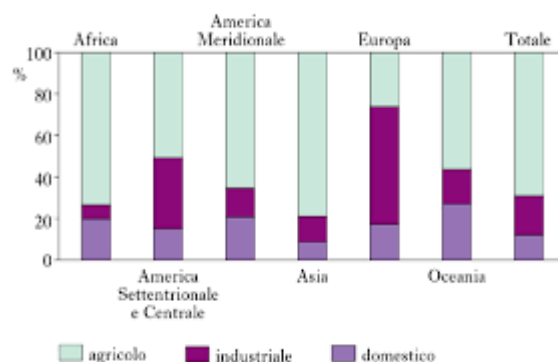
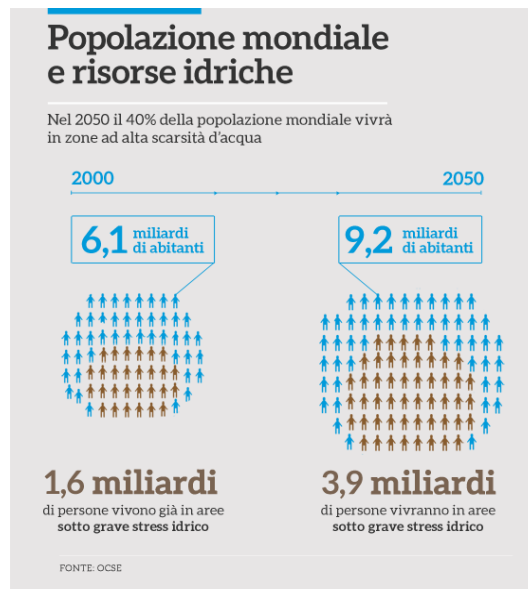


Introduzione

La relazione fra sviluppo e consumo di energia è dimostrata dal fatto che nel XIX secolo il tasso di incremento del consumo di acqua era il doppio rispetto al tasso di crescita della popolazione. L'OMS considera accettabile la disponibilità di 20 L di acqua pro capite al giorno entro un'area di residenza di 1 Km. Quantità più elevate di acqua dolce vengono utilizzate in campo industriale (~ 20 %) e ancor più in agricoltura per l'irrigazione (~ 70 %). Si prevede che la quantità di acqua per la coltivazione dei prodotti alimentari vegetali e per l'allevamento del bestiame sia destinata quasi a raddoppiare entro il 2050, rispetto al valore dell'anno 2000.



Questo incremento è in parte da attribuire alla crescita della popolazione, ma ancor di più all'aumento del consumo di proteine animali che accompagna lo sviluppo del benessere. L'impronta d'acqua (WATER FOOTPRINT) è definita come il volume di acqua necessario per produrre 1 Kg di prodotto. Ad esempio, quella della carne di manzo è di 15000 L/Kg, ovvero per ogni Kg di carne di manzo commestibile sono necessari complessivamente 15000 Kg di acqua per la coltivazione del foraggio consumato per la crescita del bestiame.

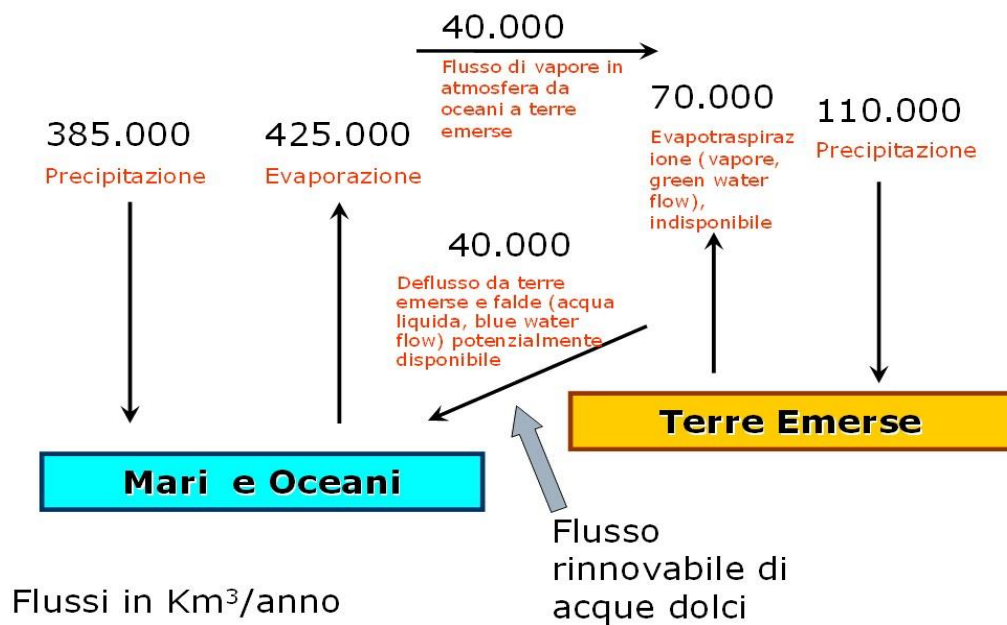


Diagramma semplificato dei flussi del sistema idrologico terrestre

Aspetti e unità di concentrazione della chimica dell'acqua

Le reazioni acido-base e i fenomeni di solubilità controllano la concentrazione degli ioni inorganici disciolti nelle acque, mentre il contenuto organico è influenzato dalle reazioni redox. La scala per parti riguardo a mezzi condensati (non gassosi) esprime il rapporto fra la massa del soluto e la massa della soluzione o del mezzo.

Parti per milione **ppm \equiv mg/L**

Parti per miliardo **ppb \equiv μ g/L**

Per le sostanze disciolte in un mezzo come il terreno o un campione biologico si usa la scala dei μ g (dell'elemento contaminante) per g (del mezzo).

Parti per milione **ppm \equiv μ g/g**

Parti per miliardo **ppb \equiv ng/g**

Solubilità dei gas e dei COV nell'acqua

I composti organici volatili (COV) disciolti nelle acque naturali possono evaporare progressivamente nell'aria dalla superficie del mezzo liquido; le medesime sostanze presenti nell'aria possono andare incontro a una parziale dissoluzione nelle acque naturali. Quando le due fasi della sostanza in questione raggiungono l'equilibrio, si può utilizzare la legge di Henry per determinare la concentrazione della sostanza presente nell'acqua dalla sua pressione parziale nell'aria.

C_6H_6 è in grado di dissolversi nella misura di circa 1 g per L, ovvero circa 1000 ppm.

$$[C_6H_6_{aq}] = K_H \cdot P_{C_6H_6}$$

$$P_{C_6H_6} = [C_6H_6_{aq}] / K_H$$

$$K_H = 0.18 \text{ mol L}^{-1} \text{ atm}^{-1}$$

$$[C_6H_6_{aq}] = 1 \text{ g L}^{-1} / 78.12 \text{ g mol}^{-1} = 0.013 \text{ mol L}^{-1}$$

$$P_{C_6H_6} = 0.013 \text{ mol L}^{-1} / 0.18 \text{ mol L}^{-1} \text{ atm}^{-1} = 0.07 \text{ atm}$$

La solubilità dei gas aumenta con il diminuire della temperatura. A $T = 25^\circ\text{C}$ K_H di O_2 è $1.3 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \text{ atm}^{-1}$. Nell'aria secca a livello del mare P_{O_2} è pari a 0.21 atm, per cui la solubilità risultante è 8.7 mg L^{-1} , ossia 8.7 ppm. A $T = 0^\circ\text{C}$ la quantità di O_2 che si scioglie è di 14.7 ppm; a $T = 35^\circ\text{C}$ è pari a 7 ppm. L'acqua di fiume o di lago, riscaldata in modo artificiale, subisce un inquinamento termico, poiché all'equilibrio contiene meno O_2 disciolto rispetto all'acqua più fredda proprio per la riduzione della solubilità con l'aumento della temperatura. Per mantenersi in vita, la maggior parte delle specie acquatiche necessita di un'acqua che contenga almeno 5 ppm di O_2 disciolto.

SPECIE ACQUATICA

Valori minimi di O_2 [ppm] consentiti

Fitoplancton / Zooplancton	10
Alghe	9
Celenterati	7
Molluschi	6
Crostacei (subphylum Artropodi)	6
Condroitti	5
Osteitti	5

BOD

La sostanza più comunemente ossidata dall'ossigeno disciolto nelle acque è il materiale organico di natura biologica. Considerando la materia organica come un carboidrato polimerico con formula empirica approssimata CH_2O , la reazione di ossidazione è $\text{CH}_2\text{O}_{(\text{aq})} + \text{O}_{2(\text{aq})} \rightarrow \text{CO}_{2(\text{g})} + \text{H}_2\text{O}_{(\text{aq})}$. O_2 disciolto è inoltre consumato nell'ossidazione di NH_3 e di NH_4^+ a NO_3^- .

L'acronimo BOD (Biochemical Oxygen Demand) indica la capacità della materia organica e biologica, presente in un campione di acqua naturale, di consumare O_2 , con un processo catalizzato dai batteri presenti. Il valore di BOD viene valutato sperimentalmente determinando la differenza fra la concentrazione di O_2 disciolto rilevata all'inizio e quella rilevata alla fine di un periodo di tempo durante il quale un campione di acqua sigillato, in cui sono immersi dei batteri, viene mantenuto in ambiente buio a $T = 20 \div 25^\circ\text{C}$. Il parametro pH viene mantenuto neutro usando una soluzione tampone costituita da due ioni di H_3PO_4 , ossia H_2PO_4^- e HPO_4^{2-} :

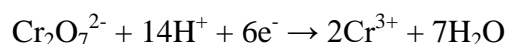


BOD equivale alla quantità di O_2 consumato durante questo periodo, come risultato del processo di ossidazione batterica subito dalla materia organica presente nel campione. La reazione viene fatta procedere per cinque giorni prima di valutare l'ossigeno residuo. La domanda di O_2 determinata con tale test, spesso indicata con BOD_5 , corrisponde a circa 80 % di quella ottenuta se l'esperimento fosse protratto per un tempo più lungo.

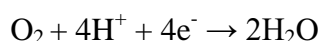
Nei paesi industrializzati la media di BOD per un'acqua superficiale non inquinata è di circa 0.7 mg L^{-1} , valore inferiore alla solubilità massima di O_2 in acqua (8.7 mg L^{-1} a 25°C). Per le acque reflue i valori di BOD sono dell'ordine di centinaia di mg di O_2 per L : infatti, l'acqua inquinata da sostanze organiche (escrementi animali, rifiuti alimentari o liquami) ha una domanda di ossigeno che eccede la massima solubilità all'equilibrio dell'ossigeno disciolto. In questo caso l'acqua, a meno che non venga costantemente aerata, perde rapidamente il proprio O_2 fino a causare la morte dei pesci che vivono in tale ambiente.

COD

Un metodo più rapido di determinazione della domanda di O₂ di un campione d'acqua consiste nel trattare il campione con un potente agente ossidante, così da ottenere la sua domanda chimica di ossigeno COD (Chemical Oxygen Demand). Lo ione dicromato Cr₂O₇²⁻ può essere disciolto come uno dei suoi sali (K₂Cr₂O₇) in H₂SO₄: il risultato è un potente agente ossidante. È proprio questa miscela, più che O₂, a essere utilizzata per determinare i valori di COD. la semireazione di riduzione per il dicromato nell'ossidazione della materia organica è:



Al campione viene aggiunto dicromato in eccesso e la soluzione che ne risulta viene retrotitolata con Fe²⁺ al punto finale. Le moli di O₂ che il campione consuma per ottenere l'ossidazione del medesimo materiale è pari a 1.5 volte il numero di moli di dicromato, dato che il dicromato accetta 6 e⁻ per ogni ione, mentre O₂ ne accetta solo 4:



Pertanto il numero di moli di O₂ necessario per l'ossidazione è 1.5 volte il numero di moli del dicromato utilizzato.

Esempio

Nella titolazione sono necessari 4.0 mL di una soluzione di dicromato 0.0020 M, per cui le moli di dicromato sono pari a

$$0.0020 \text{ mol / L} \cdot 0.0040 \text{ L} = 8.0 \cdot 10^{-6} \text{ mol}$$

Ciascuna mole di dicromato con la riduzione accetta 6 mol di e⁻, per cui le moli di e⁻ nel caso in esame sono

$$6 \cdot 8.0 \cdot 10^{-6} \text{ mol} = 4.8 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$$

Se invece la sostanza è ossidata da O₂, poiché ogni mole di O₂ richiede 4 moli per la riduzione, si dividono le moli disponibili degli e⁻ per 4, così da ottenere le moli delle molecole di O₂ in grado di reagire, per cui le moli di O₂ sono date da

$$\text{moli di e}^- / 4 = 4.8 \cdot 10^{-5} \text{ mol} / 4 = 1.2 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$$

si ottiene così lo stesso risultato che si ha moltiplicando le moli di dicromato per 1.5:

$$1.5 \cdot 8.0 \cdot 10^{-6} \text{ mol}_{\text{dicromato}} = 1.2 \cdot 10^{-5} \text{ mol}_{\text{ossigeno}}$$

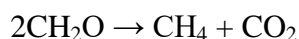
La difficoltà che si incontra utilizzando l'indice COD è da attribuire al fatto che il dicromato acidificato è un ossidante talmente forte da ossidare le sostanze che consumano molto lentamente l'ossigeno presente nelle acque naturali e che quindi non costituiscono una minaccia reale per l'ossigeno in esse disciolto. Il dicromato ossida quelle sostanze che, nella determinazione di BOD, non sarebbero ossidate dall'ossigeno. A causa di questa eccessiva ossidazione, che comporta la trasformazione della materia organica stabile (come la cellulosa) in CO_2 e Cl^- in Cl_2 , il valore COD di un campione d'acqua risulta leggermente superiore al suo valore BOD. Nessuno dei due metodi d'analisi porta all'ossidazione degli idrocarburi aromatici o di molti alcani, che in ogni caso resistono alla degradazione, e quindi al consumo di ossigeno, nelle acque naturali.

TOC e DOC

Per identificare la materia organica disciolta e quella sospesa nelle acque naturali viene usata la concentrazione del carbonio organico totale (TOC). La concentrazione TOC ha in genere un valore di circa 1 mg / L, ossia 1 ppm di carbonio, per le acque di falda. Il parametro carbonio organico disciolto (DOC) viene usato per identificare solo la materia organica che è effettivamente disciolta, e non quella sospesa. Il valore DOC per le acque superficiali è in media di circa 5 ppm, sebbene le paludi e gli acquitrini possano presentare valori DOC dieci volte superiori (50 ppm), mentre DOC delle acque reflue non trattate spesso arriva a valori pari a centinaia di ppm. La componente più rilevante di carbonio organico nelle acque naturali è costituita da carboidrati, proteine, aldeidi a basso peso molecolare, chetoni e acidi carbossilici. Gli acidi organici forti presenti nelle acque sono capaci di agire in combinazione con gli acidi inorganici forti per mobilizzare lo ione alluminio nei laghi colpiti dal fenomeno delle piogge acide.

Decomposizione della materia organica nell'acqua

La materia organica disciolta nell'acqua può andare incontro a decomposizione in condizioni anaerobiche (assenza di ossigeno) solo in presenza di batteri specifici. Le condizioni anaerobiche sono presenti in modo naturale nelle acque stagnanti, come le paludi o il fondale dei laghi, o in zone oceaniche profonde. I batteri agiscono sul carbonio organico in modo da renderlo sproporzionato:

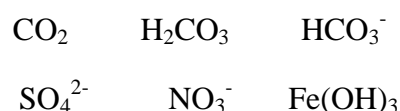


Si tratta di FERMENTAZIONE, ossia una reazione in cui sia gli agenti ossidanti che quelli riducenti sono rappresentati da materia organica. CH_4 è pressoché insolubile in acqua, per cui si presenta in forma di bolle che emergono sulla superficie degli acquitrini e che talvolta prendono fuoco. La reazione di sopra avviene nei digestori utilizzati dagli abitanti delle zone rurali in via di sviluppo dei paesi subtropicali per convertire i rifiuti animali in gas metano da impiegare come combustibile. La reazione avviene anche nelle discariche pubbliche.

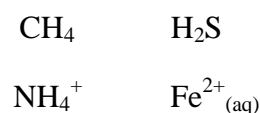
Le condizioni anaerobiche sono di tipo riducente, per cui i composti insolubili contenenti Fe^{3+} presenti nei sedimenti sul fondale vengono convertiti dalla riduzione in composti solubili Fe^{2+} che finiscono poi per dissolversi nelle acque.

È frequente trovare condizioni aerobiche e anaerobiche contemporaneamente in zone differenti del medesimo bacino, in particolare nel periodo estivo, durante il quale si verifica il fenomeno della stabilizzazione dei vari strati d'acqua.

Condizioni aerobiche (acqua calda)



Condizioni anaerobiche (acqua fredda)



L'acqua degli strati superficiali è riscaldata per assorbimento della luce solare, mentre quella che si trova al di sotto del livello di penetrazione dei raggi rimane fredda. L'acqua calda è meno densa di quella fredda (a $T > 4^\circ\text{C}$), per cui gli strati superiori fluttuano su quelli sottostanti freddi e fra essi si verifica solo un piccolo scambio termico. Lo strato superiore (epilimnio) contiene livelli di O_2

disciolto prossimi alla saturazione, dovuti sia al contatto con l'aria sia alle alghe che effettuano la fotosintesi (fototrofi). Date le condizioni aerobiche dello strato superiore, i vari elementi sono presenti nella loro forma più ossidata. In prossimità dei fondali (ipolimnio) l'acqua risulta povera di O_2 per l'assenza di un contatto con l'aria e per il fatto che questo viene consumato durante il processo di decomposizione del materiale biologico. In presenza di tali condizioni, i vari elementi sono presenti nella loro forma più ridotta. Le condizioni anaerobiche non permangono indefinitamente. Nel periodo invernale la T dello strato superiore viene abbassata dall'aria fredda, per cui l'acqua in superficie risulta ricca di O_2 e diventa più densa di quella sottostante: per gravità si verifica una miscelazione fra gli strati. Durante l'inverno e all'inizio della primavera l'ambiente in prossimità dei fondali risulta aerobico. Tale fenomeno è detto OMEOSTASI dell'ANAEROBIOSI.

Disinfezione per ridurre il rischio di malattie infettive

In termini di rischio di causare una malattia acuta e persino la morte, i contaminanti di natura biologica presenti nell'acqua hanno quasi sempre una maggiore importanza rispetto ai contaminanti chimici. La disinfezione è il processo di eliminazione dei microrganismi patogeni. Molti microrganismi sono presenti nelle acque grezze in seguito a contaminazione da parte delle feci e delle urine umane e animali. I più rilevanti sono:

BATTERI (microrganismi procarioti), fra cui quelli appartenenti al genere Salmonella, una cui specie provoca la febbre tifoide. Questa categoria comprende anche Escherichia coli O157:H7, la cui trasmissione attraverso l'acqua ha provocato negli anni recenti numerose morti, compresa un'epidemia a Walkerton (Ontario) nel 2000.

VIRUS (agenti infettanti subcellulari), fra cui i virus della poliomielite, i virus dell'epatite A e il virus Norwalk.

PROTOZOI (microrganismi eucarioti unicellulari), fra cui Cryptosporidium e Giardia lamblia.



·OH

Il radicale ·OH è un composto di grande interesse nell'ambito di numerose discipline scientifico-tecnologiche:

Campo medico. È riconosciuto che le specie reattive dell'ossigeno (Reactive oxygen species, ROS) sono coinvolte nella patofisiologia di alcune malattie attraverso la rottura dell'omeostasi negli organismi viventi. Tra queste specie la più reattiva e, di conseguenza, la più pericolosa è il radicale ·OH. Negli organismi viventi, quando la produzione di ROS è superiore alle naturali difese antiossidanti, possono avere luogo reazioni radicaliche a catena; i radicali coinvolti attaccano le macromolecole biologiche, danneggiando le cellule e inducendo varie malattie, come ad esempio, l'ischemia, l'epatite, il morbo di Parkinson e Alzheimer, l'artrite reumatoide, l'ischemia cerebrale e l'ictus.

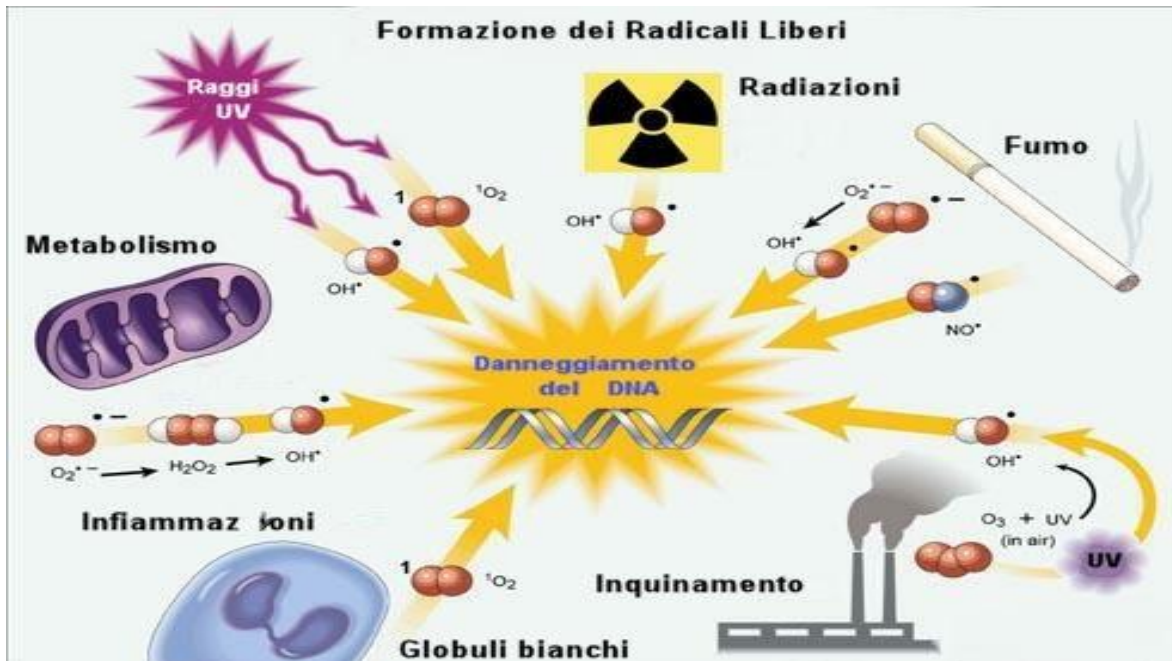
Processi depurativi. La capacità ossidante del radicale ·OH è utilizzata nei processi di depurazione per ottenere la mineralizzazione della componente inquinante organica. Tra le reazioni più impiegate in questo settore è la reazione di Fenton nelle sue varie modalità di esecuzione come, ad esempio, quella fotoindotta, l'ozonazione semplice, la fotolisi dell'ozono, la sonolisi e i processi fotocatalizzati da semiconduttori inorganici.

Ambito ambientale. ·OH è il radicale libero più reattivo che viene prodotto nell'ambiente, solitamente per via fotochimica. Esso svolge un ruolo di primissimo piano nella chimica atmosferica. Nella troposfera è l'agente ossidante primario responsabile della rimozione della maggior parte dei componenti gassosi presenti in tracce, come il metano ed altri idrocarburi, CO, H₂ e composti alogenati. Nella stratosfera il radicale ·OH ossida NO_x, HCl, e HBr, rispettivamente a HNO₃, a ClO_x e a BrO_x, che sono facilmente eliminabili attraverso deposizione umida. Infine, negli strati più superficiali dell'ambiente marino, la produzione del radicale ·OH, collegata all'azione di altri ROS, può portare a condizioni di stress ossidativo per le specie acquatiche.

Sicurezza. Numerosi materiali di dimensioni nanometriche, sia organici che inorganici, mostrano effetti citotossici collegati alla loro capacità di produrre ROS, se fotostimolati. La maggiore tossicità rispetto ai materiali massivi è dovuta alla maggiore area superficiale specifica che comporta maggiori disponibilità biologica e capacità catalitica nella produzione di queste specie.

La determinazione della concentrazione del radicale $\cdot\text{OH}$ risulta di notevole importanza in molti settori strategici. Tuttavia l'elevatissima reattività di $\cdot\text{OH}$ fa sì che in moltissime matrici la sua concentrazione sia bassissima e, di conseguenza, la determinazione diretta risulti difficile. Per esempio, la risonanza paramagnetica elettronica (EPR) non può essere utilizzata in vivo a tale scopo, poiché la concentrazione di stato stazionario del radicale $\cdot\text{OH}$ è inferiore al limite di rivelabilità, per effetto delle reazioni con gli scavenger, naturalmente presenti. In molte matrici l'unica possibilità per determinare il radicale $\cdot\text{OH}$ è l'utilizzo di una molecola sonda, che reagisca velocemente con $\cdot\text{OH}$ ed entri in competizione con gli scavenger. Le molecole sonda utilizzate sono, solitamente, composti aromatici di natura fenolica quali, ad esempio, l'acido salicilico. Attraverso lo studio delle cinetiche di consumo della molecola sonda o delle cinetiche di formazione di prodotti specifici, è possibile risalire alla produzione di radicale $\cdot\text{OH}$ e alla sua concentrazione. Il monitoraggio di tali cinetiche può avvenire attraverso l'uso di diverse tecniche analitiche, quali ad esempio EPR, la cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC) accoppiata a un rivelatore elettrochimico (HPLC-EC), la gas cromatografia accoppiata alla spettroscopia di massa (GC-MS), l'elettroforesi capillare (EC) e la chemiluminescenza. Nelle principali metodiche la prima fase di reazione della molecola sonda con $\cdot\text{OH}$ è seguita da una fase di separazione cromatografica o elettroforetica, il che rende l'intero processo analitico piuttosto complesso, lungo da eseguire ed economicamente dispendioso. Recenti pubblicazioni scientifiche hanno mostrato come l'utilizzo di un approccio elettroanalitico possa semplificare la procedura di rilevazione, attraverso una determinazione delle specie sonda interessate direttamente nella matrice di interesse o attraverso il loro ancoraggio sulla superficie elettrodica.

I Radicali Liberi



Con il termine di radicale libero si intende una specie chimica che presenta uno o più elettroni spaiati. Considerando che le configurazioni elettroniche più stabili prevedono un numero pari di elettroni per molecola, con due elettroni di spin opposto per ogni orbitale, ne risulta che i radicali siano solitamente specie altamente instabili. I radicali liberi presentano inoltre le seguenti caratteristiche:

Possedere una grande reattività chimica, con costanti cinetiche di reazione che possono raggiungere il limite della diffusione (circa $10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$).

Essere coinvolti, solitamente, in reazioni a catena.

Avere carica neutra, positiva o negativa, a seconda della specie.

ROS: Specie reattive dell'ossigeno

Con il termine ROS (reactive oxygen species), utilizzato solitamente in ambito biologico, si intendono quelle specie chimiche molto reattive che contengono ossigeno nei suoi diversi stati di ossidazione. I ROS comprendono il radicale superossido (O^{2-}), l'ossigeno molecolare nello stato di singoletto (1O_2), l'acqua ossigenata (H_2O_2), l'ozono (O_3), i radicali alchil alcossidici ($RO\cdot$) ed alchil perossidici ($ROO\cdot$), etc.. Queste specie vengono comunemente prodotte dal metabolismo degli organismi viventi, solitamente durante quei processi che portano a un cambiamento dello stato di ossidazione di un atomo di ossigeno, come la fotosintesi clorofilliana e la respirazione aerobica. Di conseguenza la loro produzione è direttamente collegata alla concentrazione di O_2 .

La condizione in cui la produzione e l'accumulo di ROS supera la capacità di un organismo di estinguere queste specie viene definita con il termine di stress ossidativo. Questa condizione, se persiste, può danneggiare:

Lipidi. L'attacco dei ROS, in particolare del radicale $\cdot OH$, sui lipidi porta alla formazione di aldeidi e idrocarburi ed alla variazione del grado di saturazione dei lipidi stessi, da cui dipende il grado di fluidità delle membrane cellulari, che a sua volta può portare alla lisi cellulare. Inoltre la perossidazione lipidica nei mitocondri è altamente citotossica, presenta effetti multipli sull'attività enzimatica, sulla produzione di ATP e può condurre all'apoptosi.

Proteine. L'attacco ossidativo dei ROS sulle proteine conduce a modifiche selettive degli amminoacidi, alla frammentazione della catena peptidica ed all'alterazione della carica elettrostatica. La struttura primaria, secondaria e terziaria di una proteina determina la probabilità che ogni amminoacido venga attaccato dai diversi ROS. Un'ampia gamma di molecole proteiche viene danneggiata o degradata dai ROS ed il loro accumulo all'interno della cellula contribuisce, probabilmente, al processo di invecchiamento.

DNA. I ROS possono indurre numerosi danni al DNA causando cancellazioni, mutazioni ed effetti genetici letali. Sia le basi azotate che i frammenti di desossiribosio possono ossidarsi, portando così alla perdita di informazione genetica, alla rottura del filamento e alla formazione di legami con altre macromolecole, quali ad esempio le proteine. In vitro l'acqua ossigenata e l'ossigeno molecolare non sono in grado di causare la rottura dei filamenti in normali condizioni fisiologiche, quindi la loro tossicità in vivo è il risultato delle reazioni di tipo Fenton, che avvengono in presenza di metalli di transizione.

Un prolungato stress ossidativo è, solitamente, collegato a numerose patologie quali l'ischemia, l'epatite, il morbo di Parkinson e Alzheimer, l'artrite reumatoide, l'ischemia cerebrale e l'ictus.

Tuttavia i ROS, se presenti in quantità limitata, sono in grado di svolgere alcune specifiche funzioni cellulari. Ad esempio, è stato proposto che il livello di ROS, che è regolato dal sistema antiossidante delle cellule, possa funzionare come secondo messaggero svolgendo un ruolo importante nell'espressione di alcuni fattori di trascrizione, come il fattore che induce shock termico, i fattori nucleari, il gene *p53*, la chinasi proteica attivata dal mitogeno e il gene *oxyR*. Infine i ROS svolgono un ruolo importante nella autodifesa delle piante contro agenti patogeni esterni.

Il Radicale Ossidrile

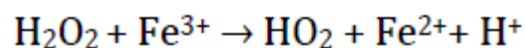
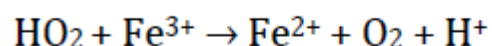
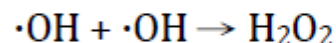
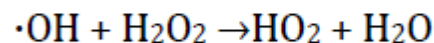
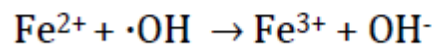
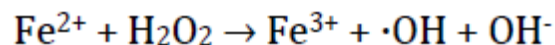
Il radicale $\cdot\text{OH}$ è il più reattivo tra i radicali dell'ossigeno, a causa di un'elevata elettroaffinità e un elevato potere ossidante ($E^\circ = + 2.73 \text{ V}$). Di conseguenza, la sua reattività si esplica principalmente in attacchi elettrofili, solitamente poco selettivi, a siti ricchi di elettroni, con reazioni di estrazione di idrogeno, di addizione al doppio legame o di trasferimento elettronico. pK_a di $\cdot\text{OH}$ è paragonabile a quello dell'acqua ($\text{pK}_a = 11.8$) e quindi la specie $\cdot\text{O}^-$ non riveste un ruolo importante nella maggior parte delle condizioni.

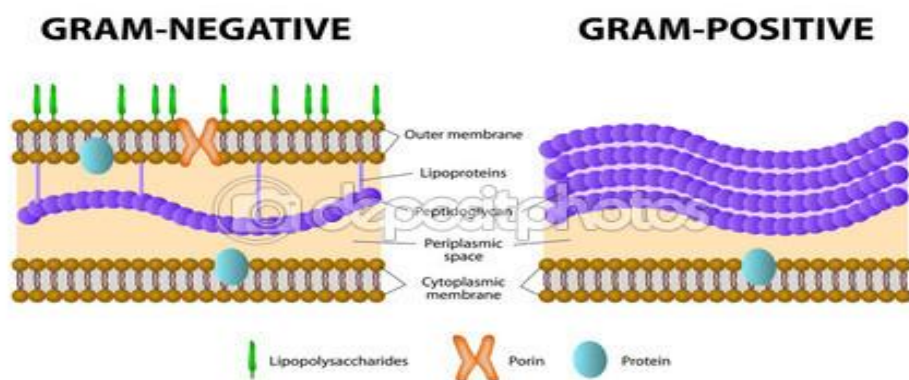
Le costanti cinetiche delle reazioni del radicale $\cdot\text{OH}$ con varie molecole biologiche (riportate in Tabella) mostrano come le velocità di questi processi siano in molti casi vicine al limite ($10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) rappresentato dalla velocità della diffusione. Questo fa sì che il radicale abbia un tempo medio di vita ($10^{-10} \div 10^{-7} \text{ s}$) e una distanza media di diffusione molto esigui (4.5 nm).

Il radicale $\cdot\text{OH}$ viene, di solito, generato dalla rottura del legame O-O di perossidi, attraverso:

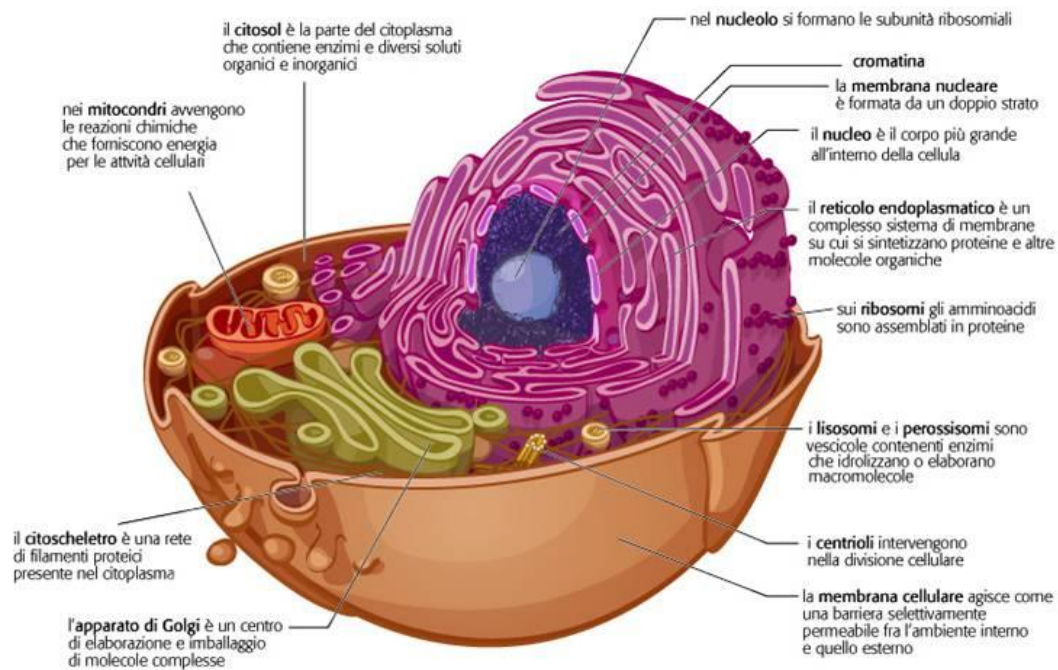
Fotolisi di H_2O_2 . Come tutti i perossidi, H_2O_2 può assorbire la radiazione UV. La specie eccitata, così ottenuta, può decomporsi liberando due radicali $\cdot\text{OH}$.

Reazioni di tipo Fenton. Le reazioni di tipo Fenton sono reazioni che portano alla formazione di specie ossigenate reattive in presenza di acqua ossigenata e ioni di metalli di transizione quali, ad esempio Fe, Cu e Ti. Il meccanismo con cui decorrono prevede numerose reazioni elementari:





Reazione	Costante cinetica di reazione ($M^{-1} s^{-1}$)
$\cdot OH + \text{Glucosio} \rightarrow \text{prodotti ossidati} + H_2O$	1.5×10^9
$\cdot OH + \text{Galattosio} \rightarrow \text{prodotti ossidati} + H_2O$	2.0×10^9
$\cdot OH + \text{Glicina} \rightarrow \text{prodotti ossidati} + H_2O$	1.7×10^9
$\cdot OH + \text{DNA} \rightarrow \text{prodotti ossidati} + H_2O$	4.0×10^8
$\cdot OH + \text{RNA} \rightarrow \text{prodotti ossidati} + H_2O$	9.3×10^8
$\cdot OH + \text{Uracile} \rightarrow \text{prodotti ossidati} + H_2O$	4.0×10^9
$\cdot OH + \text{Laccasi} \rightarrow \text{prodotti ossidati} + H_2O$	1×10^{10}
$\cdot OH + \text{acido salicilico} \rightarrow \text{prodotti ossidati} + H_2O$	2×10^{10}
$\cdot OH + \text{acido ascorbico} \rightarrow \text{prodotti ossidati} + H_2O$	8.2×10^9



Inoltre il radicale $\cdot\text{OH}$ può essere prodotto in acqua con l'utilizzo di:

Ultrasuoni. Le onde ad ultrasuoni generano condizioni locali di alta temperatura e pressione che possono portare alla rottura dei legami dell'acqua e alla conseguente formazione di $\cdot\text{OH}$ e $\cdot\text{H}$.

Radiazioni ad alta energia. Radiazioni elettromagnetiche con energia superiore a 7 eV possono portare all'eccitazione o alla ionizzazione dell'acqua con successiva produzione di radicali $\cdot\text{OH}$.

Determinazione del Radicale Ossidrilile

Quando si parla di metodi per la rivelazione del radicale $\cdot\text{OH}$, è necessario ricordare che per la sua reattività e la presenza di scavenger la concentrazione di stato stazionario è estremamente bassa, anche se la velocità di produzione è molto elevata. Il fatto che $\cdot\text{OH}$ assorba solamente nel lontano ultravioletto, non permette una determinazione spettrofotometrica. Anche la determinazione diretta tramite EPR non risulta possibile in molti campioni reali, quali ad esempio i campioni biologici, perché il limite di rivelabilità supera la concentrazione di stato stazionario. L'unica possibilità per rilevare la presenza di $\cdot\text{OH}$ è l'utilizzo di molecole sonda che, reagendo con il radicale, formino prodotti con caratteristiche chimico-fisiche che consentano di mettere a punto metodologie analitiche altamente sensibili. Quando la reazione avviene in un ambiente dove sono presenti substrati che competono con la molecola sonda, la concentrazione del prodotto caratteristico, cioè quello su cui si basa la determinazione analitica, è data dall'equazione:

$$[\text{prodotto caratteristico}] = [\text{OH}] \times \eta \times \frac{k_p [\text{sonda}]}{k_p [\text{sonda}] + k_m [\text{matrice}]}$$

dove [prodotto caratteristico] è la concentrazione del prodotto ottenuto dalla reazione tra $\cdot\text{OH}$ e la molecola sonda con resa η , mentre [sonda] è la concentrazione della molecola sonda e il termine $k_m[\text{matrice}]$ rappresenta la quantità di $\cdot\text{OH}$ che ha reagito con gli altri componenti del campione. La determinazione di $\cdot\text{OH}$ è comunque difficile, anche con i metodi indiretti, perché da un lato la molecola sonda è in competizione con altri composti presenti nella matrice, il che comporta una perdita di $\cdot\text{OH}$ con conseguenti effetti negativi sul limite di rilevabilità, dall'altro, per una stima numerica accurata, è necessario conoscere la quantità di $\cdot\text{OH}$ sottratta dalla matrice. L'ossidrilazione aromatica è sicuramente la reazione più utilizzata per la determinazione del radicale $\cdot\text{OH}$. Numerosi composti sono stati proposti come molecole sonda per la rivelazione del radicale $\cdot\text{OH}$. Tra questi possiamo citare la fenilalanina che, essendo presente in tutte le proteine, può essere utilizzata come marker interno, la tirosina, l'acido tereftalico, l'acido salicilico e, infine, l'acido 4-idrossibenzoico. Per stabilizzare i prodotti ottenuti dall'attacco di $\cdot\text{OH}$, è necessario uno step di ossidazione che può essere effettuato da O_2 , naturalmente presente nel sistema, o da un ossidante appositamente aggiunto, come ad esempio IrCl_6 o $\text{Fe}(\text{CN})_6$.

I prodotti caratteristici che si formano dalla reazione tra la molecola sonda e $\cdot\text{OH}$ possono essere rilevati con diverse tecniche analitiche quali, ad esempio, la cromatografia liquida ad alta prestazione accoppiata a un rivelatore elettrochimico (HPLC-EC), la gas cromatografia accoppiata alla spettroscopia di massa (GC-MS) o l'elettroforesi capillare (EC). La determinazione di $\cdot\text{OH}$ utilizzando come sonda l'acido p-idrossibenzoico è stata effettuata direttamente per via elettrochimica, ma la presenza di numerosi substrati ossidabili o riducibili, specialmente quando si analizzano matrici biologiche, impedisce una larga applicazione.

Una classe alternativa di molecole sonda utilizzata è data dagli "spin traps", come il 5,5-dimetil-1-pirrol-N-ossido, che reagendo con $\cdot\text{OH}$ formano addotti che presentano ancora elettroni spaiati e possono, quindi, essere rilevati con l'EPR. Questa metodica è più semplice e non necessita della separazione cromatografica, ma è necessario ricordare che questi composti non sono specifici per $\cdot\text{OH}$, poichè reagiscono con altri radicali, come il radicale superossido, e non si adattano a misurazioni in vivo, in quanto tossici. Infine la rivelazione indiretta del radicale $\cdot\text{OH}$ è stata effettuata con elettrodi modificati con un monostrato autoassemblato (self assembled monolayer, SAM) di alcan tioli o con frammenti di DNA. L'elettrodo è stato sottoposto all'attacco di radicali $\cdot\text{OH}$, generati con reazione di Fenton, e la quantità di modificante elettrodo, che si è deteriorata, è stata valutata con un'apposita metodologia elettrochimica. Questo approccio permette di evitare la separazione cromatografica o elettroforetica che è utilizzata nei metodi tradizionali, in quanto la specie sonda è direttamente legata alla superficie dell'elettrodo.

Composti antiossidanti

I composti antiossidanti rappresentano le autodifese degli organismi viventi contro i ROS. Per antiossidante si intende una qualsiasi specie che, presente in concentrazione molto inferiore a un substrato ossidabile, sia in grado di poter rallentare o inibire il processo ossidativo che porta alla degradazione di quel particolare substrato. Benchè utilizzato soprattutto in ambito biologico, il concetto di antiossidante può essere esteso a tutti quei materiali o composti che preservano altri dall'azione ossidante dell'ossigeno atmosferico. Ad esempio, il ferro negli acciai viene protetto dall'ossidazione grazie all'aggiunta di cromo e di nichel che formano sulla sua superficie una pellicola protettiva di ossido; inoltre, in tutti i materiali polimerici sono presenti additivi che hanno lo scopo di proteggerli dall'azione ossidante delle radiazioni e dell'ossigeno atmosferico .

In campo biologico può essere effettuata una classificazione dei diversi composti antiossidanti in base alla loro provenienza e al loro meccanismo di azione nel proteggere il substrato ossidabile.

In base alla provenienza possiamo distinguere:

Antiossidanti endogeni. Sono composti prodotti naturalmente dal nostro organismo che non necessitano di essere assunti con l'alimentazione.

Antiossidanti esogeni. Sono composti che il nostro organismo non è in grado di produrre autonomamente e che, quindi, siamo costretti ad assumere con l'alimentazione.

In base al meccanismo di azione nel prevenire l'effetto dannoso dei ROS, possiamo suddividere gli antiossidanti come:

Antiossidanti primari o chain-breaking. Questa tipologia di antiossidanti reagisce direttamente con le specie radicaliche, bloccando le reazioni di propagazione.

Antiossidanti secondari o preventivi. Questi antiossidanti riducono la velocità della reazione di iniziazione.

I principali composti antiossidanti sono la vitamina E, l'acido ascorbico, il carotene, i flavonoidi, i polifenoli, e la superossido dismutasi. La maggior parte di questi composti, reagendo con i ROS, forma un radicale piuttosto stabile che blocca le reazioni di propagazione, quindi appartiene alla classe degli antiossidanti primari.

Determinazione del potere antiossidante

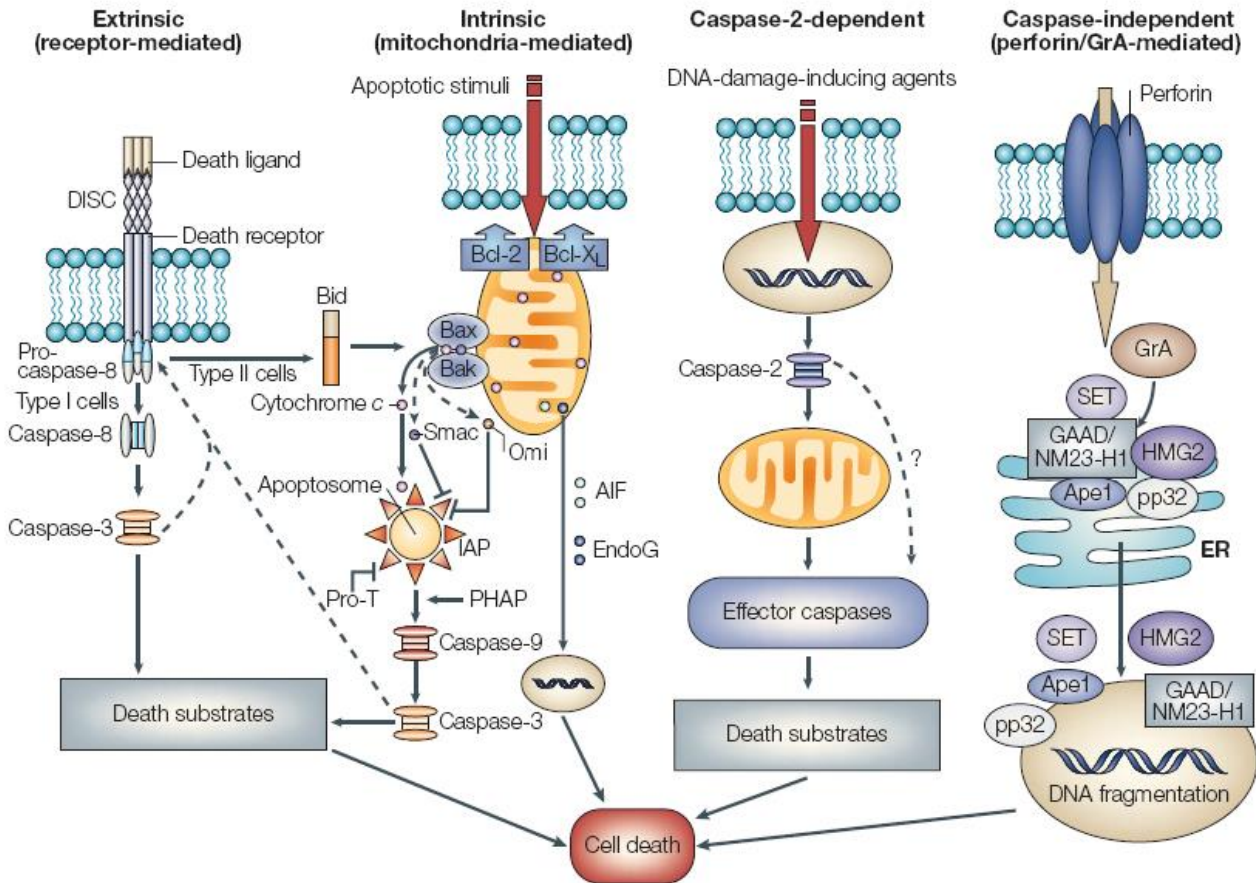
Gli studi clinici ed epidemiologici hanno stabilito una correlazione inversa tra il consumo di frutta e verdura e la frequenza nell'insorgenza di malattie cardiovascolari, di infiammazioni, di neoplasie e di disordini dovuti all'età. Gli antiossidanti esogeni presenti in questi alimenti sono i nutrienti responsabili della protezione dallo stress ossidativo e dalle malattie ad esso correlate. Il potere antiossidante è un parametro importante per una corretta valutazione della qualità degli alimenti, sia per fini nutrizionistici che di ricerca. Di conseguenza, lo sviluppo di metodologie adeguate per la sua determinazione ha trovato ampio spazio nelle recenti pubblicazioni scientifiche.

Per la complessità compositiva dei vari alimenti, la separazione di ogni antiossidante ed il successivo studio individuale sono costosi e poco efficienti e non permettono una valutazione degli effetti sinergici. Di conseguenza la determinazione del potere antiossidante viene condotta in modo tale da poterlo esprimere come dato complessivo, analizzando direttamente l'alimento opportunamente trattato.

Le principali metodiche per la determinazione del potere antiossidanti sono solamente menzionate:

Saggio **ABTS**; Metodo **DPPH**; Saggio **ORAC**; Saggio **FRAP**.

Apoptosi. Morte cellulare programmata



Le due modalità di morte cellulare sono la necrosi, ossia la morte dovuta a danno genetico o strutturale, e l'apoptosi, la morte programmata. La necrosi si manifesta come fenomeno infiammatorio localizzato, mentre l'apoptosi è un vero e proprio programma di autodistruzione che non ha una fenomenologia tissutale (tranne in casi patologici come la SLA).

L'apoptosi consta essenzialmente di tre fasi: **SEGNALAZIONE**, **ATTIVAZIONI ENZIMATICHE**, **MODIFICHE MORFOLOGICHE**.

Nell'ambito della segnalazione, esistono due vie: suicidio previsto intenzionalmente e suicidio in seguito a danno o perturbazione metabolica. Il primo suicidio vede l'intervento di domini effettori di morte e di domini di morte a valle dei primi. I domini di morte sono recettori e legano i domini effettori, i ligandi, modificandosi dal punto di vista conformazionale e dando luogo ad un processo di trasduzione del segnale con attivazione delle caspasi e conseguente proteolisi. Il secondo suicidio

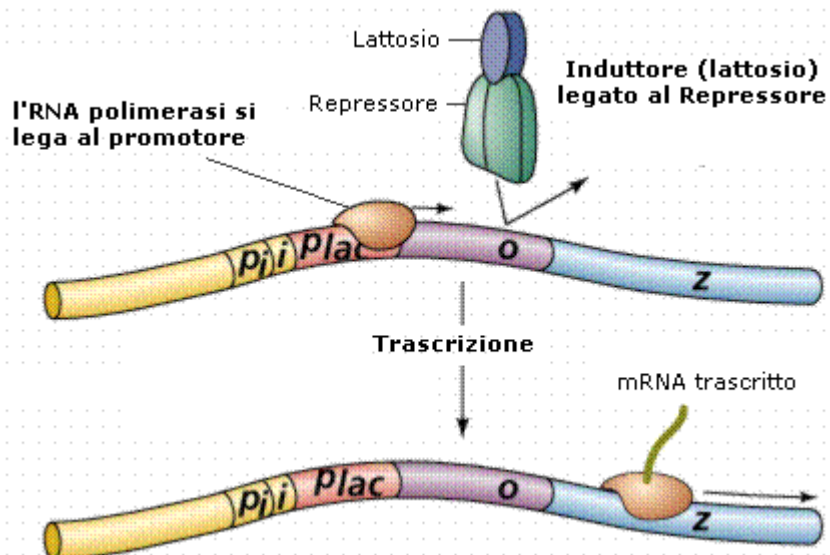
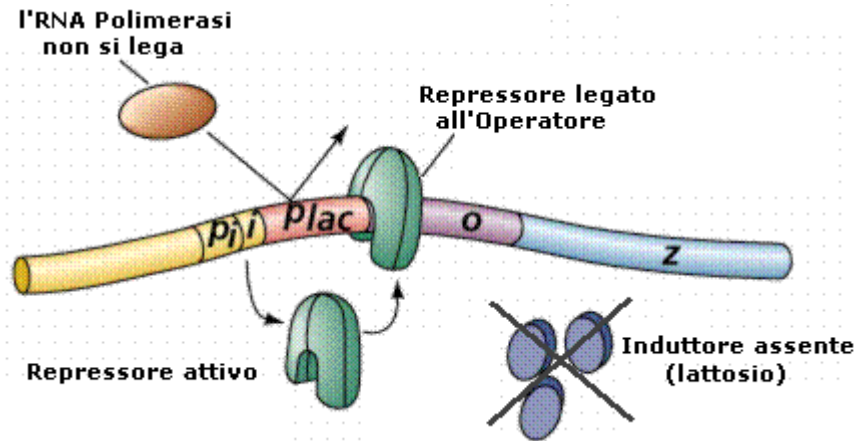
vede l'azione della proteina RB (retinoblastoma), fattore che tiene sotto controllo il fattore trascrizionale E2F, che, a sua volta, controlla la trascrizione di una serie di enzimi della replicazione del DNA (fase S del ciclo cellulare). Altra proteina coinvolta è p53, che blocca il ciclo cellulare in qualsiasi momento (G1, S, G2, M).

	C. elegans	Vertebrati
Esecutori di morte	ced3e ced4	CPP32(caspasi 3)
Inibitori di morte	ced9	Bcl-2

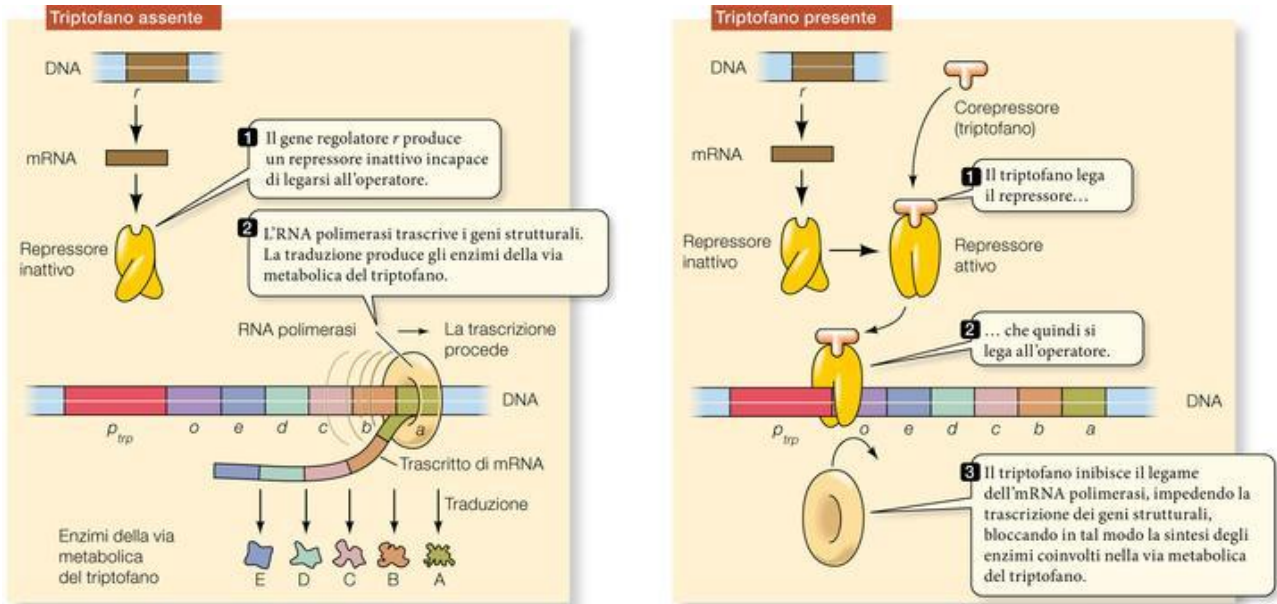
La caspasi 3 inibisce PARP (proteina che interviene nell'avvio della riparazione del DNA), il cui mancato effetto consente al fattore DFF di attivare le endonucleasi Ca-Mg dipendenti, che determinano frammentazione del DNA nucleare (non mitocondriale), lisi proteica e perdita di qualsiasi funzione cellulare.

Operoni procariotici

Operone lattosio



Operone triptofano



La teoria degli operoni, quali complessi autoregolativi delle cellule procariotiche, fu scoperta da Monod e Jacob. Essa getta luce sui processi di sintesi proteica in risposta a stimoli esterni. È finora valida solo per i procarioti, ma contribuisce a comprendere i fenomeni di inibizione o iperattivazione dei sistemi vitali complessi in risposta a sollecitazioni esterne. L'uso massiccio di farmaci come gli antibiotici, che induce fenomeni degenerativi quali ipo-espressione immunitaria (omeostasi feedback) e allergie (omeostasi feedforward), comincia ad essere visto seguendo l'approccio degli operoni.