UN TUFFO NEL MONDO DELLA CHIMICA ORGANICA

UN APPROFONDIMENTO STORICO, NUTRIZIONALE, METABOLICO E ANALITICO DELLA VITAMINA A E DELLA VITAMINA C

STUDENTESSA: LISA APPAVOU

CLASSE: III/IV A

ANNO: 2014

MATERIA: CHIMICA

DOCENTE RESPONSABILE: PAOLO MORINI

Indice

1. Abstract....4
2. Introduzione....4
3. Le vitamine....4
3.1. Storia delle vitamine....4
3.2. Che cos'è una vitamina?....7
3.3. Che cos'è una provitamina?....9
3.4. Che cosa s'intende con il termine inglese *Quasi-Vitamin*?....9
3.5. Funzione metabolica delle vitamine....10
3.6. Vitamin Deficiency....10
3.7. *Hypervitaminoses*....12
4. La vitamina C....12
4.1. Proprietà....12
4.1.1. Struttura....12
4.1.2. Redox....13
4.2. Metabolismo....13
4.3. Funzione metabolica....14
4.4. Lo scorbuto, sindrome di carenza....15
4.5. Analisi polarimetrica....16
4.5.1. Scopo dell'esperienza....16
4.5.2. Metodo....16
4.5.3. Sicurezza....17
4.5.4. Materiale....17
4.5.5. Parte sperimentale....17
4.5.6. Risultati, commento e conclusione....17
4.6. Titolazione di ossidoriduzione (o redox)....18
4.6.1. Scopo dell'esperienza....18
4.6.2. Metodo....18
4.6.3. Sicurezza....19
4.6.4. Materiale....19
4.6.5. Parte sperimentale A....19
4.6.6. Parte sperimentale B....21
4.6.7. Risultati A....22
4.6.8. Risultati B....23
4.6.9. Commento e conclusione....24
5. La vitamina A....24
5.1. Proprietà....24

5.1.1. Struttura 24
5.1.2. Generali 25
5.2. Metabolismo....26
5.3. Funzione metabolica....27
5.4. La nictalopia, la xeroftalmia, la cheratomalacia e la emeralopia, sindromi di carenza....29
5.5. Cromatografia TLC....31
5.5.1. Scopo dell'esperienza....31
5.5.2. Metodo....31
5.5.3. Sicurezza....31
5.5.4. Materiale....31
5.5.5. Parte sperimentale....32
5.5.6. Risultati, commento e conclusione....32
6. Conclusioni e commento personale....34
7. Bibliografia e sitografia....34

1.Abstract

Il mio lavoro di maturità ha come soggetto di studio le vitamine, un ramo della chimica alimentare oggigiorno vastissimo, dopo che innumerevoli scienziati hanno dato un contributo a colmarlo di scoperte. Per questo motivo sono stata costretta a limitare il campo e mi sono concentrata su due vitamine, la A e la C, le quali presentano proprietà spesso divergenti. Non ho però omesso un quadro generale sulle vitamine, il quale comprende l'esposizione del percorso dalla loro scoperta fin ai giorni nostri, evidenziando come banali supposizioni e osservazioni empiriche siano state alla base di una tematica ritenuta ora scientifica. Per dare delle fondamenta alla usuale affermazione "Le vitamine sono importanti", ho studiato le interazioni chimiche e il modo in cui queste sostanze regolano il nostro metabolismo. Questo percorso di ricerca espone anche una serie di esperimenti in laboratorio dove ho utilizzato tre diverse metodiche analitiche, in cui ho avuto modo di confrontarmi con questo ambiente quasi del tutto nuovo e da cui sono giunta a concludere interessanti osservazioni.

2.Introduzione

In questo lavoro di maturità tratto la tematica generale delle vitamine, tuttavia, essendo questo un ramo molto vasto, mi soffermerò solo su due di esse: la Vitamina A e la Vitamina C. Mi sono cimentata nel campo della chimica organica poiché mi ha sempre affascinato e incuriosito al tempo stesso. Ho deciso di focalizzarmi su questo composto organico dal momento che, fin dai tempi della mia infanzia, i miei genitori hanno continuamente insistito che mangiassi frutta e verdura per assumere così anche vitamine. Ma da bambina, come agli inizi di questo percorso di ricerca, non ho mai capito cosa queste sostanze fossero e in che modo potessero esserci utili per una vita in salute. La scelta invece relativa alle due vitamine analizzate in questo lavoro è stata fatta soprattutto in base alla presenza di esperimenti da me attuabili in laboratorio, ma anche al fatto che esse appartengono a due gruppi distinti di vitamine: quelle liposolubili (Vitamina A) e idrosolubili (Vitamina C). Per realizzare questa tesina mi sono basata principalmente su due libri di testo in lingua inglese che trattano *uno*[1] la storia delle vitamine e *l'altro*[2], molto più completo, tutte le vitamine sotto variegati aspetti. Ho usufruito anche di altre fonti, quali siti internet o ulteriori libri per piccole ricerche puntuali. Questo lavoro di maturità lo posso suddividere in tre principali blocchi: una sintetica, ma generale inquadratura dell'ampio mondo delle vitamine, analizzato da un punto di vista storico, scientifico e dei termini e concetti ricorrenti ed indispensabili in questo campo; un approfondimento sulla Vitamina A e infine sulla Vitamina C, con tanto di esperimenti in laboratorio per entrambi i casi.

3.Le vitamine

3.1. Storia delle vitamine

Il termine vitamina deriva *dall'ingl. vitamine (poi vitamin), comp. del lat. vita «vita» e di amine «amina», propr. «amina di vita; amina vitale».*[3]

[1] Lee R. McDowell, *Vitamin History, The Early Years*, IFAS, Florida USA, 2013

[2] Gerald F. Combs, The *Vitamins, Fundamental Aspects in Nutrition and Health*, Fourth Edition, Academic Press, USA, 2012

[3] http://www.treccani.it/vocabolario/vitamina/

La nascita di questa parola risale agli inizi del ventesimo secolo, durante una rivoluzione di pensiero circa il rapporto tra dieta e salute. Dopo innumerevoli studi ed esperimenti empirici infatti, si suppone che l'alimentazione sia fonte di nutrienti essenziali, la cui carente assunzione può causare determinate malattie. Pur sembrando questo un concetto ai giorni nostri evidente, in un tempo in cui le prime scoperte microbiologiche sono appena state attuate ha sicuramente avuto peso ed importanza non trascurabili. Da queste considerazioni si diramano e si fanno poi strada differenti pensieri e studi inerenti il campo della salute. Si può dunque parlare di vitamina come un'idea rivoluzionaria e della sua scoperta come miccia la quale dà origine a molti altri studi.

Ma più concretamente la scoperta delle vitamine avviene in seguito ad anni e anni di ricerca ai rimedi delle patologie del tempo: in particolare lo scorbuto, il beri-beri, la xeroftalmia, la nictalopia, la cheratomalacia e l'emeralopia, la pellagra e il rachitismo, che inizialmente si pensava fossero causate da microrganismi o da disfunzioni genetiche.

Il **beri-beri** si ritiene sia la prima malattia da carenza scoperta e viene riconosciuta in Cina, ma essa era diffusa ampiamente nell'intero continente asiatico, quando nel XVIII secolo il riso, alimento essenziale della zona, veniva reso bianco e lucido con lo scarto della pula (strato ricco di elementi nutritivi che ricopre il chicco). Degli osservatori però notano come persone che si cibano di riso integrale non siano minimamente affette da questo tipo di malattia e vedono nella pula il rimedio e/o una prevenzione. Questa malattia, dovuta alla carenza di tiamina, causa importanti danni al sistema cardiovascolare ed a quello nervoso portando ad un persistente senso di spossatezza; infatti il termine indonesiano "beri" significa stanchezza e si può supporre che il vocabolo ripetuto voglia indicare quanto questa condizione fosse marcata.

Il **rachitismo**, patologia di carenza della Vitamina D, porta a deformazioni delle ossa. La malattia era soprattutto diffusa durante la Rivoluzione industriale di fine XVIII secolo e al volgere del XX secolo nelle città industrializzate, che erano risapute essere molto inquinate, del nord Europa e degli Stati Uniti. Infatti la Vitamina D, anche nota come *Vitamina del sole*, viene prodotta dal nostro corpo grazie ai raggi UV, i quali sono però in gran parte schermati da nebbia, nubi e smog. Gli individui vissuti in questi ambienti erano di conseguenza largamente affetti da rachitismo.

Bambini affetti da rachitismo[4]

[4] http://www.mineravita.com/en/vitamin-b1-thiamine_disease.html

La **pellagra**, a differenza delle altre più importanti malattie di carenza, non è nota fin dall'antichità. Essa, causata dalla mancanza di Vitamina B_3 (o niacina), era diffusa tra il 1700 e il 1900 soprattutto nelle famiglie la cui dieta si limitava al granoturco senza potersi permettere carne, legumi, verdure. I sintomi più evidenti sono dei cambiamenti della pelle e delle lesioni alle membrane mucose della bocca, dell'intestino e della lingua. Il termine ha origine latine: con *pella* s'intendeva la pelle e con *agra* la sua ruvidezza e stranezza. Al giorno d'oggi questa patologia grava sui paesi in via di sviluppo in cui persiste una significativa malnutrizione e dove gli alimenti poveri di niacina, come il mais, sono fonte primaria dell'alimentazione.

Piedi di un individuo affetto da pellagra[5].

Lo **scorbuto** e la **xeroftalmia, la nictalopia, la cheratomalacia e l'emeralopia** sono approfondite rispettivamente nei paragrafi 4.4 e 5.4.

Per la cura e la prevenzione di questi morbi si introducono così nella dieta piccole quantità di *antiscorbuto*, *antiberi-beri*, *antixeroftalmia*, *anticheratomalacia*, *antiemeralopia* e *antinictalopia*, *antipellagra* e *antirachitismo*, contenuti in determinati cibi. Proprio queste sostanze, che con il tempo si iniziano a studiare e a cui negli anni se ne aggiungono altre, vengono identificate e chiamate vitamine: nutrienti essenziali e indispensabili.

Non conoscendo la composizione chimica elementare delle vitamine si comincia assegnando a ciascuna di esse una lettera dell'alfabeto. Con l'avanzamento delle scoperte in ambito chimico, viene reso noto che attività attribuite ad un'unica vitamina sono il risultato del lavoro di differenti vitamine (es.: la Vitamina B si dimostra essere la miscela di due vitamine, nominate in seguito B_1 e B_2). Infatti sostanze diverse, con una specifica struttura molecolare, possono avere la medesima attività vitaminica. Nel sistema di nomenclatura vengono così designati dei gruppi di vitamine (es.: il gruppo della Vitamina B) a cui si aggiunge un sistema di suffissi (es.: Vitamina B_6 e Vitamina B_{12}). Questi gruppi comprendono, come già precisato, sostanze chimicamente affini, ovvero i *vitameri*. Con la determinazione delle strutture chimiche di singole vitamine vengono anche adottati i nomi della struttura chimica (es.: tiamina e niacina); oppure viene loro attribuito un nome in base alla loro origine o funzione. *Il termine Vitamina K deriva dalla parola*

[5] http://actasdermo.org/en/pellagra-a-clinical-histopathological-and/articulo/S1578219012000467/

danese koagulation (coagulazione)[6], poiché un ricercatore danese l'ha identificata come necessaria per la coagulazione del sangue, allo stesso modo *il termine Vitamina H (biotina) viene utilizzato poiché il fattore protegge la* haut[7], termine tedesco indicante la pelle; l'acido pantotenico invece si riferisce alla sua diffusione in natura, infatti in greco πάντοθεν (pántothen) significa "da tutte le parti". Spesso però il termine vitamina è anche stato attribuito a sostanze le quali non soddisfano la definizione (es.: quella inizialmente chiamata Vitamina F viene in seguito identificata come acido grasso).

Successivamente a questo primo periodo di scoperta delle vitamine, gli scienziati si cimentano nello studio di metodi con cui migliorare la salute umana e animale attraverso l'uso di nozioni precedentemente acquisite; ha così inizio la **storia moderna delle vitamine**. Nel corso degli anni si sono aperti numerosi campi di ricerca che spaziano dalla chimica analitica e fisica alla medicina. Vengono sviluppate tecniche di lavorazione degli alimenti in modo che non vengano perse troppe vitamine, vengono chiariti i meccanismi molecolari dell'azione vitaminica e i ruoli che determinate vitamine svolgono nell'espressione di un gene e molto altro.

3.2. Che cos'è una vitamina?

La vitamina viene definita come un composto organico ben distinto dai grassi, dai carboidrati e dalle proteine, essa infatti non ha funzione strutturale né fornisce energia, ma è indispensabile ed ha un ruolo chiave per le normali funzioni fisiologiche (sostentamento, crescita, sviluppo e riproduzione) e per la salute. Infatti senza di esse non avrebbero luogo numerose reazioni del metabolismo. Questa componente naturale presente nel cibo ha variegate funzioni che tendono ad essere altamente specifiche e per questa ragione è essenziale anche in piccole quantità. Dal momento che non è generalmente sintetizzabile dagli animali (umani inclusi) a sufficienza per soddisfare i normali fabbisogni, deve venire assunta attraverso gli alimenti: determinati cibi contengono determinate vitamine. Comunemente si assume una sua forma alimentare ancora inattiva, ovvero la sua provitamina, che viene poi attivata da enzimi specifici. La sua carenza o assenza causa una specifica sindrome, curabile, nel caso in cui non sia ancora a stadi estremi, con l'assunzione della vitamina stessa.

Questa definizione ha però delle limitazioni da tenere in considerazione, in quanto alcuni composti sono considerati vitamine per una specie e non per un'altra, oppure alcune vitamine vengono considerate tali solo se in specifiche situazioni dietetiche o ambientali e a dipendenza dello stato di sviluppo di una specie animale e altro ancora. Oltretutto, smentendo le affermazioni soprastanti, alcuni organismi sono in grado di sintetizzare alcune vitamine: nel caso della Vitamina C le specie animali che possiedono l'enzima *L-gulonolattone ossidasi*, in quello della Vitamina D invece coloro che si espongono sufficientemente ai raggi UV. Ad ogni modo gli animali dipendono dalle vitamine per la sopravvivenza.

Pur condividendo le vitamine differenti caratteristiche, esse differiscono l'una dall'altra circa la struttura chimica e l'attività biologica. Ma per comprendere meglio l'assorbimento, il trasporto, l'immagazzinamento e l'espulsione di esse, si è ritenuto necessario organizzarle in base alla loro solubilità nell'acqua o nei grassi; questo indicatore permette inoltre di determinare le fonti

[6] Lee R. McDowell, *Vitamin History, The Early Years*, IFAS, Florida USA, 2013

[7] Lee R. McDowell, *Vitamin History, The Early Years*, IFAS, Florida USA, 2013

alimentari e di adottare metodi di cottura e conservazione in grado di minimizzare le perdite di vitamine.

La Vitamina B_1 (*tiamina*, *aneurina*), la Vitamina B_2 (*riboflavina*), la Vitamina B_6 (*piridossina*, *adermina*), la Vitamina B_{12} (*cobalamina*), la Vitamina C (*acido ascorbico*), la Vitamina PP (*niacina*, *nicotinammide*), la biotina, l'acido pantotenico e l'acido folico sono **vitamine idrosolubili** poiché solubili in solventi polari. La maggior parte di esse hanno un ruolo fondamentale nelle reazioni biochimiche, in cui, sotto forma di coenzimi, fanno in modo che gli enzimi lavorino. Esse vengono facilmente assorbite a livello dell'intestino tenue, sono trasportate nel plasma, diffondono nei liquidi extra- ed intracellulari e, se in eccesso, vengono eliminate per via urinaria. Facendo il nostro corpo un ricambio frequente di liquidi, questi tipi di vitamine non vengono immagazzinati e proprio per questo motivo se ne devono assumere con regolarità. Si riscontra la perdita di vitamine idrosolubili con la conservazione, la cottura e la sterilizzazione di alimenti che ne contengono.

La Vitamina A (*retinolo*), la Vitamina D (*colecalciferolo*, *ergocalciferolo*), la Vitamina E (*tocoferolo*) e la Vitamina K (*naftochinone*) sono **vitamine liposolubili** poiché solubili in solventi apolari. Esse sono importanti per la crescita, la differenziazione dei tessuti, la coagulazione ematica e la regolazione della quantità di calcio nel sangue; due di esse hanno anche la funzione di ormone (Vitamina A e D). Come i lipidi, vengono assorbite principalmente nell'intestino tenue ed essendo insolubili in acqua, circolano nel sangue per mezzo di complessi lipoproteici e vengono immagazzinate nel fegato o nei tessuti adiposi. Data la loro difficile eliminazione, un'assunzione eccessiva può diventare tossica (ipervitaminosi); allo stesso modo però, dal momento che sono immagazzinabili dal fegato in grande quantità, possono venire assunte meno frequentemente rispetto al tipo idrosolubile. Tutte le vitamine, chi più chi meno, sono pertanto soggette a deterioramento se esposte alla luce solare, al calore e all'aria.

La maniera in cui vengono assorbite le vitamine dipende dalle loro proprietà fisiche e chimiche, ma una grossolana distinzione la si può fare considerando la loro solubilità. Le generali caratteristiche fisiche e chimiche entrano in gioco anche per ciò che concerne la distribuzione e la ritenzione delle vitamine nei vari tessuti.

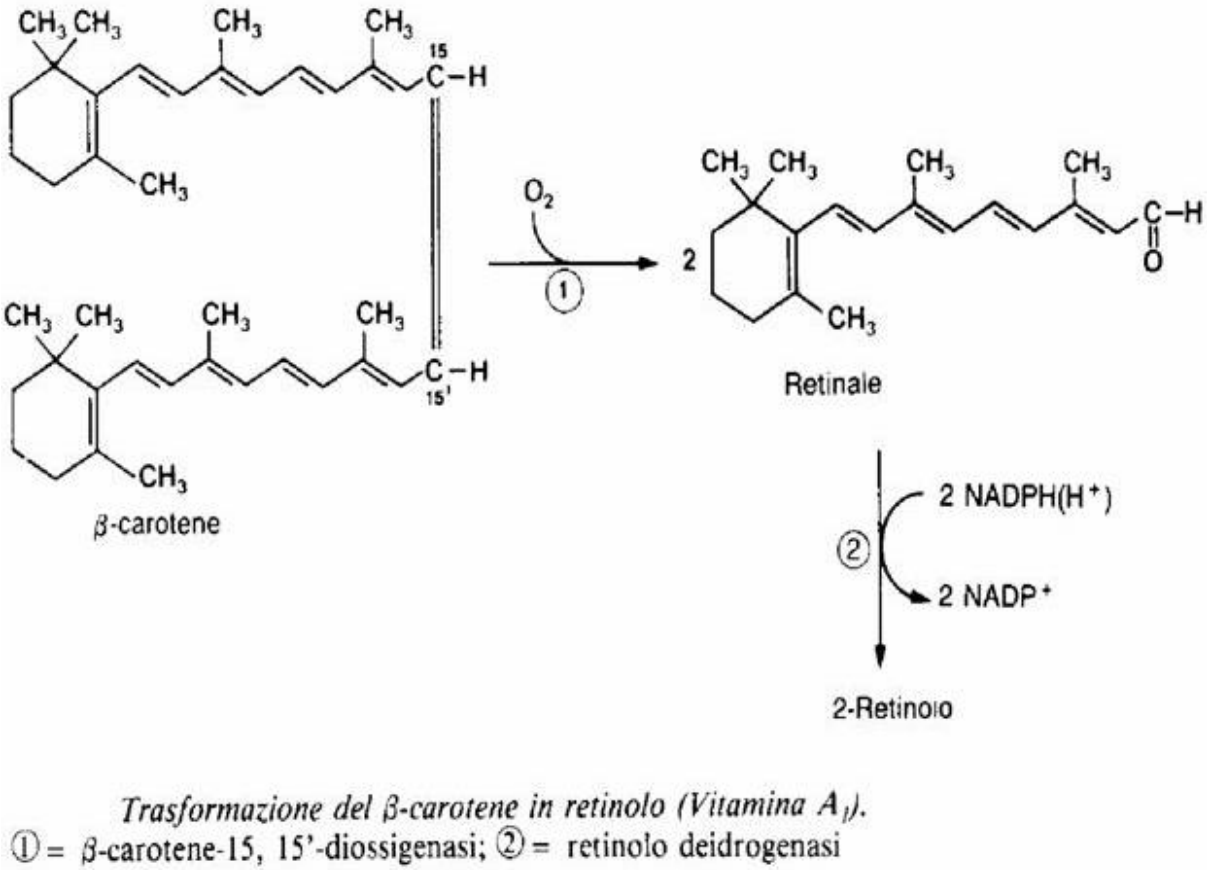
Le vitamine liposolubili e le sostanze idrofobe come i carotenoidi e il colesterolo non sono libere di viaggiare nell'ambiente polare del tubo digerente, dunque vengono associate a sostanze anfipatiche, sostanze con capacità di interagire allo stesso tempo con molecole polari ed apolari. Nella prima parte del tratto gastrointestinale esse sono sciolte nella massa di lipidi ingeriti, di seguito, grazie anche all'aiuto dei succhi biliari, vengono inglobate da micelle, per poi diffondere attraverso i microvilli nelle cellule epiteliali dei villi e di seguito entrare nel sistema ematico. Anche nella fase di postassorbimento è essenziale che ci siano dei fattori a rendere possibile il trasporto delle vitamine idrofobe nel sangue e nella linfa, si tratta di lipoproteine generalmente. Alcune però, contrariamente a ciò che è stato affermato precedentemente, circolano in soluzione libera nel plasma. Esse tendono a venire espulse rapidamente tramite urinazione e sudorazione, una loro costante assunzione è dunque fondamentale.

Il sistema di assorbimento delle vitamine idrosolubili è invece caratteristico per ogni singola sostanza e in ogni singola situazione. L'ambiente acquoso dell'intestino tenue (sito di assorbimento) permette ad ogni modo un assorbimento più diretto rispetto all'assorbimento delle vitamine liposolubili. Per attraversare le sue membrane alcune si servono della diffusione passiva, altre necessitano di vettori per fare fronte alle basse differenze di concentrazione da una parte all'altra della membrana tali da non permette una semplice diffusione.

3.3. Che cos'è una provitamina?

La provitamina, come già accennato precedentemente, è una sostanza che acquista azione vitaminica solo dopo essere stata sottoposta a **reazioni metaboliche o fotochimiche** indotte da fattori esterni quali per esempio i raggi UV.

Come nel caso del β-carotene, provitamina A, che in seguito a diverse reazione chimiche genera due molecole di vitamina A. Inizialmente il β-carotene reagisce con O_2 tramite la reazione di monoossigenasi dando origine a due molecole di *retinale*[8], dopodiché a queste ultime vengono ceduti due atomi di H da parte di due molecole di *NADPH(H$^+$)*[9] e si formano due molecole di retinolo. Infatti la formula molecolare del retinolo è $C_{20}H_{30}O$ e quella del retinale $C_{20}H_{28}O$. Le reazioni vengono inoltre catalizzate da enzimi specifici.



Trasformazione del β-carotene in retinolo (Vitamina A$_1$).
① = β-carotene-15, 15'-diossigenasi; ② = retinolo deidrogenasi

Trasformazione del β–carotene in retinolo.[10]

3.4. Che cosa s'intende con il termine inglese *Quasi-Vitamin*?

Di questo gruppo di vitamine fanno parte tutti quei nutrienti che rispettano i criteri della definizione di vitamine ma solo per determinate specie o solo in determinate condizioni.

[8] Forma aldeidica del retinolo da cui differisce per lo stato di ossidazione del gruppo funzionale terminale.
[9] Il coenzima NADP è principalmente un accettore di elettroni e un trasportatore di idrogeno.
[10] http://irapl.altervista.org/tesi/

Riconducendoci all'esempio del β-carotene del paragrafo 3.3, si deve tenere in considerazione che esistono anche carotenoidi che non sono provitamine A, ma per lo più pigmenti. Queste *non-provitamine* non vengono assorbite come il β-carotene, poiché esse non vengono "scisse" dall'enzima *carotenoidi ossigenasi*. Esse infatti non hanno attività vitaminica ma sono comunque importanti date le loro proprietà antiossidanti.

3.5. Funzione metabolica delle vitamine

Senza le sostanze vitaminiche molte funzioni metaboliche nel nostro corpo non avrebbero luogo. Di fatto ogni singola vitamina gioca un ruolo fondamentale in una miriade di reazioni chimiche in ogni parte del nostro corpo ed in ogni momento. I compiti di questi composti organici sono determinati dalla struttura chimica, la quale a sua volta attribuisce loro una certa solubilità e reattività chimica.

Le vitamine possono fungere da **coenzimi**, vale a dire sostanze le quali si "legano" a degli enzimi per rendere possibili le attività enzimatiche, da **ormoni**, sostanze immesse nel circolo sanguigno che vanno ad incidere sul funzionamento di determinate cellule. Oltre a ciò possono avere funzione di **accettori**, in grado di catturare elettroni durante le reazioni chimiche, o **donatori**, in grado di donarne; ciò significa che sono in grado di dare reazioni di ossidoriduzione. Per di più senza le vitamine non verrebbe attuata una performante **trascrizione genetica**, siccome le vitamine possono anche determinare la correttezza o meno di questo complicato processo: esse infatti influiscono sul processo di trascrizione in cui viene fatta una copia del DNA, chiamata RNA. Per ultimo le vitamine sono anche conosciute come **antiossidanti**; queste sostanze fungono da schermo e difesa per le cellule corporee dalle reazioni a catena involontarie, difatti i naturali processi di ossidazione creano all'interno del corpo radicali liberi che sono molto reattivi e possono di conseguenza guastare le normali funzioni cellulari.

3.6. Vitamin Deficiency

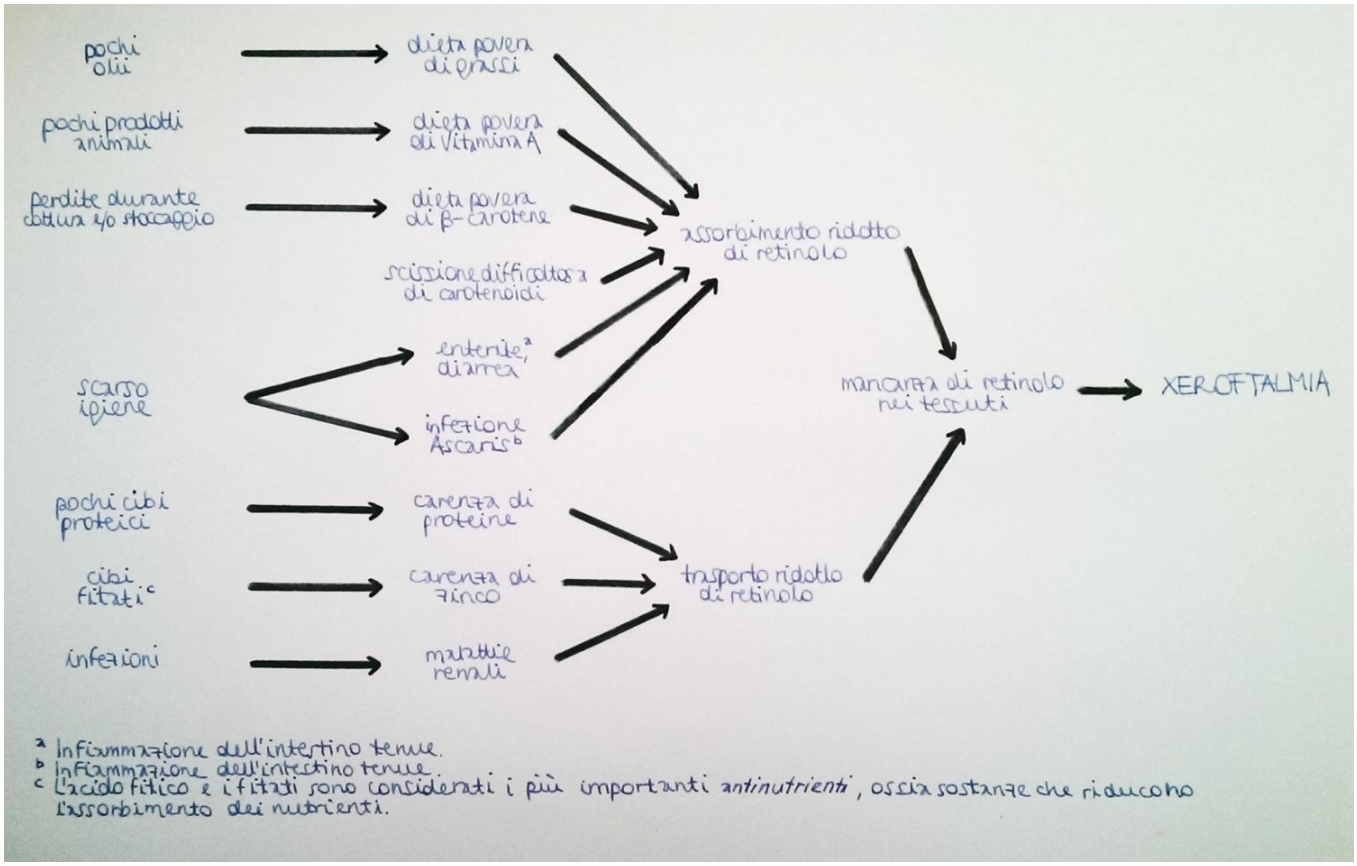
Con il termine *Vitamin Deficiency* si intende la condizione di **ipovitaminosi o avitaminosi**, ossia il *quadro morboso determinato da carenza di vitamine e suscettibile di guarigione con la somministrazione della rispettiva vitamina: la vitamina A per la xeroftalmia, l'emeralopia, la cheratomalacia,[…] la C per lo scorbuto*[11]per esempio. L'avitaminosi può essere determinata da differenti fattori: l'uso di sostanze antivitaminiche, le quali vengono spesso somministrate durante la chemioterapia e altre terapie e aumentano il fabbisogno di vitamine, l'ipertiroidismo e altri casi in cui avviene una sovrabbondante eliminazione fecale e urinaria delle sostanze vitaminiche, la scarsa utilizzazione cellulare dovuta ad un'anomalia del funzionamento enzimatico delle vitamine o a lesioni degli organi incaricati a ciò. E ancora dall'insufficiente assorbimento intestinale, causato spesso da malfunzionamento dell'apparato digerente e infine dall'insufficiente apporto vitaminico nella dieta rispetto al fabbisogno di ogni individuo, il quale varia dall'età, dal sesso, dalle eventuali malattie e altro ancora.

[11] http://www.treccani.it/enciclopedia/avitaminosi/

Le carenze vitaminiche provocano una catena di mutazioni progressive, che si fanno strada dopo la diminuzione di forme metabolicamente attive di vitamine nelle cellule e nei tessuti. Infatti un'assunzione vitaminica inadeguata fa in modo che non avvenga un riapprovvigionamento delle riserve vitaminiche: a ciò consegue un cambiamento metabolico. Questo determina un basso *status vitaminico*, ovvero un livello vitaminico inetto a mantenere un normale metabolismo. Di conseguenza si modificano le funzioni fisiologiche che possono portare a segni e sintomi clinici o mutamenti morfologici. Le *Vitamin Deficiency* possono anche portare alla morte.

Ad ogni vitamina si associa generalmente un colore: il trucco per evitare insufficienti apporti vitaminici e magari di ricorrere ad integratori alimentari è dunque quello di inserire nella dieta frutta e verdura di colori differenti oltre che a mangiare in modo equilibrato e variegato.

Qui di seguito è riportata una mappa in cui emergono le cause che conducono man mano alla xeroftalmia.



Schema a lisca di pesce sulle possibili cause di xeroftalmia[12]

[12] Geralf F. Combs, The Vitamins, Fundamental Aspects in Nutrition and Health, fourth Edition, Academic Press, USA, 2012;FIG. 4.4 pag. 90.

3.7. *Hypervitaminoses*

Lo scienziato svizzero Paracelsus durante il Rinascimento scrisse: "*Omnia venenum sunt: nec sine veneno quicquam existit. Dosis sola facit, ut venenum non fit.*"[13]: "Tutte le cose sono veleno: non esiste niente di non velenoso. Solamente la dose fa in modo che non diventi veleno." Infatti vale lo stesso per le vitamine, le quali assunte (da una persona in salute) in dose esagerata possono diventare tossiche e causare danni all'organismo. In certe circostanze però, ad esempio se un individuo è affetto da una malattia di carenza, da psicosi, da anemia e da altri stati patologici, vengono prescritte a dosi che superano largamente quelle normalmente da assumere, ma con il solo scopo di guarire.

Il rischio di intossicazione per ciascuna vitamina varia a dipendenza della dose, della specie colpita e del periodo di esposizione eccessiva ad essa.

4. La vitamina C

4.1. Proprietà

4.1.1. Struttura

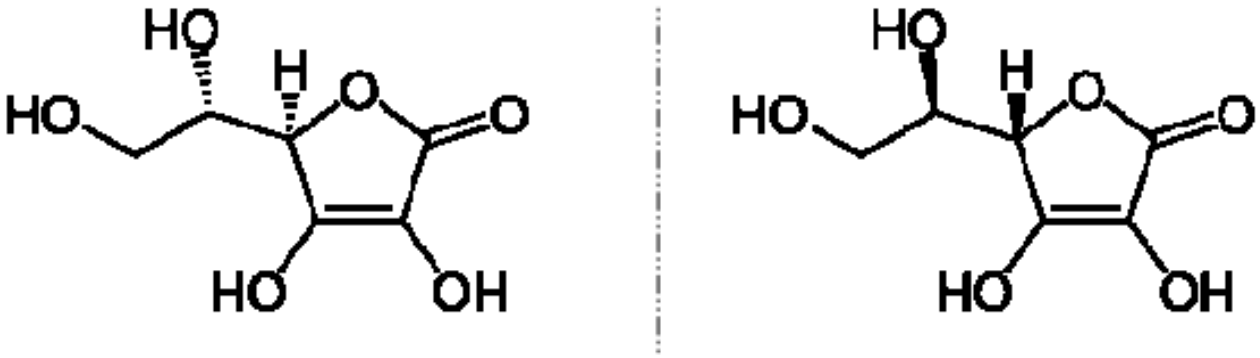
L'acido ascorbico è una **sostanza otticamente attiva**, vale a dire una sostanza composta da **molecole chirali**; queste molecole hanno le proprie immagini speculari non sovrapponibili e sono anche chiamate enantiomeri. Il termine chirale deriva dal greco χέιρ (cheir) «mano», infatti la mano sinistra e la mano destra sono gli esempi più evidenti che presentano questa caratteristica. Gli **enantiomeri** possiedono tra di loro le medesime proprietà fisiche, ad eccezione del potere rotatorio, che è opposto di segno ma identico di intensità, e le medesime proprietà chimiche nei confronti di sostanze achirali. Differiscono invece per quanto concerne l'interazione chimica rispetto ad altre molecole chirali; allo stesso modo una mano destra riesce a distinguere se stringe un'altra mano destra o sinistra. Le sostanze achirali sono invece molecole con un unico piano di simmetria, dunque prive di chiralità.

L'acido ascorbico esiste in due forme, però solo una di esse è la Vitamina C, ossia **l'acido L-ascorbico**. Il suo enantiometro, **l'acido D-ascorbico**, ha le medesime proprietà chimiche e fisiche in ambienti achirali ma scarsa efficacia nei processi enzimatici (in ambienti chirali). La lettera *l* o il simbolo - stanno ad indicare che si tratta di sostanze levogire, dal momento che ruotano un fascio di luce polarizzata a sinistra, contrariamente la lettera *d* o il simbolo + stanno ad indicare sostanze destrogire che ruotano a destra la luce polarizzata (vedi sottoparagrafo 4.5).

È dunque da tenere in considerazione che il termine Vitamina C si riferisce solamente ad uno dei due enantiometri dell'acido ascorbico.

[13] http://it.wikipedia.org/wiki/Paracelso#CITEREFOpera_Omnia

Acido L-(-)-ascorbico *Acido D-(+)-ascorbico*



I due enantiomeri dell'acido ascorbico.

4.1.2. Redox

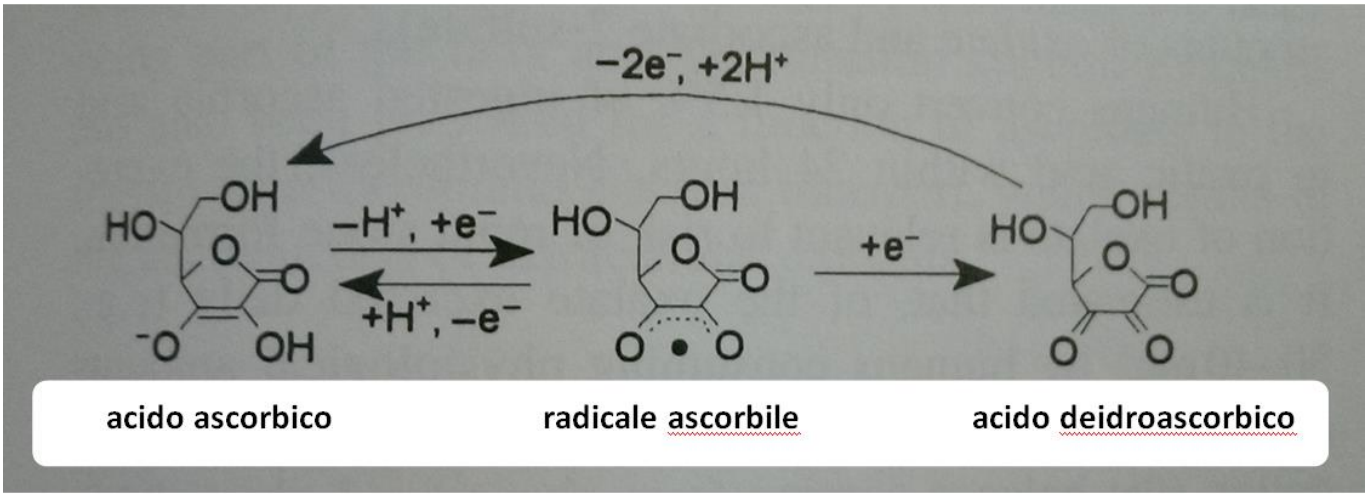
La proprietà più importante che caratterizza la vitamina C è sicuramente quella redox, ossia quella di essere un **buon antiossidante**. In presenza di radicali liberi può dunque reagire con essi evitando pericolose reazioni a catena; allo stesso tempo però, in caso le quantità di Vitamina C dovessero essere eccessive, può dare inizio essa stessa a queste reazioni: è dunque fondamentale assumerne con moderazione.

In ambito alimentare vengono spesso sfruttate questa caratteristica e quella di mantenere stabili le vitamine A, E, la tiamina e l'acido folico, difatti l'acido ascorbico viene largamente utilizzato nei cibi come **additivo alimentare**; la sigla con cui l'UE indica la Vitamina C è E300. Per esempio nei succhi di frutta evita l'imbrunimento (peculiare della frutta a basso contenuto di Vitamina C), ripristina i valori vitaminici persi durante la lavorazione o lo stoccaggio e abbassa il pH, nelle carni posticipa lo scolorimento e nella lavorazione del pane permette una maggiore tenacità ed elasticità della pasta.

4.2. Metabolismo

Le specie che non sintetizzano autonomamente la Vitamina C dagli zuccheri hanno assoluta necessità di procurarsela attraverso la dieta. L'acido ascorbico assunto viene prevalentemente assorbito a livello dell'intestino tenue per mezzo di trasportatori, a basse dosi, e ad alte dosi via diffusione passiva. Il meccanismo di trasporto attivo è regolato dalle glicoproteine SVCTs (***S**odium-dependent **V**itamin **C** **T**ransporters*) per quanto concerne l'L-acido ascorbico e da proteine trasportatrici di glucosio GLUTs (***Glu**cose **T**ransporters*) per l'acido deidroascorbico; quest'ultimo, appena entrato nelle cellule, viene ridotto ad **acido ascorbico**. Le SVCTs coordinano anche l'omeostasi della Vitamina C in tutto il corpo interessandosi anche al riassorbimento nei reni. Inoltre l'insulina stimola la sintesi e l'azione del GLUT e di conseguenza incentiva l'assorbimento cellulare di **acido deidroascorbico**; proprio per questo motivo i pazienti diabetici possono avere livelli alti di questo acido nel sangue. Il trasporto della Vitamina C nel plasma avviene prevalentemente, all'incirca per l'80/90%, nella sua forma ridotta. Essendo la Vitamina C solubile in acqua, non esiste una sua riserva stabile ed eventuali eccessi vengono velocemente secreti.

L'acido ascorbico viene ossidato mediante due successive perdite di un elettrone. La sua funzione ossidante (vedi sottoparagrafo 4.1.2) è fondamentale per il nostro corpo. Il **radicale ascorbile** può tornare ad acido ascorbico, mentre la trasformazione ad acido deidroascorbico non è reversibile.



Reazioni di ossidazione e reazione della Vitamina C.[14]

La vitamina C viene poi escreta per mezzo delle urine.

4.3. Funzione metabolica

Nelle sue varie funzioni metaboliche conosciute, la Vitamina C come acido ascorbico coinvolge per la maggior parte dei casi le sue proprietà redox. Infatti è l'antiossidante idrosolubile più dinamico presente nel plasma e nel citoplasma cellulare.

L'acido ascorbico entra in gioco nel **metabolismo di ioni metallici** aumentando la biodisponibilità del ferro e interagendo con altri elementi minerali. Nel primo caso il *ferro non eme*[15], presente nello stomaco sottoforma di ione ferrico Fe^{+3}, viene ridotto dall'acido ascorbico a ione ferroso Fe^{+2} per venire meglio assorbito nel duodeno. Anche l'utilizzo da parte del corpo di ferro eme viene agevolato dall'acido ascorbico: esso stimola la produzione dell'RNA messaggero che codifica per la ferritina, proteina globulare contenete ferro; viene così aumentato il numero di queste ultime, che possono di conseguenza incorporare maggiori quantità di ferro. Oltre a ciò l'acido ascorbico ha la funzione di ***co-substrato***[16] per almeno otto enzimi facenti parte del gruppo *monoossigenasi*[17] oppure di quello *ossigenasi*[18]. La **sintesi del**

[14] Gerald F. Combs, The *Vitamins, Fundamental Aspects in Nutrition and Health*, Fourth Edition, Academic Press, USA, 2012 (pag. 239, fig. 9.4).

[15] L'eme è un gruppo chimico contenente un atomo di ferro.

[16] Sostanza su cui viene esplicata l'azione di un enzima. Nelle reazioni di ossidazione i due substrati agiscono da riducenti: da O_2 il substrato principale prende un atomo di O e cede gli atomi di H che vengono presi dal co-substrato con l'altro atomo di O per formare una molecola di H_2O. $AH + BH_2 + O{-}O \rightarrow A{-}OH + B + H_2O$, dove AH è il substrato e BH_2 il co-substrato.

[17] Enzimi della classe delle ossidoreduttasi, i quali catalizzano reazioni di ossidazione.

collagene, catalizzata da differenti enzimi diossigenasi, richiede la presenza dello ione ferroso Fe^{+2}, il quale, come spiegato precedentemente, è mantenuto tale dall'acido ascorbico. Allo stesso modo, per la **sintesi della *carnitina***[19], i due enzimi contenenti Fe^{2+} coinvolti sono dipendenti dall'acido ascorbico. Per di più alcuni studi hanno dimostrato che l'acido ascorbico favorisce il **metabolismo delle droghe e degli steroidi**.

4.4. Lo scorbuto, sindrome di carenza

Lo scorbuto è definito come sindrome di carenza di acido ascorbico. L'aggettivo *ascorbico* deriva dal greco e dal latino, composto di α (privativa, ovvero che nega) e *scorbuthus*, quest'ultimo termine viene a sua volta dall'antico scandinavo *skyr* «latte cagliato*» e bjugr* «edema». Si credeva infatti erroneamente che la causa di questa malattia fosse il latte cagliato. L'assunzione di vitamina C permette la guarigione o evita che si manifesti lo scorbuto.

Nel corso della storia questa malattia è stata un vero e proprio tasto dolente in quanto fu probabilmente la sindrome di carenza che provocò il maggior numero di decessi. Grazie anche allo sviluppo delle tecnologie acquisite a livello navale, nel Medioevo ebbero inizio le esplorazioni via mare che duravano spesso parecchi mesi. Ciò comportava però per l'equipaggio una dieta praticamente esente di cibi freschi quali frutta e verdura. Così si diffuse lo scorbuto anche conosciuto come ***malattia dei marinai***. Il fisico inglese James Lind nel frattempo constatò che pazienti consumanti agrumi guarivano dallo scorbuto; dopo essersi divulgata la notizia, il Capitano Cook somministrò al suo equipaggio giornalmente **succo di limone** e così avvenne lo sradicamento di questo morbo dalla *Royal British Navy*. E pian piano veniva assimilato il metodo per tenerlo alla larga anche nel resto del mondo. Allo stesso tempo la *malattia dei navigatori* esisteva anche sulla terra ferma e trovava i suoi picchi durante le guerre, dove i campi erano destinati a luoghi di battaglia, le carestie, che comportavano un esiguo e soprattutto insufficiente raccolto, oltre che durante i mesi invernali alle latitudini nord, quando l'agricoltura era impraticabile date le rigide temperature. Con l'introduzione della **patata** dal continente americano, alimento facilmente conservabile, viene però garantita un'assunzione di Vitamina C anche nei periodi dell'anno più freddi.

Attualmente questa patologia non è sparita, essa infatti persiste nei paesi sottosviluppati dove i problemi nutrizionali sono all'ordine del giorno anche a causa di siccità, inondazioni, pestilenze, guerre, e povertà generale. Nei paese industrializzati invece è stata praticamente debellata, fatta eccezione per qualche gruppo a rischio, come persone che seguono mode alimentari, quali digiuno o diete implicanti limitazioni di vario tipo.

Il più importante ruolo della Vitamina C è la biosintesi di collagene. Esso è del materiale intercellulare fibroso e resistente che compone maggiormente la pelle, i tessuti connettivi, le ossa, i denti, le cartilagini. Il collagene previene lividi e assicura un giusto rimarginamento delle ferite. Oltre a ciò la Vitamina C possiede un ottima azione antiossidante, rigenera la Vitamina E[20], potenzia la risposta immunitaria proteggendo così da malattie e infezioni. Il 90% delle dosi di acido ascorbico vengono da noi assunte per mezzo di frutta e verdura fresca e gli agrumi ne contengono la maggior quantità.

---

[18] Enzimi della classe delle ossidoreduttasi, che catalizzano reazioni in cui entrambi gli atomi di ossigeno della molecola vengono incorporati nei prodotti di reazione.

[19] Acido carbossilico necessario per il trasporto degli acidi grassi nei mitocondri e dunque fornire energia alle cellule.

[20] L'acido ascorbico cede infatti un elettrone al radicale α–tocoferossilico, che viene così ridotto a tocoferolo, uno dei principali componenti della Vitamina E.

Gli effetti che conseguono un'assente somministrazione di Vitamina C sono parecchi: non vengono formate la dentina, l'avorio del dente e lo smalto a livello orale, si verificano la necrosi e l'atrofia (diminuzione volumetrica) muscolare, i vasi divengono fragili, le emorragie causano anemia data anche dalla rapida distruzione dei globuli rossi, il fegato si atrofizza e diventa molto grasso, la secrezione di bile viene alterata, i reni si atrofizzano, la milza si ingrandisce, si verifica il deterioramento delle ovaie e dei testicoli, la tiroide mostra iperemia (congestione sanguigna), ipersecrezione e struttura irregolare e le ghiandole surrenali non svolgono in modo performante il proprio compito. Stanchezza, anoressia, dolori muscolari, maggiore suscettibilità a stress e infezioni, anemia, apatia, dolori reumatici, degenerazione dei muscoli, lesioni cutanee, affanno, apatia e molto altro è tutto ciò a cui può condurre lo scorbuto.

Apparato orale danneggiato da scorbuto.

4.5. Analisi polarimetrica

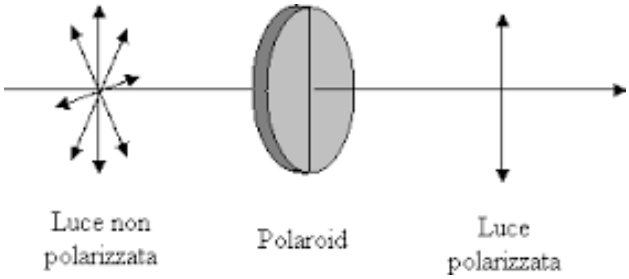
4.5.1. Scopo dell'esperienza

Questa esperienza ha lo scopo di determinare l'attività ottica di una soluzione di Vitamina C ed in seguito confrontarla con il dato originale.

4.5.2. Metodo

L'analisi polarimetrica, analisi eseguita mediante il **polarimetro**, è una tecnica con cui si misura il potere rotatorio di sostanze otticamente attive. Infatti la luce polarizzata, attraversando una soluzione otticamente attiva, viene deviata.

Secondo il modello ondulatorio, considerando un raggio luminoso come un'onda elettromagnetica (vedi immagine sottostante), si osserva come le linee di campo abbiano qualunque direzione. Perché si riesca a misurare un unico angolo di rotazione si devono filtrare via tutti i vettori che oscillano su piani diversi da quello dato, così facendo si ottiene la luce polarizzata; questo compito lo svolge il **polarizzatore**. In seguito viene misurato l'angolo α di rotazione.



Polarizzazione.

L'attività ottica viene qualificata come *levogira* (*l*) anche detta *negativa* (-) oppure come *destrogira* (*d*) anche detta *positiva* (+) a dipendenza della direzione di rotazione. Essa è espressa da una costante α, il **potere rotatorio specifico**, direttamente proporzionale alla rotazione in gradi e inversamente proporzionale alla lunghezza in dm del tubo polarimetrico, in cui è contenuta la soluzione in esame, e alla concentrazione della soluzione in esame in $g/100\ mL$.

Questa proprietà è inoltre legata ad una particolarità molecolare di determinati composti, ovvero la chiralità (vedi sottoparagrafo 4.1.2).

4.5.3. Sicurezza

Non essendo la soluzione di Vitamina C in esame particolarmente aggressiva o nociva posso indossare camice e occhiali senza i guanti protettivi.

4.5.4. Materiale

- Polarimetro
- Bicchierino
- Matraccio da $100\ mL$
- Vitamina C
- Acqua demineralizzata
- Bilancia analitica

4.5.5. Parte sperimentale

Si misura la massa di $2\ g$ di Vitamina C con una navetta pesacampioni e li si mette in un bicchierino. Lo si riempie con circa $50\ mL$ di acqua deionizzata facendolo roteare in modo che la soluzione diventi omogenea. Si versa la soluzione nel matraccio e dopo aver disciolto bene con l'acqua qualsiasi residuo di Vitamina C presente nel bicchierino e dopo averlo versato nel matraccio, si raggiunge la tacca indicata. Si scuote bene fino a perfetta omogeneizzazione.

4.5.6. Risultati, commento e conclusione

Il 16 set. 2014 sono riuscita a svolgere l'intera esperienza, peraltro di breve durata, senza troppe difficoltà.

Concentrazione soluzione: $2.0104\ \mathrm{g/100\ mL}$

Misurazioni dell'attività ottica: 0.6° 0.4° 0.5°

Facendo una media tra i tre dati assumo 0.5° come valore medio con cui svolgo i calcoli.

$$[\alpha]=\frac{\alpha}{c\cdot l} \qquad [\alpha]=\frac{0.5°}{1\ dm\ \cdot\frac{2.0104\ g}{100\ mL}}=24.87\frac{°\cdot mL}{dm\cdot g}$$

Il dato ottenuto nell'esperimento si avvicina al potere rotatorio noto in letteratura che vale $22\text{-}23\ \frac{°\cdot mL}{dm\cdot g}$ in una soluzione di $2\ g$ di acido ascorbico in $100\ mL$ di acqua deionizzata.

4.6. Titolazione di ossidoriduzione (o redox)

4.6.1. Scopo dell'esperienza

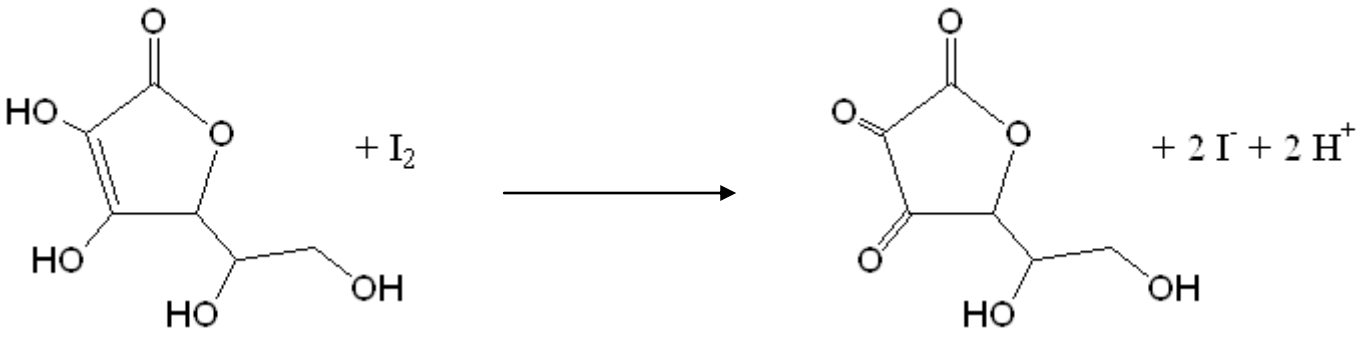
Questa esperienza è suddividibile in due parti. La prima (**A**) in cui conoscendo la concentrazione di Vitamina C determino la concentrazione della soluzione di diiodio che reagisce con la vitamina, la seconda (**B**) dove svolgo l'esperimento nel senso inverso: da un campione di *Succo d'arancia M-Classic* determino il contenuto di Vitamina C.

4.6.2. Metodo

La titolazione è una tecnica molto comune per l'analisi chimica quantitativa, ovvero per determinare la concentrazione di una sostanza in una soluzione. Con questa reazione di ossidoriduzione determino la concentrazione, nel mio caso di Vitamina C, denominata ***titolando***, presente in del succo d'arancia, il ***titolato***. Con questa reazione redox viene ossidato tutto l'acido ascorbico dal diiodio e individuando il quantitativo di iodio utilizzato posso risalire alla concentrazione iniziale di acido ascorbico presente nel campione in esame. La conferma che il diiodio è stato adoperato e la reazione è dunque terminata è data dal cambiamento di colore dell'**indicatore** da me aggiunto, ovvero la salda d'amido. Il momento viene chiamato ***punto d'equivalenza***. Tramite dei calcoli stechiometrici risalgo poi alla concentrazione della sostanza scelta.

La reazione chimica a cui va incontro l'acido ascorbico è questa:

Acido ascorbico *Acido deidro-ascorbico*



$$C_6H_8O_6 + I_2 \rightarrow C_6H_6O_6 + 2I^- + 2H^+$$

4.6.3. Sicurezza

Durante tutta l'esperienza ho indossato occhiali protettivi, camice e guanti in lattice dovendo lavorare con sostanze anche aggressive e/o coloranti.

4.6.4. Materiale

- Acqua deionizzata
- Amido solubile
- $1\ g$ di Vitamina C
- Soluzione di iodio $0.05\ mol$ I_2/L contenente $12.690\ g$ di iodio per ogni litro
- Acido solforico (H_2SO_4) diluito
- Bicchierini da $100\ mL$
- Bacchette di vetro
- Bicchieri da $250\ mL$
- Pallone graduato da $100\ mL$
- Pallone tarato da $1\ L$
- Stativo con buretta da $50\ mL$
- Beuta a collo largo da $250\ mL$
- Piastra riscaldante
- Agitatore magnetico
- Navetta pesa campione
- Bilancia analitica
- Succo d'arancia

4.6.5. Parte sperimentale A

Si versano $20\ mL$ di acqua demineralizzata in un bicchierino da $100\ mL$ e la si porta ad ebollizione, si aggiunge mezzo cucchiaino di amido solubile agitando con una bacchetta in vetro fino a quando diventa omogeneo. Dopo di che la si toglie dalla piastra riscaldante e la si lascia raffreddare. Si mette da parte la soluzione biancastra e opalescente ottenuta che verrà utilizzata in seguito.

Utilizzando circa $50\ mL$ di acqua deionizzata si scioglie esattamente circa $1\ g$ di Vitamina C in un bicchiere da $250\ mL$. In seguito si travasa quantitativamente il contenuto in un pallone graduato da $100\ mL$; fatto ciò si porta il livello della soluzione alla tacca dei $100\ mL$ in modo da ottenere una soluzione di concentrazione $1\ g/100\ mL$. Si tappa e capovolge più volte il pallone fino a perfetta omogeneizzazione del contenuto.

Si prepara uno stativo con una buretta da $50\ mL$; la si riempie con la soluzione di diiodio azzerando il livello del liquido ed eliminando ogni eventuale bolla d'aria.

Si pipettano $25\ mL$ di soluzione di Vitamina C contenuta nel pallone graduato da $100\ mL$ e li si versa nella beuta a collo largo di $250\ mL$; dopo di che si aggiungono $10\ mL$ di acido solforico diluito, che funge da catalizzatore, agitando per mezzo di un agitatore magnetico perché venga reso il tutto omogeneo. Si mantiene la beuta sull'agitatore magnetico.

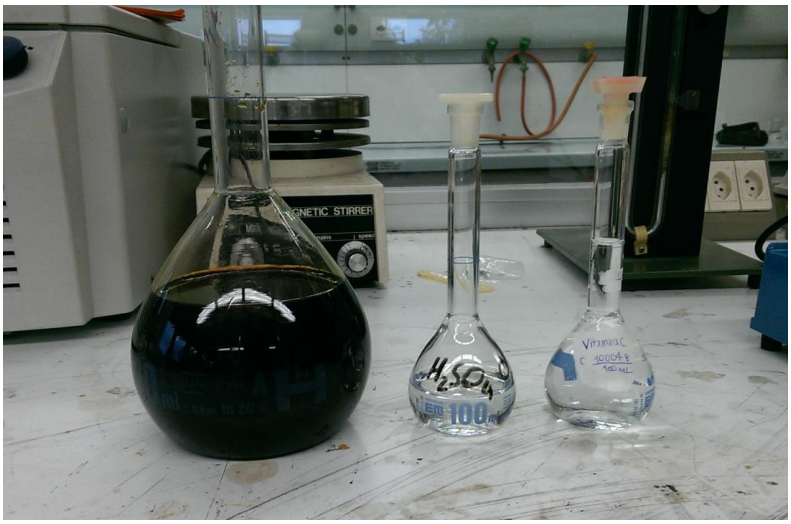
Nella beuta contenente Vitamina C si scaricano $27\ mL$ di soluzione di diiodio e si attende fino a quando scompare il colore giallastro della soluzione.

Si aggiungono circa $10\ mL$ della soluzione di amido preparate precedentemente e si attende che la soluzione diventi omogenea.

Si titola goccia per goccia: dopo ogni goccia di soluzione di diiodio deve scomparire la macchia violacea intensa. Quando l'intensa colorazione violacea persiste per almeno 10 secondi si raggiunge la fine della titolazione.

Si leggono e annotano i mL di soluzione di diiodio consumati.

Misurazione della massa di Vitamina C posta su una navetta pesacampioni tramite la bilancia analitica.



Soluzioni di diiodio, acido solforico e acido ascorbico.

Colore iniziale della soluzione.

Colore violastro che va scomparendo.

4.6.6. Parte sperimentale B

Dal momento che l'acido ascorbico contenuto nel succo di frutta è molto meno concentrato, si devono utilizzare reagenti più diluiti.

Si versano $20\ mL$ di acqua demineralizzata in un bicchierino da $100\ mL$ e la si porta ad ebollizione, si aggiunge mezzo cucchiaino di amido solubile agitando con una bacchetta in vetro fino a quando diventa omogeneo. Dopo di che la si toglie dalla piastra riscaldante e la si lascia raffreddare. Si mette da parte la soluzione biancastra e torbida ottenuta che verrà utilizzata in seguito.

Si prepara uno stativo con una buretta da $50\ mL$; la si riempie con la soluzione di diiodio azzerando il livello del liquido ed eliminando ogni eventuale bolla d'aria.

Si versano $100\ mL$ di succo d'arancia nella beuta a collo largo di $250\ mL$; dopo di che si aggiungono $10\ mL$ di acido solforico diluito, che funge da catalizzatore, e per mezzo di un agitatore magnetico si rende il tutto omogeneo. Si lascia la beuta posizionata sull'agitatore.

Nella beuta si scaricano circa $3\ mL$ di soluzione di diiodio, facendola roteare e la si agita bene fino a quando la soluzione ritorna alla colorazione iniziale.

Si aggiungono circa $10\ mL$ della soluzione di salda d'amido preparata precedentemente e si agita fino a raggiungere una soluzione omogenea.

Si titola goccia per goccia: dopo ogni goccia di soluzione di diiodio deve scomparire la macchia violacea intensa. Quando l'intensa colorazione violacea persiste per almeno 10 secondi si raggiunge la fine della titolazione.

Si leggono e annotano i mL di soluzione di diiodio consumati.

Succo d'arancia utilizzato con c=$\frac{30\ mg}{100\ mL}$ di Vitamina C.

4.6.7. Risultati A

Nei calcoli del risultato, sia nella parte A che nella parte B, non indico come ho ricavato la concentrazione di $8.806 \cdot 10^{-3}\ \frac{g}{mL}$ per evitare di scrivere i passaggi stechiometrici; ma il dato è facilmente ricavabile. Dal sottoparagrafo 4.6.2 risulta che $1\ mol$ di I_2 ossida $1\ mol$ di $C_6H_8O_6$, ossia l'acido ascorbico, e dal momento che la concentrazione di soluzione di diiodio utilizzata è $0.05\ M$ si trova che $1\ L$ di I_2 $0.05\ M$ ossida $1\ L$ di $C_6H_8O_6$ $0.05\ M$, il quale contiene $8.806\ g$ di Vitamina C pura. La chiave di questa reazione specifica di ossidoriduzione è pertanto $1\ mL$ di I_2 $0.05\ M$ ossida $8.806 \cdot 10^{-3}\ g$ di acido ascorbico.

- Prima titolazione

Questo lavoro di laboratorio l'ho incominciato il 25 sett. 2014, dove ho preparato le soluzioni ed ho già titolato della Vitamina C.

Concentrazione Vitamina C: $1.0036\ g/100\ mL$

Quantità di I_2 (aq) reagita: $27.8\ mL$

Risultato sperimentale quantità di Vitamina C reagita: $8.806 \cdot 10^{-3}\ \frac{g}{mL} \cdot 27.8\ mL \cdot 4 = 0.979\ g$

Dopo la prima titolazione posso notare come il risultato da me ottenuto sperimentalmente sia abbastanza vicino a quello di massa misurata con la bilancia.

- Seconda titolazione

Una settimana dopo, il 1 ott. 2014, mi sono ricimentata nella titolazione redox, mantenendo la medesima soluzione di Vitamina C e di I_2 della volta scorsa. È dunque probabile che le miscele si siano un poco degradate con la luce del sole o altro.

Concentrazione Vitamina C (=): $1.0036\ g/100\ mL$

Quantità di I_2 (aq) reagita: $27.5\ mL$

Risultato sperimentale quantità di Vitamina C reagita: $8.806 \cdot 10^{-3}\ \frac{g}{mL} \cdot 27.5\ mL \cdot 4 = 0.969\ g$

- Terza titolazione

Il 9 ott. 2014 ho preparato una nuova soluzione di Vitamina C ed ho svolto altre due titolazioni.

Concentrazione Vitamina C: $1.0004\ \mathrm{g}/100\ \mathrm{mL}$

Quantità di I_2 (aq) reagita: $27.9\ \mathrm{mL}$

Risultato sperimentale quantità di Vitamina C reagita: $8.806 \cdot 10^{-3}\ \frac{g}{mL} \cdot 27.9\ mL \cdot 4 = 0.983\ g$

Essendo la concentrazione della soluzione di Vitamina C più vicina ad $1\ g/100\ mL$, il risultato sperimentale si avvicina anche maggiormente ad $1\ g$.

- Quarta titolazione

In quest'ultima titolazione, svolta subito dopo la terza, ho ottenuto risultati molto simili ad essa.

Concentrazione Vitamina C (=): $1.0004\ \mathrm{g}/100\ \mathrm{mL}$

Quantità di I_2 (aq) reagita: $27.8\ \mathrm{mL}$

Risultato sperimentale quantità di Vitamina C reagita: $8.806 \cdot 10^{-3}\ \frac{g}{mL} \cdot 27.8\ mL \cdot 4 = 0.983\ g$

4.6.8. Risultati B

- Prima titolazione

Il 9 ott. 2014 ho svolto la prima titolazione del succo d'arancia e anche le due seguenti. I dati di questo primo esperimento non li considero in quanto sono un poco sballati essendo questo il primo tentativo.

- Seconda titolazione

Quantità di I_2 (aq) reagita: $4.1\ \mathrm{mL}$

Risultato sperimentale quantità di Vitamina C reagita: $8.806 \cdot 10^{-3} \frac{g}{mL} \cdot 4.1\ mL \cdot 1 = 0.036\ g = 36\ mg$

Dopo la seconda titolazione posso notare come il risultato da me ottenuto sperimentalmente sia abbastanza vicino al dato riportato sull'etichetta del succo; con una maggiore accuratezza e precisione mia ipotizzo che sarà possibile trovare un dato ancora meno distante da $30\ mg$.

- Terza titolazione

  Quantità di I_2 (aq) reagita: $3.8\ \mathrm{mL}$

  Risultato sperimentale quantità di Vitamina C reagita: $8.806 \cdot 10^{-3} \frac{g}{mL} \cdot 3.8\ mL \cdot 1 = 0.033\ g = 33\ mg$

In questo caso il dato ottenuto sperimentalmente è più vicino a quello di confronto.

4.6.9. Commento e conclusione

I risultati sperimentali ottenuti complessivamente sono alquanto soddisfacenti, dal momento che si avvicinano molto ai risultati attesi. Gli errori possono essere dovuti dall'imprecisione degli strumenti utilizzati, ma anche dalla mia stessa imprecisione originata ad esempio da distrazioni. Inoltre la determinazione del punto d'equilibrio non è risultata così immediata e precisa, poiché bastava fare cadere una goccia in più di diiodio nel bicchierino per allontanare non di poco il dato ottenuto da quello di confronto.

Nella parte A la media dei quattro risultati sperimentali equivale a $0.979\ g$, valore decisamente prossimo alla massa di $1.0004\ g$ di Vitamina C realmente utilizzata. Per quanto concerne la parte B, da cui ho ricavato solo due dati validi, la media ottenuta è $34.5\ mg$, valore già più distante da quello di confronto, ovvero $33\ mg$. Nella parte B era necessaria una maggiore precisione dal momento che i mL di diiodio che reagivano erano molto inferiori rispetto a quelli reagiti nella parte A, questo è dato dal fatto che nella soluzione B la Vitamina C era meno concentrata rispetto alla soluzione A.

Essendo questo il primo esperimento svolto il più del tempo autonomamente in laboratorio, le difficoltà non hanno tardato a mostrarsi, soprattutto quelle di tipo pratico, ma abbastanza presto sono riuscita ad arrangiarmi e a compiere un buon lavoro.

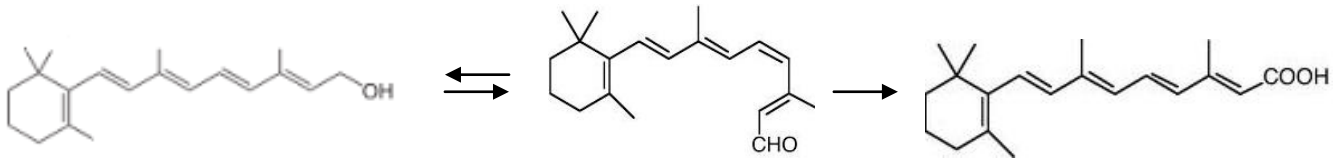
5. La vitamina A

5.1. Proprietà

5.1.1. Struttura

Il retinolo, il retinale e l'acido retinoico sono considerati tre forme della Vitamina A. I primi due possono venire interconvertiti, mentre l'acido retinoico una volta formato dopo ossidazione non può più venire convertito.

Retinolo *Retinale* *Acido retinoico*



La formula molecolare del retinolo è $C_{20}H_{30}O$, quella del retinale $C_{20}H_{28}O$ e quella dell'acido retinoico $C_{20}H_{28}O_2$.

5.1.2. Generali

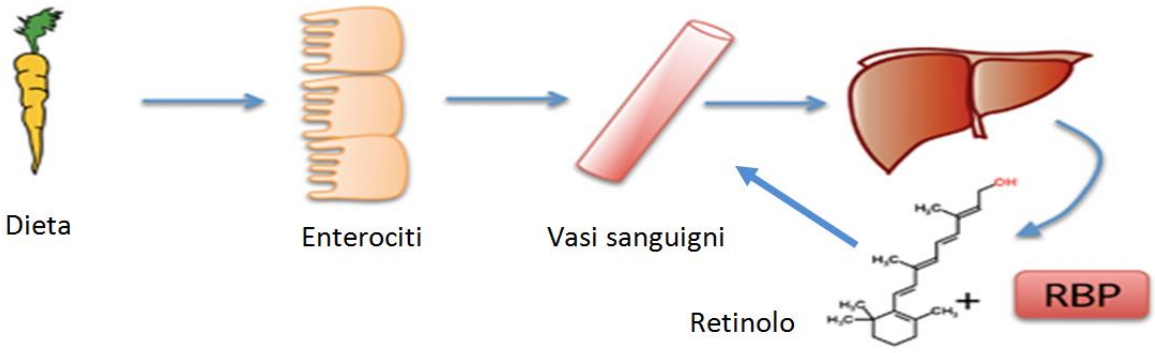
La Vitamina A in quanto tale è fondamentale per molteplici aspetti collegati al mantenimento della salute: soprattutto per ciò che concerne la funzione immunologica, la condizione della pelle, del sistema cardiovascolare, il metabolismo delle droghe, la protezione antiossidante, e l'antioncogenesi.

Generalizzando si può dire che un apporto adeguato di Vitamina A nella dieta renda gli individui meno suscettibili alle infezioni. Ma si tratta di un'affermazione non pienamente corretta se non si specifica che il **sistema immunitario** viene infiacchito indirettamente dall'assenza di questa vitamina, in quanto è una malnutrizione a livello proteico che va ad intaccare la funzione immunologica. Questo indebolimento è dato dai cambiamenti che si riscontrano a livello degli organi linfoidi, come il midollo osseo, il timo, la milza e i linfonodi, della distribuzione delle cellule e dei linfociti. Il ruolo della Vitamina A o più precisamente dell'acido retinoico, che lavora nel nucleo, è quello di aumentare le risposte immunitarie primarie e la biosintesi dei *linfociti B*[21]. La funzione della Vitamina A è anche fondamentale per la nostra **pelle**, dal momento che funge da regolatrice, insieme a dei cicli ormonali, di alcune reazioni che avvengono nell'epidermide: più in specifico tutela la differenziazione dei cheratinociti, cellule dell'epidermide sintetizzanti *cheratina*[22], cosicché la pelle non diventi squamosa, grassa oppure secca e i follicoli piliferi non si ostruiscano o amplino. La **detossificazione** dell'organismo da varie droghe, farmaci ma anche prodotti di scarto, attuata dai *citocromi P-450*[23], viene sostenuta dalla Vitamina A in quanto essa stimola e aumenta l'attività di questi laboriosi enzimi. Per quanto invece concerne la manifestazioni di **disturbi cardiovascolari**, quali ictus ischemico e infarto miocardico, essi sono inversamente proporzionali al consumo di provitamina A e dunque al livello di retinolo presente nel plasma. Un'assunzione sufficiente di retinoidi può dunque evitare problemi di questo tipo. La relazione tra la nascita di **cellule tumorali** e il ruolo della Vitamina A è stata confermata dopo avere dimostrato che pazienti aventi una leucoplachia, condizione precancerogena della mucosa orale, possedevano livelli di retinolo molto ridotti rispetto a pazienti sani e che un trattamento a base di questa sostanza riduceva lo sviluppo di lesioni e ne causava il recesso. La **protezione antiossidante** svolta dalla Vitamina A ha le medesime proprietà spiegate nel sottoparagrafo 4.1.2 nell'ambito della Vitamina C.

[21] Cellule con ruolo primario nella produzione di immunoglobuline (anticorpi).
[22] Proteina fibrosa che conferisce ad unghie, capelli, peli e pelle resistenza.
[23] Proteine trasportatrici di elettroni.

5.2. Metabolismo

Il metabolismo della Vitamina A è molto complesso e comporta l'entrata in gioco di molte forme retinoiche, le quali vengono a crearsi dopo differenti processi, quali l'esterificazione, la coniugazione, l'ossidazione e l'isomerizzazione del retinolo.

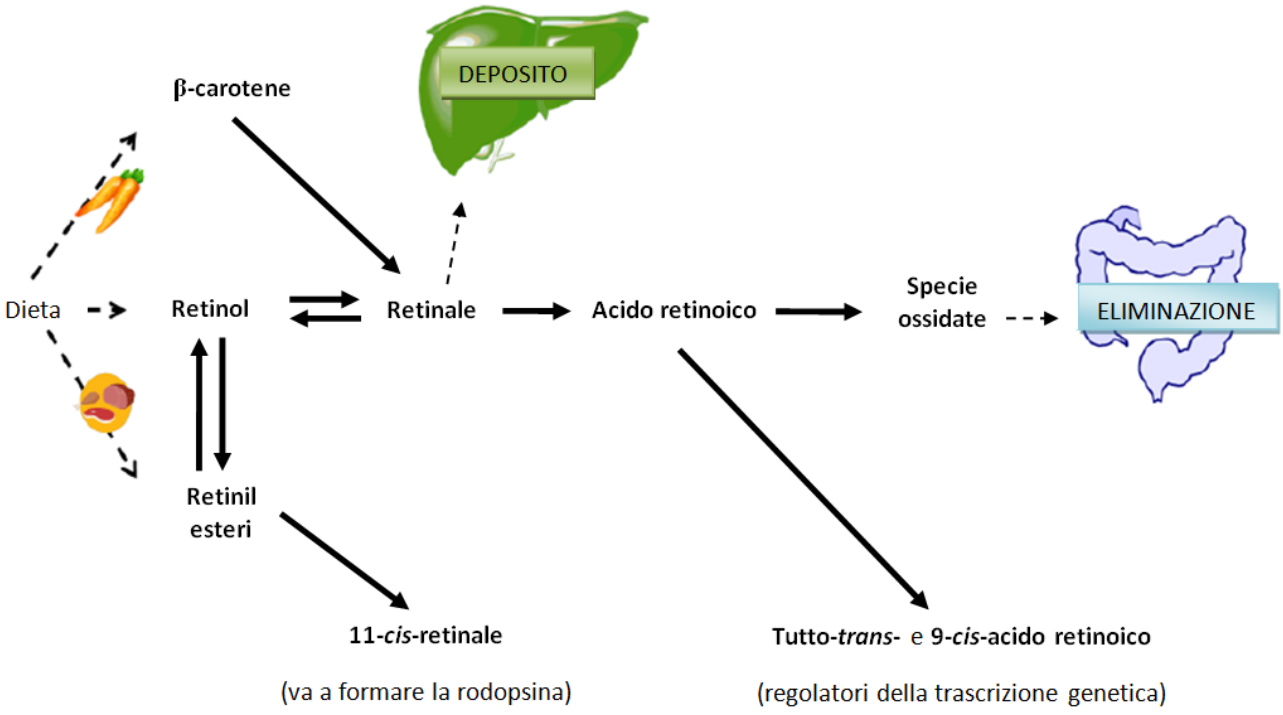


Percorso dei retinoidi dalla dieta al circolo ematico.

Il retinolo, dopo avere attraversato l'intestino ed essere giunto negli *enterociti*[24], viene convertito nel suo estere, ossia il retinil estere, dall'enzima LRAT (**L**ecitina **R**etinolo **A**cil **T**ransferasi); in questo modo, per entrare nel plasma, può venire incorporato nei *chilomicroni*[25], facendo così fronte all'ambiente acquoso. Il fegato assorbe gran parte del retinolo esterificato dal complesso chilomicrone-retinil estere e lo immagazzina se in eccesso, in caso contrario lo trasforma in retinolo il quale si lega alla proteina RBP (***R**etinol **B**inding **P**rotein*), più raramente anche alla proteina TTC (Transtiretina), perché possa circolare nel sangue. In minor quantità anche in tessuti extra-epatici viene assorbito il retinolo attivato subito come acido retinoico, il quale entra nel circolo ematico grazie all'*albumina*[26] per poi raggiungere principalmente la retina attraversando le membrane cellulari tramite diffusione passiva. Il retinolo in circolo invece entra nelle varie cellule sia attraverso il meccanismo di diffusione passiva sia attraverso i recettori della RBP sulle cellule stesse.

L'eliminazione della Vitamina A avviene per via fecale sottoforma di specie ossidate.

[24] Cellula epiteliale dei villi intestinali.
[25] Lipoproteine di grosse dimensioni.
[26] Proteina plasmatica prodotta dalle cellule epatiche.



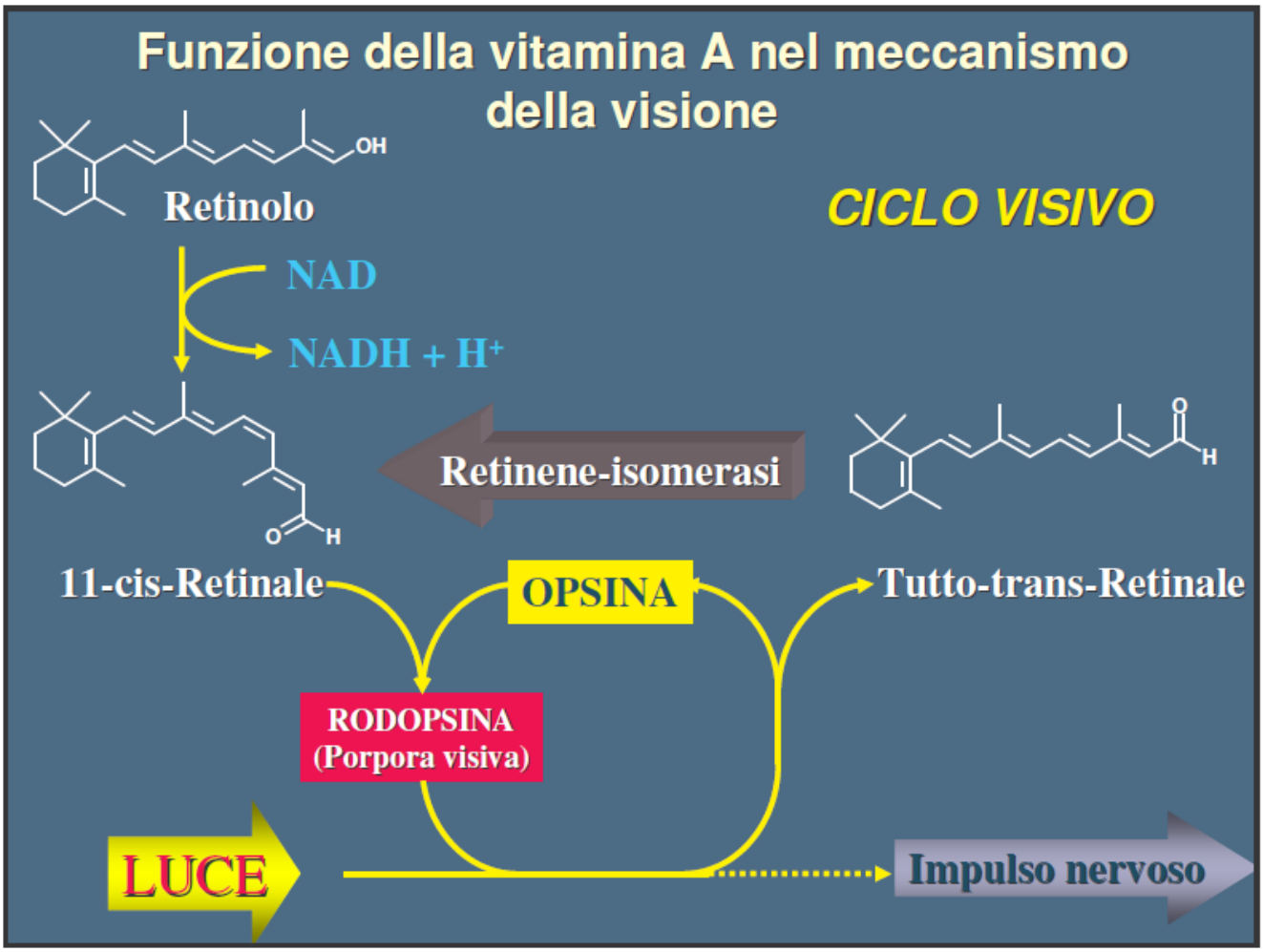
Varie forme di Vitamina A nel corpo.

5.3. Funzione metabolica

La regolazione della trascrizione genetica e la partecipazione al meccanismo molecolare della visione sono i compiti più importanti svolti della Vitamina A; per la visione è necessaria la sua forma esterificata e per la trascrizione genetica il suo acido. Ma è anche essenziale per il processo di embriogenesi e riproduzione e per il mantenimento di ossa sane.

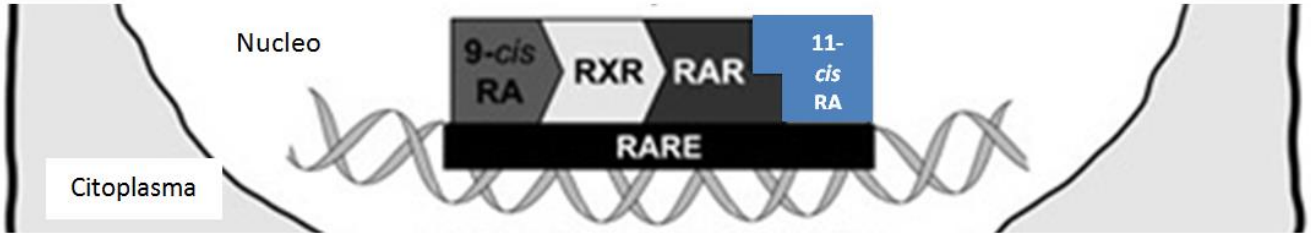
Per quanto concerne il ciclo visivo, in una delle due cellule fotoricettive della retina, i *bastoncelli*[27], viene prodotta la rodopsina, proteina che permette il **meccanismo della visione**. La formazione della rodopsina però avviene solo in presenza di 11-*cis*-retinale, che giunge alla retina dal circolo sanguigno e si lega all'opsina, parte proteica della rodopsina, già presente nella retina. La rodopsina interagisce poi con la luce generando l'impulso nervoso che ci permette di vedere; dopodiché si chiude il ciclo in quanto i due scarti vengono ricilati: l'opsina rimane nella retina e reagisce con altro 11-*cis*-retinale, mentre il tutto-trans-retinale si ritrasforma nel retinoide iniziale.

[27] Cellula fotoricettrice responsabile della visione in penombra, infatti non è sensibile ai colori ma distingue solo le sfumature di grigio. Le altre cellule fotosensibili della retina sono invece i coni, i quali sono sensibili ai colori e sono responsabili della visione in condizioni di luce intensa.



Ciclo visivo.

Il 9-*cis*- e l'11-*cis*-acido retinoico regolano il processo di **trascrizione genica** mediante l'interazione con recettori nucleari: rispettivamente il RAR (***R**etinoidic **A**cid **R**eceptor*) e il RXR (***R**etinoic **X** **R**eceptor*). Questi recettori circolanti nel citoplasma, entrano nel nucleo solo quando si legano al proprio acido e in seguito vanno a formare il complesso 9-cis-acido retinoico+RXR-9-cis-acido retinoico+RXR oppure il complesso 11-cis-acido retinoico+RAR-9-cis-acido retinoico+RXR (raffigurato sotto). Questi complessi si legano infine a specifiche sequenze di geni chiamati *elementi dispositivi dell'acido retinoico* (RAREs*: **R**etinoic **A**cid **R**esponse **E**lements*), inducendo la trascrizione dell'RNA messaggero. L'effetto finale sulla trascrizione dei geni dipende appunto dalla disponibilità di acido retinoico.



Esempio di formazione del complesso RARE-RXR-RAR.

A tale trascrizione si riconduce l'**embriogenesi**, le cui fasi sono estremamente dipendenti dall'acido retinoico, poiché esso è regolatore di molti geni che permettono questo sviluppo.

È inoltre noto che la Vitamina A è fondamentale per la **riproduzione**, ma la base dei processi biochimici non è conosciuta. Grazie a degli esperimenti in laboratorio si è però constatato che è il retinolo e non l'acido retinoico a risultare rilevante in questo processo. Infatti i topi nutriti di acido retinoico crescono bene ed in modo apparentemente sano, ma perdono la capacità riproduttiva.

Anche il ruolo metabolico della Vitamina A nelle ossa non è chiaro, ma da differenti studi su animali è stato mostrato che un basso apporto di questa vitamina causa una forte diminuzione della densità dei minerali in esse e un conseguente aumento di rischio di frattura ossea. Anche per uno **scheletro resistente** è dunque fondamentale un sufficiente consumo cibi contenenti tale vitamina.

5.4. La nictalopia, la xeroftalmia, la cheratomalacia e la emeralopia, sindromi di carenza

La nictalopia, termine derivante dalle parole greche νύξ νυκτός (nüx nüktòs) «notte» e ὤψ ὠπός (òps opòs) «occhio, vista», la xeroftalmia ,derivante anch'esso dal greco ξηρός (xäròs) «secco» e ὀφταλμός (oftalmòs) «occhio», la cheratomalacia, e l'emeralopia sono disturbi alla vista conosciuti già ai tempi dei Romani. A differenza delle altre malattie di carenza (vedi paragrafo 3.6), queste non sono sotto controllo a livello globale, di fatto sono ampiamente diffuse in molti paesi in via di sviluppo e sono considerate le più comuni cause di cecità infantile.

Questi stati patologici sono provocati da una carente assunzione di Vitamina A o del suo precursore carotene (provitamina A), contenuti principalmente in fonti animali. È noto ormai da tempo che molti bambini che si nutrono solamente di alimenti di origine vegetale incorrono in questi morbi, mentre bambini che vivono nei pressi delle coste, che possono dunque nutrirsi più facilmente di pesce ad esempio, le fuggono. Anche conosciuto era il rimedio: la dieta di fegato e olio di fegato di merluzzo soprattutto.

Le malattia di carenza di vitamina A causano principalmente quattro distinti danni: perdita della vista dovuta alla mancata formazione della *rodopsina*[28] nella retina, difetto nella crescita delle ossa, anomalia nella riproduzione, nella crescita e nella differenziazione dei tessuti epiteliali. Più

[28] Proteina responsabile del sistema di visione (vedi paragrafo 5.3).

generalmente i problemi si estendono ai sistemi urinari, riproduttivi, alimentari e respiratori rendendo i tessuti più suscettibili a vari tipi di infezioni.

La **cheratomalacia** fa divenire la cornea opaca, secca e su di essa appare una macchia scura, inoltre la fa diventare facile preda di infezioni che possono portare anche ad un processo di perforazione.

Cornea divenuta opaca a causa della cheratomalacia.[29]

L'**emeralopia**, chiamata anche *cecità diurna*, è considerata l'incapacità di vedere in situazioni di penombra, come è ben osservabile nell'immagine sottostante. Diminuisce inoltre la capacità di vedere i contrasti ed al contrario aumenta il tempo necessario all'occhio per adattarsi ai cambiamenti di intensità luminosa. Individui affetti da questa patologia presentano un numero maggiore di *bastoncelli*[30] rispetto ai coni nella retina (vedi sottoparagrafo 5.3).

Ai lati: visione normale; al centro: visione di un soggetto affetto da emeralopia.[31]

[29] http://www.medindia.net/symptoms/vision-problems.htm

[30] Cellula fotoricettrice responsabile della visione in penombra, infatti non è sensibile ai colori ma distingue solo le sfumature di grigio. Le altre cellule fotosensibili della retina sono invece i coni, i quali sono sensibili ai colori e sono responsabili della visione in condizioni di luce intensa.

[31] http://www.oftal.it/rp.htm#Testa

La **nictalopia**, definita anche *cecità diurna*, è invece una patologia che non permette di vedere bene nelle ore diurne, che rallenta il periodo di messa a fuoco da zone più illuminate a zone con luce più tenue, inoltre riduce decisamente il contrasto visivo. In questo caso invece, contrariamente all'emeralopia, il numero di coni è maggiore rispetto a quello dei bastoncelli.

La **xeroftalmia** si presenta come un'enorme stanchezza della *congiuntiva*[32] che le fa perdere la sua caratteristica lucentezza, ciò è anche dovuto ad un'insufficiente secrezione lacrimale.

Tutte queste patologie possono condurre ad una parziale o totale cecità se non curate in tempo, infatti dopo una certa soglia neppure la somministrazione di Vitamina A può guarire le persone affette.

5.5. Cromatografia TLC

5.5.1. Scopo dell'esperienza

Questa esperienza ha lo scopo di confrontare la traccia lasciata sulla lastra cromatografica dalle sostanze contenute nella soluzione di cloroformio e Vitamina A e quella lasciata dalle sostanze contenute nel succo *Gold Multivitamin* contenente tale vitamina.

5.5.2. Metodo

La cromatografia su strato sottile o TCL (***T**hin **L**ayer **C**hromathography*) è una tecnica analitica di separazione delle sostanze contenute in una miscela. Nel mio caso la separazione avviene su una lastra di gel di silice, **fase stazionaria** solida, per mezzo di una miscela di cicloesano ed etere dietilico, **fase mobile** liquida. Le componenti delle soluzioni in esame sulla lastra vengono trasportate dalla fase mobile per capillarità più o meno velocemente a dipendenza del tempo di ritenzione. Questa proprietà dipende delle affinità della sostanza analizzata verso le due fasi; maggiore è lo spazio percorso da un componente maggiore sarà la sua affinità con la fase mobile e minore quella con la fase stazionaria e viceversa.

Perché l'esperienza giunga a buon esito è necessario tenere in considerazione alcuni punti: il campione deve essere solubile nella fase mobile così da venire trasportato anch'esso per capillarità, e le due fasi devono interferire il meno possibile l'una con l'altra, in modo che siano solo le varie componenti a venire adsorbite dalla lastra e di conseguenza ad essere rallentate nel trasporto della fase mobile.

5.5.3. Sicurezza

Durante l'esperienza ho indossato camice, occhiali protettivi e guanti dal momento che ho lavorato con sostanze anche tossiche.

5.5.4. Materiale

- Lastre in gel di silice F_{254}
- Soluzione di cicloesano e etere dietilico ($\frac{v}{v} = \frac{1}{1}$)

[32] Membrana trasparente che ricopre la superficie interna delle palpebre.

- Soluzione di retinolo e cloroformio ($c = \frac{1.5\ mg}{10\ mL}$)
- Vasca cromatografica
- Lampada UV
- Fön
- Pipetta Pasteur

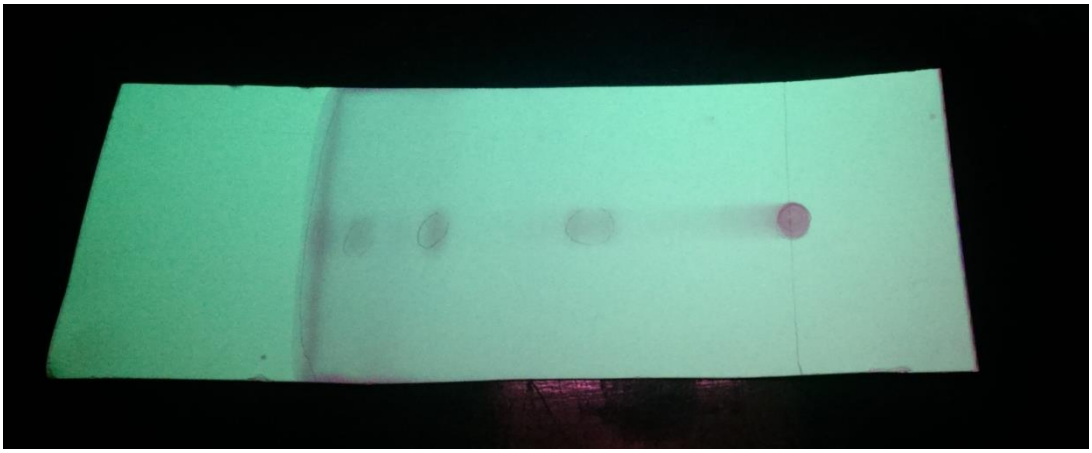
5.5.5. Parte sperimentale

Si prepara una lastra cromatografica di dimensioni $20x5\ cm$ e in matita si traccia una sottile linea orizzontale a $2\ cm$ dalla base (lato corto). Si deposita una goccia di ogni soluzione in esame sulla linea, a distanza di $2\ cm$ l'una dall'altra, con una pipetta Pasteur; si evita che il diametro delle gocce sia troppo grande, si asciuga con un fön e si ripete l'operazione cinque volte. Sotto la cappa, si versa la soluzione di cicloesano e etere dietilico nella vasca cromatografica fino all'altezza di $1\ cm$ circa; la si copre dopo avere inserito la lastra (per il lungo). Si aspetta; prima che la fase mobile abbia raggiunto il termine della lastra, si estrae quest'ultima e si segna con una linea di matita il livello a cui è arrivata la soluzione. Si asciuga la lastra per mezzo di un fön e la si pone sotto una lampada UV per distinguere le varie componenti della soluzione contenente Vitamina A. Con una matita si evidenziano le chiazze in risalto in modo che si possano identificare ad occhio nudo.

In primo luogo ho inoltre provato ad evidenziare le sostanze nebulizzando sulla lastra una soluzione di acido fosfomolibdico come descritto nella USP[33], senza però ottenere risultati soddisfacenti.

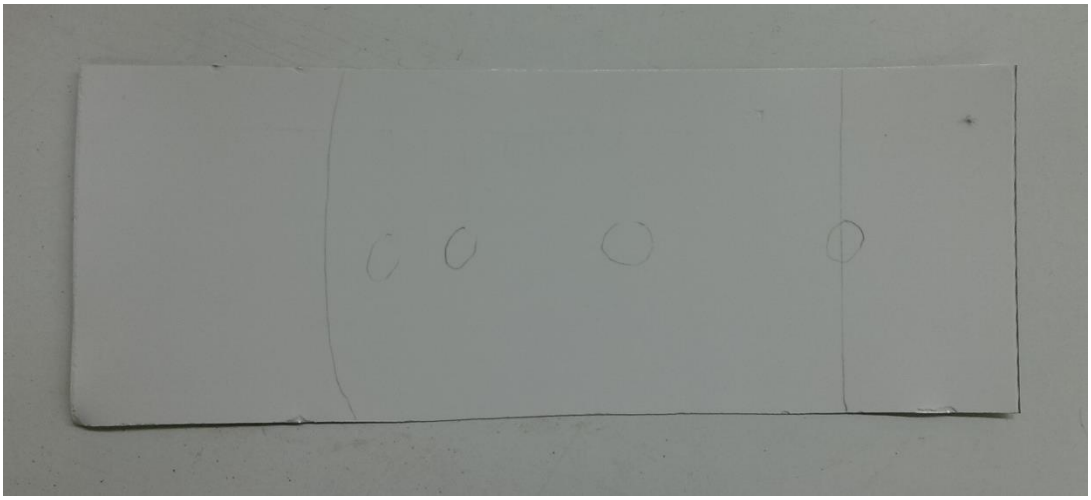
5.5.6. Risultati, commento e conclusione

Durante questa esperienza ho svolto differenti cromatografie. Inizialmente, per familiarizzare con questo tipo di lavoro sperimentale, ho analizzato, senza compiere alcun confronto, una lastra cromatografica su cui è corsa la soluzione di vitamina A. E come è ben visibile nella fotografia si notano delle zone in cui il colore è più marcato, questo sta ad indicare che in ogni punto si è fermata una sostanza. Posso così già affermare che la soluzione è una miscela di più sostanze.



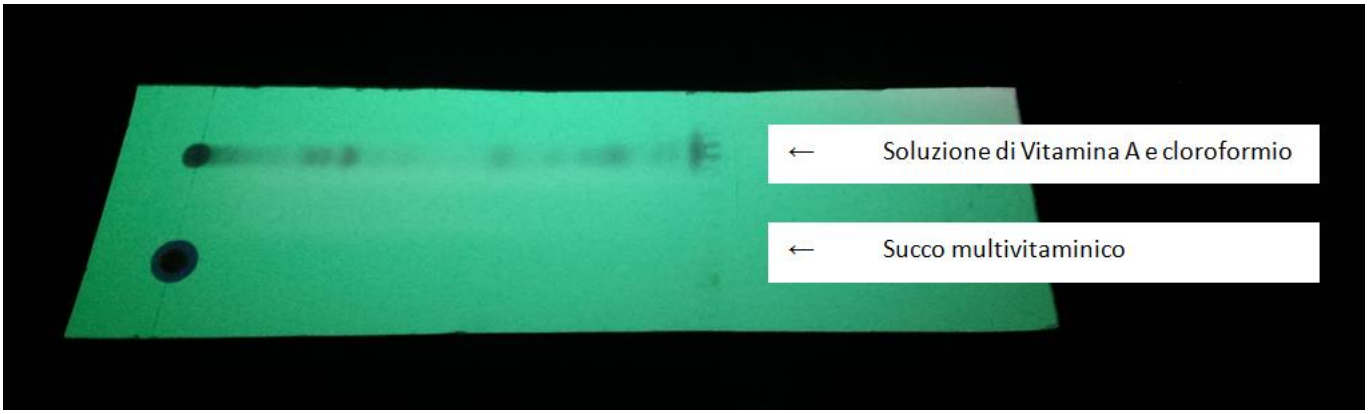
Lastra cromatografica sotto i raggi UV.

[33] USP 29-NF24 pag. 2258.



Lastra cromatografica ad occhio nudo.

Per quanto concerne invece il confronto tra le due soluzioni, mi sono imbattuta in una situazione singolare non prefissata, ma ciò non significa che non abbia comunque potuto commentare i risultati. Come si vede dalla fotografia sottostante raffigurante la lastra sotto i raggi UV, la scia lasciata dalla soluzione di Vitamina A mostra zone più marcate di altre per il motivo sopra indicato, mentre dall'altra parte il succo multivitaminico non ha lasciato nessuna traccia di Vitamina A. Di primo acchito ciò potrebbe significare che nel succo non era contenuta tale vitamina, al contrario di quello che indicava la tabella dei valori nutrizionali. Ma in seguito a differenti calcoli ho determinato che molto probabilmente la vitamina era presente, ma in quantità talmente esigue da non poterla rilevare. Infatti la dose di succo multivitaminico depositata conteneva quantità all'incirca cinquanta volte minori di Vitamina A rispetto alla soluzione di confronto. Teoricamente, per fare un vero e proprio paragone, avrei dunque dovuto posizionare cinquanta gocce di succo in più.



Lastra cromatografica risultata dalla cromatografia di confronto.

Questo lavoro sperimentale è molto accessibile e affatto complicato, viene svolto abbastanza velocemente, e nel caso in cui si volesse eseguire un semplice lavoro di confronto è l'ideale.

6. Conclusioni e commento personale

Sono molto soddisfatta di questo lavoro di maturità. In questo anno di ricerche, esperimenti e stesura ho avuto modo di confrontarmi con un compito del tutto nuovo per me, ovvero la realizzazione di una ricerca personale di ampio respiro. Questo non è però stato un percorso in discesa, anzi, soprattutto inizialmente ho riscontrato notevoli ostacoli. Primo tra questi è stata la comprensione dei testi scientifici scritti in inglese, ho dovuto di conseguenza dedicare molto tempo alla loro traduzione e comprensione. Man mano ho però capito quale dovesse essere l'approccio nei confronti di questi libri ed ho anche acquisito maggiore sensibilità con la lingua. Altre grandi difficoltà che ho incontrato sono state il lessico spesso molto specifico e le tematiche prettamente chimiche, dal momento che le mie conoscenze iniziali si limitavano alle nozioni di base della materia. Per ciò che invece concerne la parte pratica, che mi ha occupato all'incirca 30 ore, dopo essere stata sulle prime lenta ed indecisa, ho acquistato sicurezza familiarizzando con l'ambiente, gli strumenti e le tecniche.

Questo lavoro mi ha dunque arricchita sotto molteplici aspetti: ho imparato ad organizzarmi in primo luogo, ho acquisito dimestichezza nel lavoro pratico del laboratorio ed inoltre ho sicuramente aumentato le mie competenze sia in ambito linguistico che in imbito chimico-scientifico soprattutto.

Seguendo io un curriculum classico, ho anche cercato di inserire all'interno dell'elaborato delle etimologie che si rifacessero alle mie conoscenze in greco e latino, in aggiunta, come già scritto, è anche presente una parte prettamente storica; questi due aspetti contribuiscono a dare una valenza multidisciplinare al lavoro.

In conclusione la scelta del tema mi ha molto appassionata, in quanto ho realizzato come un semplice composto organico possa inpersonificare numerosissimi ruoli determinanti per una vita in salute e per di più mi ha ribadito come il corpo umano sia complesso e affascinante.

7. Bibliografia e sitografia

Gerald F. Combs (2012), The *Vitamins, Fundamental Aspects in Nutrition and Health*, Fourth Edition, USA, Academic Press.

Harold Hart, Leslie E. Craine e David J. Hart (2003), CHIMICA ORGANICA, Quinta Edizione, Bologna, Zanichelli.

Lee R. McDowell (2013), *Vitamin History, The Early Years*, Florida USA, IFAS.

Helga Gussek (2002), "Metabolismo della vitamina A e retinite pigmentosa", *Giornale Retina Suisse*, numero 1 (http://www.retina.ch/files/retina-journal/html/2002/rsj2002-01-i-3.htm).

Yang Li, Nuttaporn Wongsiriroj and William S. Blaner (2014), „The multifaceted nature of retinoid transport and metabolism", *HBSN*, Vol 3, No 3, June (http://www.thehbsn.org/article/view/3926/4896).

Anna Maria Paolucci, *Vitamine*, http://www.treccani.it/enciclopedia/vitamine_(Universo_del_Corpo)/, 2000.

Dizionario Della Salute corriere, *Occhi – Patologie*, http://www.corriere.it/salute/dizionario/c_occhi_patologie.shtml.

Dizionario di Medicina Treccani, *NAD (sigla degll'ingl Nicotinamide Adenine Dinucleotide)*, http://www.treccani.it/enciclopedia/nad_(Dizionario_di_Medicina)/, 2010.

Enciclopedi Treccani, *Ormone*, http://www.treccani.it/enciclopedia/ormone/.

Enciclopedia Treccani (Dizionario di Medicina), *Avitaminosi*, http://www.treccani.it/enciclopedia/avitaminosi_(Dizionario-di-Medicina)/, 2010.

Enciclopedia Treccani, Avitaminosi, http://www.treccani.it/enciclopedia/avitaminosi/.

Enciclopedia Treccani, *Diossigenasi*, http://www.treccani.it/enciclopedia/diossigenasi/.

Enciclopedia Treccani, *Monoossigenasi*, http://www.treccani.it/enciclopedia/monoossigenasi/.

Enciclopedia Treccani, *Polarimetria*, http://www.treccani.it/enciclopedia/polarimetria/.

Enciclopedia Treccani, Titolazione, http://www.treccani.it/enciclopedia/titolazione/.

Fabio Amorelli, *Retinite Pigmentosa*, http://www.oftal.it/rp.htm#Testa.

http://didattica.uniroma2.it/assets/uploads/corsi/141858/Lezione_4_22_03_2012_did_web.pdf.

http://elearning2.uniroma1.it/pluginfile.php/28416/mod_forum/attachment/7202/Cromatografia_su_TLC.A4.pdf.

http://xfiles.farmacia.uniba.it/farmol/didattica_web/56/argomenti/CTF%20Vitamine%2007-08%20pdf/CTF%20-%20Vitamine%20Liposolubili%2007-08_pdf.pdf.

Marco Olivieri, *GLI ANTINUTRIENTI*, http://nutribio.altervista.org/antinutrienti.pdf.

Patrizia R. Mussini e Laura Belvisi, *Chi è più ricco di vitamina C?*, http://users.unimi.it/ECEA/didattica/materiale_anal/Acido%20Ascorbico%20per%20corso.pdf, 2012.

V. Cavrini e V. Andrisano, *Principi di ANALISI FARMACEUTICA*, http://books.google.ch/books?id=eZkeVP7IPeEC&pg=PA85&lpg=PA85&dq=potere+rotatorio+acido+ascorbico&source=bl&ots=cU_-TBOxwM&sig=3qGXXVcvnOM9g3BRySH2qWekjT0&hl=it&sa=X&ei=sE9BVO25J4roaICggoAC&ved=0CB8Q6AEwAA#v=onepage&q=potere%20rotatorio%20acido%20ascorbico&f=false, 2013.

Vocabolario Treccani, *Coenzima*, http://www.treccani.it/vocabolario/coenzima/.

Vocabolario Treccani, *Vitamina*, http://www.treccani.it/vocabolario/vitamina/.