., BASTOS M.L., 2002. *Antioxidative properties of cardoon (Cynara cardunculus L.) infusion against superoxide radical, hydroxyl radical, and hypochlorous acid*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50:4989-4993.
- WANG M., SIMON J.E., AVILES I.F., HE K., ZHENG Q., TADMOR Y., 2003. *Analysis of antioxidative phenolic compounds in artichoke (Cynara scolymus L.)*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51:601-608.