

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DELLA BASILICATA



DIPARTIMENTO DI SCIENZE

INVESTIGATORI

PER CASO



ESPERIENZA 1 :

ETILOMETRO

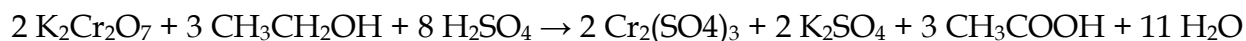
L'etilometro è uno strumento utilizzato per la rilevazione dell'etanolo contenuto nel sangue attraverso l'analisi dell'aria alveolare espirata; la concentrazione alcoolemica viene indicata in g/L. L'etanolo, dopo essere ingerito, viene rapidamente assorbito dallo stomaco e dall'intestino tenue e si distribuisce in tutta l'acqua corporea. La maggior parte dell'etanolo viene metabolizzato nell'organismo, mentre una piccola parte viene eliminata nelle urine, nel sudore e nell'aria espirata. Il principio chimico che sta alla base è la legge di Henry (1803): "Un gas che esercita una pressione sulla superficie di un liquido, vi entra in soluzione finché avrà raggiunto in quel liquido la stessa pressione che esercita sopra di esso", quindi una soluzione acquosa di un composto volatile è in equilibrio con l'aria. Infatti, l'alcool contenuto nelle bevande, una volta assorbito dall'organismo, entra in circolo con il sangue e ci resta fino alla sua espulsione; si può quindi considerare il sangue come una soluzione acquosa contenente una certa percentuale di alcool; di conseguenza, il vapore (contenuto nell'aria che espiriamo) è in equilibrio con tale soluzione, in particolare la percentuale di alcool registrata dall'etilometro in tale vapore è proporzionale a quella contenuta nel sangue. L'etilometro chimico è quindi in grado di far reagire l'etanolo contenuto nell'espirato con un preparato chimico, in modo da valutarne la concentrazione nell'aria espirata e quindi nel sangue.

Esecuzione

Preparare un flacone o una provetta contenente 2 mL di acido solforico, 300 mg di bicromato di potassio, 10 mL acqua e 170 mg di nitrato di argento.

Raccogliere l'aria espirata in un palloncino (dopo aver mangiato un babà o un mon cheri, oppure utilizzando il colluttorio) e fare in modo da farla gorgogliare nel flaconcino.

La funzione del nitrato di argento è quella di catalizzare l'ossidazione dell'alcol; l'acido solforico conferisce un pH adatto affinché la reazione avvenga. La reazione tra bicromato e alcol è una reazione di ossidoriduzione in cui il cromo si riduce passando da numero di ossidazione +6 a +3 mentre l'alcol si ossida ad acido etanoico:



Nel corso della reazione si ha una variazione di colore: il bicromato, infatti, è arancione mentre il cromo (III) è verde. Il grado di variazione di colore è direttamente correlato alla quantità di alcol presente nell'aria espirata.

N.B Normalmente per determinare la *quantità* di alcol presente nell'aria il colore del prodotto della reazione viene confrontato con un flacone contenente i soli reagenti in un sistema di fotocellule che produce una corrente elettrica che provoca uno spostamento di un ago presente nel dispositivo che indica la quantità di alcol presente.

ESPERIENZA 2:

REAZIONE CHEMILUMINESCENTE

La chemiluminescenza è un fenomeno che prevede la liberazione di energia sottoforma di radiazione luminosa visibile in seguito ad una reazione. Questo tipo di reazioni vengono utilizzate dalle Polizie scientifiche per la rilevazione di tracce di sangue sulla scena di un crimine: il Fe^{3+} contenuto nell'emoglobina del sangue agisce da agente ossidante favorendo l'ossidazione di una sostanza chimica chiamata luminolo; questa sostanza, passando dalla forma ridotta a quella ossidata, provoca emissione di luce:

Esecuzione

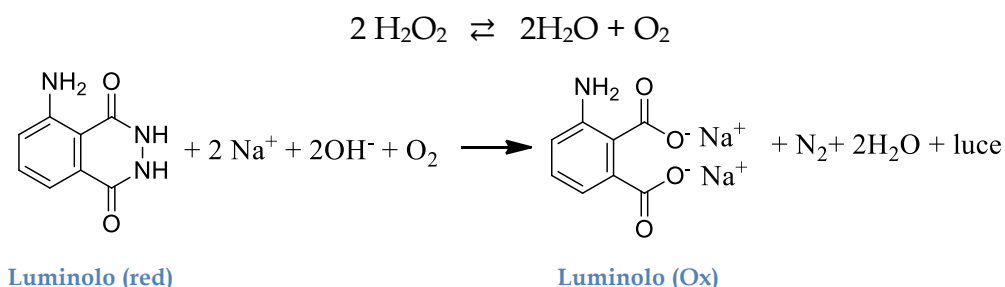
Si preparano due soluzioni:

- Prima soluzione (A): si scioglie 0.5g di luminolo (in forma ridotta) e 25 mL di NaOH al 10 % in 225 mL di acqua.
- Seconda soluzione (B): si sciolgono 7g di $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ in 240 mL di acqua.

Si prendono 50 ml della soluzione A e si aggiungono 175mL di acqua. Poi si prendono 50 mL della soluzione B e si aggiungono 1.5 mL di H_2O_2 al 30% e 175ml di acqua.

Una volta ottenute le due soluzioni così, si sceglie un ambiente oscurato ed entrambe vengono versate contemporaneamente in un matraccio contenente alcuni granuli di $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$. Si osserva l'emissione di luce azzurrina.

Il luminolo in soluzione basica e in presenza di acqua ossigenata, dà luogo a chemiluminescenza in seguito alla reazione di ossidoriduzione:

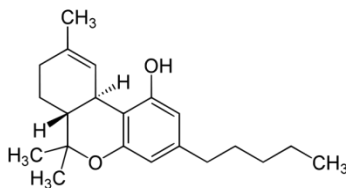


L'esacianoferrato di potassio funge da catalizzatore incrementando la velocità e l'intensità dell'emissione di luce.

ESPERIENZA 3:

IDENTIFICAZIONE CANNABINOIDI

I cannabinoidi sono un gamma di sostanze chimiche naturali presenti nella Cannabis sativa, con struttura molto simile, che possono essere utilizzati come antitumorali o antidolorifici per alleviare i dolori delle terapie antitumorali, ma uno di questi prodotti attivo è anche responsabile dell'effetto delle droghe, noto come THC (tetraidrocannabinol):



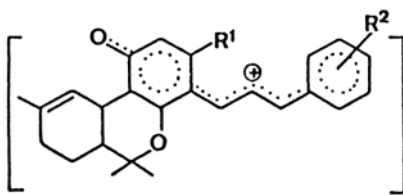
Si tratta di una sostanza psicotropa, farmacologicamente attiva capace di alterare l'attività mentale ed è in grado di indurre fenomeni di dipendenza, tolleranza e assuefazione. Il THC stimola il rilascio di dopamina, può provocare nella persona sensazioni di euforia, rilassamento, percezione spazio-temporale alterata; alterazioni uditive, olfattive e visive, ansia, disorientamento, stanchezza, e stimolazione dell'appetito.

È possibile identificare la presenza di THC e derivati cannabinoli, come Hashish, Marijuana, utilizzando il *Reattivo di Duquenois*, una soluzione in grado di dare colorazione viola in presenza di cannabinoidi.

Esecuzione

- Reattivo di Duquenois: dissolvere 2.5 mL di acetaldeide e 2.0 g di vanillina in 100 mL di etanolo.
- Sostanza da testare: disperdere 10-20 gocce di olio di patchouli o eucalipto in talco fino a consistenza polverulenta. Mescolare in parti uguali questa polvere e il fenazone.

La sostanza da testare si dissolve in poche gocce di reattivo, si aggiunge pari volume di HCl concentrato e si osserva la colorazione viola in seguito alla formazione del seguente prodotto:



Per conferma si estrae con pari volume di cloroformio: se la colorazione passa nella fase organica è confermata la presenza di cannabinoidi.

Per effettuare un controllo negativo viene utilizzato l'origano, la menta o la lavanda: in questo caso la soluzione con il reattivo non assumerà colorazione violacea.

ESPERIENZA 4:

IDENTIFICAZIONE DI ALCALOIDI: ANFETAMINE E OPIACEI

Con il termine alcaloide si intende una sostanza organica di origine vegetale avente gruppi amminici tali da impartire alla struttura un carattere basico. Le strutture possono essere differenti, per cui non è semplice classificarli. È sin dagli anni '40 che gli alcaloidi vegetali sono stati oggetto di intenso studio per trovarne un'applicazione nella terapia dei tumori (soprattutto quelli estratti dalla *Vinca rosea*), infatti impediscono la polimerizzazione delle strutture cellulari chiamate "*microtubuli*" e hanno come bersaglio proprio la proteina principale che li costituisce, la tubulina; possiedono forti azioni fisiologiche su esseri umani e animali; sono fortemente basici, ma spesso molto velenosi e/o psicoattivi in quanto interferiscono con le strutture nervose. Tra gli alcalodi psicoattivi rientrano le anfetamine, gli oppiacei e gli alcaloidi dell'ergot.

Le anfetamine sono sostanze stimolanti il sistema nervoso centrale; il loro capostipite, l'amfetamina fu scoperta nel 1887 e diede nome ad una classe di molecole simili per struttura e/o per azione farmacologica. Poiché in grado di rilasciare dopamina, le anfetamine sono in grado di dare sensazioni di benessere, minore percezione della fatica, sensazione di potere e superiorità e aumentare le capacità intellettive e il battito cardiaco. Tuttavia molti di questi effetti sono reversibili e scompaiono mediamente dopo qualche ora dall'assunzione (a seconda della dose). Quando l'effetto svanisce il soggetto lamenta spossatezza, sonno e depressione, esattamente gli effetti opposti a quelli provati in precedenza. Tali sintomi portano l'individuo a ricercare una maggiore quantità di sostanza per stare bene. Si entra così in un circolo vizioso con rischio di assuefazione ed intossicazione; inoltre l'abuso può provocare infarto, ipertensione arteriosa, disturbi psichici, coma e morte. In medicina vengono utilizzate nella terapia del morbo di

Parkinson e della narcolessia, una rara patologia caratterizzata da irresistibili accessi di sonno durante il giorno.

Con la parola “oppiacei”, invece, ci si riferisce a sostanze alcaloidi naturali (ad esempio la morfina, per lo più estratte dall’oppio) o sintetiche (come l’eroina) che producono effetti diffusi in tutto il corpo, dando una sensazione di piacere ed uno stato di quiete profonda fino alla perdita di coscienza; il cervello avverte queste sostanze attraverso recettori che normalmente funzionano con sostanze rilasciate dal cervello stesso (morfine endogene o endorfine). Infatti è noto che alcuni oppiacei vengano utilizzati in medicina come sedativi e antidolorifici e più di recente anche come farmaci contro la tosse. L’uso improprio però ne produce assuefazione agli effetti, cosicchè diventa necessario aumentarne la dose con conseguente malessere se non si assume la dose successiva entro un certo tempo, il che provoca dipendenza.

L’Ergot, in ultimo, è un parassita delle graminacee che forma degli sclerozi che conferiscono alla pianta infetta, spesso segale, il nome di segale cornuta; in questi sclerozi sono presenti alcaloidi velenosi e psicoattivi, tra cui l’acido lisergico. Questi alcaloidi, essendo dei vaso-costrittori, compromettono la circolazione; inoltre interagiscono con il sistema nervoso centrale, agendo in particolare sui recettori della serotonina.

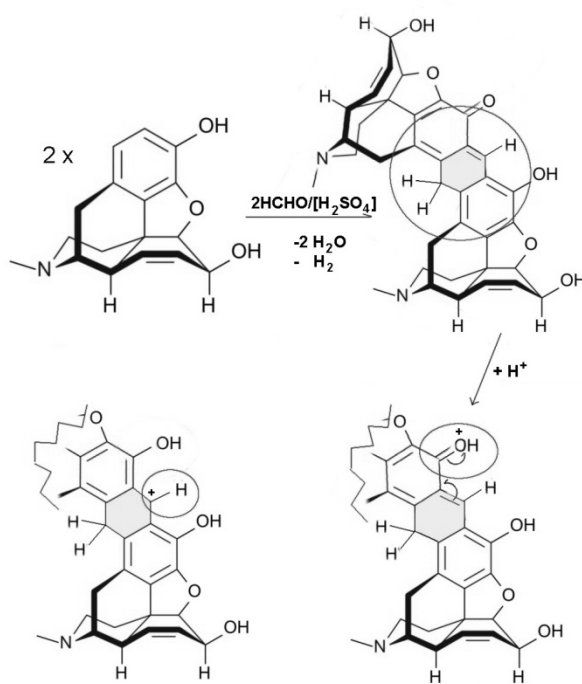
Esecuzione

Reattivo di Marquis:

- Preparazione reattivo: preparare una soluzione acquosa al 40% di formaldeide; prelevare 1mL di tale soluzione di formalina e aggiungere cautamente 100 mL di acido solforico puro. Conservare al riparo della luce
- Sostanza da testare: si può utilizzare codeina/diidrocodeina (prometazina), oppure diclofenac come dispersione al 10% in lattosio.

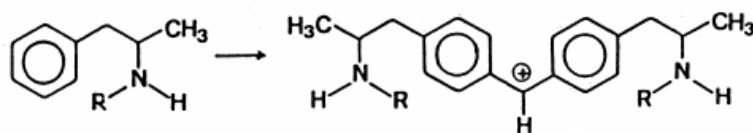
Utilizzare un recipiente smaltato bianco (es.ceramica), aggiungere poche gocce di reagente al campione e notare la colorazione:

viola : identificazione oppiacei. Di seguito si riporta la reazione della morfina con il reattivo: due molecole di morfina e due di formaldeide condensano in presenza di acido solforico concentrato per formare un dimero, che protonato assume la colorazione ottenuta.



arancione : identificazione anfetamine

viola-bruno : identificazione dopamina o metanfetamine



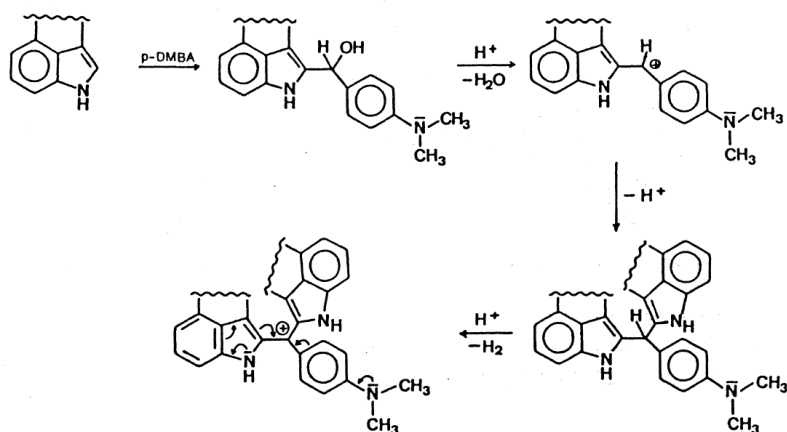
Reattivo di Van Urk o Ehrlich:

- Preparazione del reattivo: dissolvere 1.0g di *p*-dimetilamminobenzaldeide in 25 ml di etanolo e quindi aggiungere 25 mL di HCl concentrato. Il reattivo va preparato fresco.
- Sostanza da testare: si può utilizzare triptamina in dispersione al 10% in lattosio, oppure riscaldare il mix di fenazone e patchouli descritto in esperienza 3.

La sostanza da testare si dissolve in poche gocce di reattivo e si osserva il colore formato; si diluisce con 1-2 gocce di acqua ed osservare l'eventuale cambiamento di colore:

- *Alcaloidi dell'ergot* : viola
- *Opiacei*: arancioni e viola per diluizione
- *Cannabinoli*: rossi o incolore e viola per diluizione

Di seguito si riporta come esempio la reazione della dietilammide dell'acido lisergico (LSD) con il reattivo: una molecola di LSD condensa con *p*-DMBA, l'ambiente acido favorisce la protonazione e la fuoriuscita di acqua che porta alla formazione di uno ione in grado di legare un'altra molecola di LSD e per ossidazione si ottiene la colorazione.



ESPERIENZA 5:

RICERCA SOSTANZE MEDIANTE TLC

Cenni teorici:

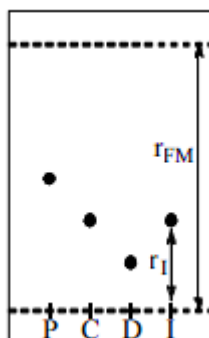
La cromatografia su strato sottile (TLC)

La polizia scientifica usa anche tecniche analitiche separative strumentali (cromatografia) per identificare le droghe. La Thin Layer Chromatography (TLC) è la versione qualitativa di tali tecniche e può essere usata come saggio rapido per una prima immediata identificazione, che poi, se positiva, deve essere confermata per via strumentale accurata.

Per eseguire una TLC si prende una lastrina di materiale rigido o semirigido inerte, su cui è stato depositato un sottile strato di un solido molto speciale detto fase stazionaria. Nel caso presente la fase stazionaria è silice. Si tratta di una sostanza di sottilissima granulometria (microparticelle), che se posta a contatto con liquido (fase mobile) viene da esso attraversata per capillarità. Solitamente la lastrina viene posta verticalmente in un recipiente con coperchio, detto camera di sviluppo, e si lascia che il liquido posto sul fondo della camera salga per capillarità. Se alla base della lastrina, ovvero sul lato da cui comincia a salire la fase mobile, è depositata una goccia di soluzione che contiene tre sostanze diverse, si verifica che le tre sostanze vengono sì tutte trasportate dalla fase mobile e dunque fatte salire, ma esse interagiscono anche con la fase stazionaria, la quale lega temporaneamente tutte, ma alcune con più forza, altre con meno forza. Ne risulta che le tre sostanze si spostano a velocità diverse e quindi l'unica goccia iniziale si separa in 3 macchie diverse.

Se si ha un campione incognito che contiene una tra 3 sostanze note, si può identificarla procedendo come segue: di fianco alla goccia che rappresenta il campione da analizzare (detto incognito) si pongono anche tre gocce (dette soluzioni standard) ciascuna contenente

una sola delle tre sostanze P, C e D. Dal confronto tra la posizione delle macchie degli standard con la posizione della macchia dell'incognito è possibile identificarlo:



Nell'esempio riportato il campione incognito contiene la sostanza C. Il parametro identificativo dell'incognito è il suo fattore R_f (fattore di ritardo), definito come rapporto tra la distanza r_I percorsa dalla relativa macchia e la distanza r_{FM} percorsa dalla Fase Mobile.

Esecuzione

L'obiettivo dell'esperienza è quello di verificare la presenza di sostanze stupefacenti nella tisana di canapa, sfruttando le diverse interazioni delle sostanze, in essa contenute, che instaurano con la fase stazionaria costituita dalla silice presente sulla piastrina e la fase mobile contenuta all'interno della camera di eluizione.

- il campione di tisana viene sciolto in una provetta in poco etile acetato;
- preparazione degli standard: ciascuno standard viene sciolto in poco etile acetato.
Si utilizzano come standard la prometazina (identifica oppiacei), il mix di fenazone e patchouli (per identificare cannabinoidi), il mix di diclofenac e lattosio (per identificare metanfetamine).
- preparazione miscela eluente: cloroformio/soluzione ammoniacale 10% 9/1.

Deposizione delle sostanze:

1) Tracciare una linea leggera con una matita a circa 1,5 cm da una delle due estremità di una lastrina di silice. Questo sarà il punto in cui depositare le sostanze per effettuare la corsa cromatografica.

- 2) Sempre con una matita indicare sulla linea quattro punti equidistanti e contrassegnarli al di sotto della linea con le sigle identificative dei tre standard e del campione che si vuole analizzare.
- 3) Immergere un capillare all'interno di uno standard e lasciare che il liquido salga all'interno di esso per capillarità. Depositare il liquido sulla piastra sul punto in corrispondenza della sua sigla. NB: Evitare che la macchia si allarghi troppo.
- 4) Effettuare la stessa operazione anche per gli altri due standard e per il campione.
- 5) Quando tutte le macchie sono asciutte inserire la piastrina delicatamente all'interno della camera di eluizione facendo in modo che rimanga il più verticale possibile. Chiudere subito col coperchio.
- 6) Osservare la corsa della fase mobile che sale lungo la piastrina e quando è quasi arrivata in cima estrarre la piastrina dalla camera e richiuderla. NB: Evitare che la fase mobile arrivi all'estremità della piastrina.
- 7) Prima che sia asciutta tracciare con una matita la linea che contraddistingue il fronte del solvente e misurare con un righello la distanza totale percorsa dal solvente, cioè la distanza compresa tra le due linee.
- 8) Quando la piastrina è asciutta illuminarla con la lampada UV presente in laboratorio e tracciare i contorni delle macchie che compaiono. Per ogni macchia misurare la distanza dalla linea di partenza ed annotarla.
- 9) Calcolare il fattore di ritardo.
- 10) Identificare la sostanza presente nella tisana di canapa.