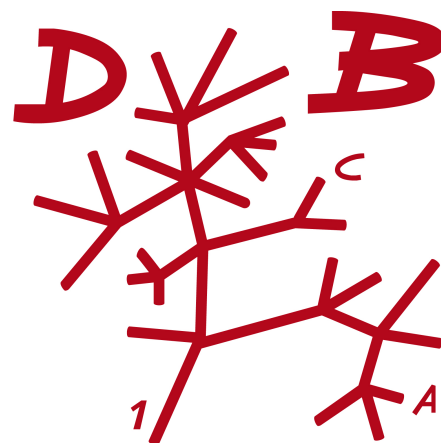




Associazione per  
l'Insegnamento della Fisica

# **EUSOit VI Gara Nazionale**



**DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA**  
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

## **Prova per la Certificazione delle Eccellenze e Selezione della Squadra Italiana EUSO**



**Padova:  
scena del crimine**

**TEMPO A DISPOSIZIONE: 5 ORE**

Padova, 21 febbraio 2017

# Istruzioni

---

Mentre lavori in laboratorio indossa camice e occhiali protettivi .  
È assolutamente proibito bere o mangiare all'interno del laboratorio.

Hai a disposizione dei guanti che dovrai indossare quando maneggi le  
sostanze chimiche. Fai particolare attenzione nel manipolare gli acidi.

Quando avrai finito dovrai consegnare i fogli delle risposte e tutti i fogli di  
carta che hai usato per scrivere, anche quelli di brutta copia.

**Su tutti i fogli deve essere riportato il nome della tua scuola.**

Tutti i risultati dovranno essere riportati nel foglio risposte del tuo gruppo.

## Attenzione!

**Solo quello che avrai scritto sul foglio risposte vale per la valutazione.**

Potete organizzare e distribuire il lavoro fra i diversi membri del gruppo nel  
modo e nell'ordine che vi pare più opportuno.

Leggendo il testo individua le informazioni che ti servono per condurre le  
attività e dare le risposte alle domande. Tieni sempre conto del tempo che hai  
a disposizione.

Quando hai finito lascia tutto sul tavolo: non sei autorizzato a portare con te  
nulla di ciò che hai trovato in laboratorio.

---

### Un omicidio e un caso di frode alimentare

Era una di quelle mattine in cui la nebbia punge sul viso come tanti piccoli insetti, l'ispettore Leo Berardi finiva di consumare il suo caffè e leggeva soddisfatto l'articolo sulla sua indagine del giorno precedente: vari ciclisti della zona erano finiti in ospedale con problemi ai reni in seguito al consumo di un integratore e lui aveva identificato la ditta che lo distribuiva via internet. Tutti i ciclisti consumavano uno stesso integratore a base di acido malico, che migliora le prestazioni di resistenza e lo aveva scoperto lui. Non erano più i tempi di suo padre, ora le indagini si facevano al computer e nei laboratori e lui di certo a usare le risorse in rete se la cavava niente male. Oggi con un breve interrogatorio al signor Alfredo Trevisan, che rivendeva gli integratori online, e un controllino alla lista dei fornitori sarebbe risalito alla fonte degli additivi alimentari adulterati e avrebbe festeggiato a fine giornata le indagini concluse con uno spritz. Il cellulare squillò e l'immagine della tranquilla giornata che già pregustava nei suoi pensieri svanì d'un colpo: il suo testimone chiave era appena stato trovato morto nella cucina di casa!

Quando la polizia era accorsa nella residenza padovana del signor Trevisan aveva trovato la cucina completamente sottosopra, i segni di una colluttazione erano evidenti e la vittima doveva essere caduta sbattendo violentemente la testa contro lo spigolo del tavolino, la botta gli era stata fatale. Il magazzino adiacente la cucina non era in condizioni migliori. La polizia scientifica lavorò tutto il giorno per fotografare la scena del crimine e raccogliere i campioni, a fine giornata la relazione che l'ispettore trovò sul tavolo riportava le seguenti evidenze:

1. Tra le dita del cadavere fu rinvenuto un frammento di stoffa, il laboratorio di fisica si stava occupando della sua caratterizzazione.
2. Sul tavolo della cucina è stata trovata una brocca con del liquido e due bicchieri quasi vuoti. La vittima e il suo ospite avevano bevuto un liquido che sarà analizzato per rilevare la presenza di zuccheri e verificare se il presunto assassino fosse diabetico o meno.
3. Nel bagno degli ospiti c'erano alcuni residui abbastanza freschi di urina che potevano essere testati per verificare se la persona che aveva usato il bagno fosse diabetica o no.
4. In cucina alcuni ingredienti per dolci si erano riversati sul pavimento dove, insieme ad un bel misto di polvere bianca, si trovava una macchia fresca di sangue e un portapillole aperto. Il laboratorio di biologia si sarebbe occupato di analizzare le varie polveri e di cercare le tracce del farmaco, inoltre avrebbe proceduto con il test dei gruppi sanguigni. La vittima infatti non presentava ferite, pertanto il sangue doveva appartenere al suo aggressore.
5. L'analisi del gruppo sanguigno può restringere il cerchio dei sospettati; il DNA prelevato dalla macchia di sangue dell'aggressore ci può dare l'impronta genetica dei maggiori sospettati.
6. Tutti i cassetti in magazzino erano stati forzati, un'analisi attenta dei documenti rinvenuti rivelò che la lista dei fornitori di acido malico era l'unica mancante. L'acido malico era, guarda caso, l'ingrediente principale dell'integratore utilizzato dagli atleti ricoverati. Non fu difficile individuare la lista delle aziende della zona che producevano la sostanza: la "Alchemica" di Cortina d'Ampezzo, una cooperativa di quattro giovani neolaureati; la "Boscolo chimici" di Chioggia, gestita dalla signora Scarpa; l'azienda del signor Tiozzo, sempre nell'area di Chioggia.
7. Vicine alla porta di ingresso c'erano due impronte di scarpa con piccoli residui di fango e alghe. Si era trovato opportuno che il laboratorio di biologia procedesse con la caratterizzazione di queste alghe, visto che nelle aree marine (come Chioggia), in quelle fluviali (come Padova) e nelle zone fredde (come Cortina) vivono specie di alghe molto diverse fra loro.
8. Nel magazzino era presente una lista degli additivi alimentari di cui disponeva la piccola azienda, ma i contenitori rinvenuti, oltre ad essere tutti in disordine, erano contrassegnati con dei codici non convenzionali, pertanto la squadra dei chimici si era vista costretta a raccogliere un'aliquota di ciascuna sostanza e a procedere con opportuni test per l'identificazione. Due pacchi di materiale erano invece pronti per la spedizione e recavano le scritte "VITAMINA C PURISSIMA per RAFFREDDORI POTENTISSIMI" e "FRUTTOSIO ECCELLENTE per CICLISTI". Anche questi campioni erano stati prelevati per l'analisi.
9. Tra le donne interrogate nel corso dell'inchiesta, emerse che le signore Boscolo di Chioggia e Giorgia Pompanin di Cortina avevano entrambe gruppo sanguigno 0 e avevano assunto aspirina, la prima perché ipertesa con rischio di trombosi, la seconda perché raffreddata. Il signor Tiozzo soffre di diabete in stadio avanzato.

# Tema 1: CSI Biologia

## Attrezzatura e materiale:

<b>MISTERO BIOCHIMICA</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 3 Piastre da 12 pozzetti</li> <li>• 12 Palette in plastica monouso</li> <li>• 5 pipette Pasteur di plastica</li> <li>• Strisce di tappi con funzione di dosatore</li> <li>• 4 Tubini-bijoux contenenti polvere di: (A) Aspirina, (B) Bicarbonato, (F) Fecola di patate, (Z) zucchero da cucina</li> <li>• Vassoietto a 4 camere con sostanze incognite marcate X, Y, W, Z</li> <li>• Soluzione 1: Acqua distillata</li> <li>• Soluzione 2: Lugol</li> <li>• Soluzione 3: Indicatore rosso cresolo</li> <li>• Soluzione 4a: Idrossido di sodio 1M (NaOH)</li> <li>• Soluzione 4b: Nitrato ferrico 0.2M [Fe(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>]</li> </ul>	<b>GRUPPI SANGUIGNI</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 4 Piastre per analisi</li> <li>• 12 stecchini in plastica monouso</li> <li>• 7 pipette Pasteur di plastica</li> </ul> <p>In provette eppendorf:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Siero Anti-A (blu)</li> <li>• Siero Anti-B (giallo)</li> <li>• Siero Anti-Rh (verde)</li> <li>• Sangue soggetto 1</li> <li>• Sangue soggetto 2</li> <li>• Sangue soggetto 3</li> <li>• Sangue soggetto 4</li> </ul>
<b>ELETTROFORESI DNA</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Scatola di polistirolo con campioni di DNA<sup>1</sup></li> <li>• Soluzione di colorante blu e glicerina</li> <li>• Vaschetta elettroforesi</li> <li>• Micropipetta, puntali</li> <li>• Carta millimetrata semilogaritmica</li> <li>• Matita e righello</li> </ul>	<b>MISTERO ALGHE</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 4 Vetrini portaoggetto e coprioggetto</li> <li>• 4 provette siglate A, B, C, D ciascuna con una cultura di alghe</li> <li>• 4 pipette Pasteur di plastica</li> <li>• Microscopio ottico</li> </ul>
<b>DOTAZIONE BANCONE</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ In totale 16 Pipette pasteur di plastica</li> <li>✓ Spruzzetta con acqua deionizzata</li> <li>✓ Contenitore per rifiuti</li> <li>✓ Rack portaprovette</li> <li>✓ Pennarello indelebile</li> <li>✓ Cronometro</li> </ul>	<b>A DISPOSIZIONE NEL LABORATORIO</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Fogli di alluminio</li> <li>✓ Rotoli di carta</li> </ul>

<sup>1</sup> Un ringraziamento caloroso alle Proff. Cinzia Grazioli e Livia Pirovano del CusMiBio di Milano, che ci hanno fornito i campioni di DNA per l'indagine finale.

## Mistero biochimica: analisi delle polveri rinvenute in cucina

Durante la colluttazione nella cucina sono caduti a terra i contenitori della fecola di patate, dello zucchero (saccarosio) e della polvere lievitante (bicarbonato). C'è inoltre il sospetto che sia caduto dalla tasca del malvivente qualche medicinale, perché vicino al materiale per dolci sversato è stato ritrovato aperto a terra un portapillole che non appartiene alla vittima. La polizia scientifica ha raccolto dal pavimento campioni di polveri bianche, indicate con le lettere X, Y, W, Z. Attraverso specifiche reazioni chimiche devi riconoscere il medicinale che appartiene al malvivente dal materiale per dolci finito per terra.

ATTENZIONE! Evita contaminazioni fra i campioni altrimenti sarà difficile interpretare i risultati: raccogli e versa le polveri senza disperderle, cambia spatola per ogni sostanza, mescola le reazioni senza fare schizzi.

### Allestimento della piastra n.1 (controllo)

La polizia scientifica suggerisce di verificare prima come si comportano i campioni puri di fecola di patate (F), saccarosio (S) e bicarbonato (B): per le tue deduzioni, infatti, è di fondamentale importanza sapere come reagiscono queste polveri pure. Con il pennarello indelebile etichetta la piastra di reazione n.1 scrivendo a fianco delle lettere A, B, C la sigla del campione di controllo che analizzerai in quella riga: F = fecola di patate; B = bicarbonato; S = saccarosio. Analizzerai il comportamento delle sostanze F, B, S rispetto a:

- Solubilità in acqua (Colonna 2).
- Presenza di amido, rilevabile con il saggio di Lugol (Colonna 3).
- Comportamento acido – base, rilevabile con l'indicatore rosso cresolo (Colonna 4).

Metti la pagina dell'appendice dedicata alla piastra n1 accanto alla piastra di reazione, indossa i guanti e segui le istruzioni punto per punto. Analizzerai innanzitutto l'aspetto fisico delle 3 sostanze osservandolo attentamente ad occhio nudo nella colonna 1.

- Trasferisci una spatolata di fecola nel pozzetto A1; sciacqua la spatola con acqua deionizzata, asciugala e ripeti l'operazione per ciascuna sostanza di controllo.
- Con una nuova spatola trasferisci il bicarbonato nel pozzetto B1; sciacqua la spatola.
- Con una nuova spatola trasferisci il saccarosio nel pozzetto C1; sciacqua la spatola.

<b>Foglio Risposte 1.1.1: Descrivi l'aspetto fisico delle sostanze F, B, S.</b>
---

Con il pennarello indelebile scrivi **H<sub>2</sub>O** sul cappuccio della Pasteur che userai per distribuire l'acqua distillata e **Rosso** sulla Pasteur del rosso cresolo. Aiutati con lo schema della figura:

- Trasferisci 1 mL di acqua distillata in tutti i pozzetti delle colonne 2, 3 e 4.
- Con il dosatore contagocce aggiungi 3 gocce di Lugol in tutti i pozzetti della colonna 3.
- Con la Pasteur Rosso aggiungi 3 gocce di rosso cresolo in tutti i pozzetti della colonna 4.
- Mescola le soluzioni nei pozzetti facendo ruotare delicatamente la piastra.

Per trasferire la stessa quantità di materiale in ogni pozzetto riempi di polvere un singolo tappo dosatore. Usa una striscia diversa per ogni sostanza e versa con precisione la polvere in un unico pozzetto.

- Trasferisci la fecola di patate in tutti i pozzetti della fila A: con la spatola mescola la reazione in A2; sciacqua la spatola con acqua deionizzata, asciugala e ripeti l'operazione per i pozzetti A3 e A4.
- Trasferisci il bicarbonato in tutti i pozzetti della fila B: con la spatola mescola la reazione in B2; sciacqua la spatola con acqua deionizzata, asciugala e ripeti l'operazione per i pozzetti B3 e B4.
- Trasferisci lo zucchero in tutti i pozzetti della fila C: con la spatola mescola la reazione in C2; sciacqua la spatola con acqua deionizzata, asciugala e ripeti l'operazione per i pozzetti C3 e C4.

ATTENZIONE: asciuga bene la spatola con la carta per evitare contaminazioni tra le diverse reazioni; mescola lentamente le reazioni per evitare schizzi di liquido.

**Foglio Risposte 1.1.2: Osserva con attenzione e descrivi le reazioni avvenute in ogni pozzetto della piastra di controllo n. 1. Rispondi anche alla domanda 1.1.3.**

### **Allestimento della piastra n.2 (sostanze ignote)**

Nel vassoietto hai a disposizione in piccola quantità le sostanze ignote, indicate con le lettere X, Y, W, Z, raccolte in zone diverse e ben delimitate del pavimento; alcune di esse si sono mescolate nella caduta.

**Foglio Risposte 1.1.4: Descrivi l'aspetto fisico delle sostanze X, Y, W, Z. Sapresti dire quali sostanze sono pure e quali invece si sono mescolate nella caduta?**

Puoi identificare il materiale per dolci attraverso le stesse reazioni chimiche di prima, mentre il medicinale utilizzato dal malvivente potrebbe non reagire. Con il pennarello indelebile etichetta la piastra di reazione n.2 scrivendo a fianco dei numeri 1,2,3,4 la sigla del campione sconosciuto (X, Y, W, Z) che analizzerai in quella colonna. Lo schema della piastra n2 in appendice ti può aiutare ad allestire le reazioni. Analizzerai il comportamento delle sostanze ignote X, Y, W, Z rispetto a:

- Solubilità in acqua (Riga A).
- Presenza di amido, rilevabile con il saggio di Lugol (Riga B).
- Comportamento acido – base, rilevabile con l'indicatore rosso cresolo (Riga C).

Sempre con i guanti indosso segui le istruzioni punto per punto:

- Con la pasteur **H<sub>2</sub>O** trasferisci 1 mL di acqua distillata in tutti i pozzetti della piastra.
- Con il dosatore contagocce aggiungi 3 gocce di Lugol in tutti i pozzetti della riga B.
- Con la pasteur **Rosso** aggiungi 3 gocce di rosso cresolo in tutti i pozzetti della riga C.
- Mescola le soluzioni facendo ruotare delicatamente la piastra.

Con il tappo dosatore versa la polvere in ogni pozzetto. Usa una nuova striscia per ogni sostanza.

- Trasferisci la sostanza X in tutti i pozzetti della colonna 1: con la spatola mescola bene la reazione in A1; sciacqua la spatola con acqua deionizzata, asciugala e ripeti l'operazione per i pozzetti B1 e C1.
- Trasferisci la sostanza Y in tutti i pozzetti della colonna 2: con la spatola mescola bene la reazione in A2; sciacqua la spatola con acqua deionizzata, asciugala e ripeti l'operazione per i pozzetti B2 e C2.
- Trasferisci la sostanza W in tutti i pozzetti della colonna 3: con la spatola mescola bene la reazione in A3; sciacqua la spatola con acqua deionizzata, asciugala e ripeti l'operazione per i pozzetti B3 e C3.
- Trasferisci la sostanza Z in tutti i pozzetti della colonna 4: con la spatola mescola bene la reazione in A4; sciacqua la spatola con acqua deionizzata, asciugala e ripeti l'operazione per i pozzetti B4 e C4.

ATTENZIONE: asciuga bene la spatola con la carta per evitare contaminazioni tra le diverse reazioni; mescola lentamente le reazioni per evitare schizzi di liquido.

**Foglio Risposte 1.1.5 e 1.1.6: Osserva con attenzione e descrivi le reazioni avvenute in ogni pozzetto della piastra numero 2, contenente le sostanze ignote. La sostanza che non reagisce probabilmente è il medicinale perso dal malvivente.**

**Allestimento della piastra n.3 (saggio per l'acido salicilico)**

Poiché sulla scena del delitto è stato trovato molto sangue di un gruppo sanguigno diverso da quello della vittima, il medico legale suggerisce che il malvivente abbia assunto aspirina (acido acetilsalicilico), il farmaco con effetto fluidificante del sangue più comunemente utilizzato. Si può rilevare la presenza di acido salicilico con il seguente test chimico:

- L'idrossido di sodio (NaOH) reagisce con l'aspirina per formare acido salicilico e acido acetico;
- Il ferro contenuto nel  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$  reagisce con l'acido salicilico e forma un complesso blu-violetto.

Quindi la presenza di un composto blu-violetto dopo l'aggiunta dei reagenti 4a (NaOH) e 4b  $[\text{Fe}(\text{NO}_3)_3]$ , indica che nel pozzetto di reazione era presente l'acido salicilico derivante dall'aspirina. Per dimostrare che la sostanza ignota identificata nella piastra n.2 è veramente aspirina devi inserire nella piastra n.3:

1. **Un controllo positivo:** serve per dimostrare che il test ha funzionato (i reagenti potrebbero aver perso di attività, oppure chi li ha preparati potrebbe aver sbagliato le dosi)
2. **Due controlli negativi:** servono per dimostrare che il test è specifico: le sostanze per dolci trovate sul luogo del delitto non devono reagire con le soluzioni 4a e 4b.

**Quali campioni tra quelli a tua disposizione scegli per allestire la piastra n.3?**

**Motiva la tua decisione nel foglio risposte 1.1.7.**

Segui lo schema in appendice: con il pennarello etichetta la piastra di reazione n.3 scrivendo a fianco dei numeri 1,2,3,4 le sigle del campione sconosciuto, del controllo positivo e dei due controlli negativi. In questo caso il saggio si esegue a secco, perciò inizia versando le polveri da analizzare in tutti i pozzetti della piastra. Usa il tappo dosatore e cambia striscia per ogni sostanza:

- Pozzetti della colonna 1: sostanza ignota rinvenuta sulla scena del delitto.
- Pozzetti della colonna 2: controllo positivo.
- Pozzetti della colonna 3: primo controllo negativo.
- Pozzetti della colonna 4: secondo controllo negativo.

Prima di eseguire il test dell'acido salicilico, valuterai il grado di solubilità dei campioni in acqua e NaOH.

- Con la Pasteur  $\text{H}_2\text{O}$  trasferisci 1 mL di acqua distillata in tutti i pozzetti della riga A, come mostrato in figura. Con la spatola mescola bene la reazione nel pozzetto A1; sciacqua la spatola con acqua deionizzata, asciugala e ripeti l'operazione per i pozzetti A2, A3, A4.
- Con un'altra Pasteur marcata **NaOH** trasferisci 1 mL di soluzione NaOH 1M in tutti i pozzetti della riga B, come mostrato in figura. Con la spatola mescola bene la reazione nel pozzetto B1; sciacqua la spatola con acqua deionizzata, asciugala e ripeti l'operazione per i pozzetti B2, B3, B4.

**Noti differenze nella solubilità dei campioni sciolti in NaOH rispetto all'acqua?**

**Riporta le tue osservazioni nel foglio risposte 1.1.8.**

Ora sei pronto per eseguire il test dell'acido salicilico:

- Con la Pasteur **NaOH** aggiungi 3 gocce di soluzione NaOH 1M in tutti i pozzetti della riga C: ci vogliono almeno 10 secondi per formare acido salicilico e acido acetico.
- Con una nuova Pasteur marcata **Fe** aggiungi 3 gocce di soluzione  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$  0,2M in tutti i pozzetti della riga C: se il ferro reagisce comparirà un bel colore blu-violetto!

**Il campione smarrito dal malvivente sul luogo del delitto è veramente aspirina? Su quali evidenze si basa la tua conclusione? Scrivilo nel foglio risposte 1.1.9.**

## Mistero alghe: analisi delle cellule presenti nelle orme di fango

A terra in cucina erano ben visibili le impronte di una scarpa sporca di fango. Gli investigatori hanno trovato nel fango cellule di alghe ancora vive, che hanno messo in cultura. Osservandole al microscopio hanno notato che avevano cellule allungate e formavano catenelle più o meno lunghe, come nella figura a fianco. In base alla residenza dei sospetti, è stato fatto un campionamento delle alghe più comuni nelle aree marine, in quelle fluviali e nelle zone fredde del Veneto. Hai dunque a disposizione le culture di alghe descritte nella seguente tabella:



Tubo	Nome	Habitat	Descrizione
A	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Suolo e bacini di acqua dolce	Alga verde unicellulare, di circa 10 $\mu\text{m}$ di diametro, che si muove servendosi di due flagelli (lungi circa 10 $\mu\text{m}$ ). Presenta una parete cellulare, un ampio cloroplasto e una specie di occhio, chiamato il pirenoide, sensibile alla luce.
B	<i>Scenedesmus obliquus</i>	Suolo e bacini di acqua dolce	Piccola alga verde: la singola cellula di forma ovale non supera i 2 $\mu\text{m}$ di diametro. Spesso forma colonie di 4 – 8 cellule, racchiuse da un'unica parete cellulare.
C	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Acqua salata	Alga di forma molto allungata: l'aspetto è in genere fusiforme ma può diventare a tre punte (da cui il nome) in particolari condizioni ambientali.
D	<i>Koliella antarctica</i>	Climi freddi	Piccola alga verde di forma allungata. Vive solo sui nevai, adattando il suo metabolismo alle basse temperature e a condizioni variabili di luce.

### PROCEDIMENTO

1. Mescola bene il contenuto del tubo A, con una pipetta Pasteur aspira la cultura con le alghe verdi e deponi una goccia sul vetrino, infine stendi sopra la goccia un vetrino coprioggetto.
2. Esamina le cellule al microscopio: inquadra una regione con una cellula ben isolata e metti a fuoco il preparato. Usa dapprima una lente con ingrandimento 10X e passa poi all'obiettivo 40X.
3. Nel foglio risposte [Tabella 1.2.1] esegui uno schizzo accurato delle cellule osservate.

Ripeti la stessa procedura con le alghe presenti nei tubi B, C, D.

**In quale campione hai osservato catenelle di cellule di lunghezza variabile? Che importanza ha questo dato per le indagini? Foglio risposte 1.2.2.**

### Analisi dei gruppi sanguigni

A tutti i sospettati è stato chiesto di dichiarare il proprio gruppo sanguigno per agevolare le indagini. Gli investigatori sospettano che, per sviare le indagini, i giovani soci della cooperativa Alchemica abbiano dato generalità false scambiandosi i loro nomi. La polizia può accedere però ai gruppi sanguigni dei loro genitori, che sono registrati nella banca dati per le donazioni di sangue dell'ospedale di Cortina. Con i reagenti a tua disposizione valuterai la presenza nel sangue dei quattro giovani sospetti degli antigeni AB e del fattore RH, determinando il loro gruppo sanguigno. Per un caso fortunato, l'analisi genetica ti permetterà di risalire



all'identità di ciascuno dei soci, conoscendo il gruppo sanguigno dei loro genitori.

Nel sistema ABO ci sono quattro gruppi sanguigni: tipi A, B, AB e O. L'antigene presente sulla superficie dei globuli rossi determina l'agglutinazione delle cellule in presenza di siero che contiene anticorpi specifici contro quella sostanza. Come mostrato nella seguente tabella, il gruppo sanguigno è A se c'è agglutinazione solo con il siero anti-A. Viceversa, se l'agglutinazione avviene solo nella miscela anti-B, il tipo di sangue è B. Agglutinazione in entrambi i campioni indica che il gruppo sanguigno è AB. L'assenza di agglutinazione indica che il tipo di sangue è O.

Determinazione del gruppo sanguigno ABO		
Siero Anti-A	Siero Anti-B	Gruppo sanguigno
agglutinazione	nessuna reazione	A
nessuna reazione	agglutinazione	B
agglutinazione	agglutinazione	AB
nessuna reazione	nessuna reazione	O

## PROCEDIMENTO

Con il pennarello indelebile etichetta le piastre di plastica con un numero da 1 a 4. Sul cappuccio delle pipette Pasteur scrivi i numeri da 1 a 4 (per pipettare il sangue) e le sigle A, B, Rh (per pipettare il siero). Fai attenzione a non creare bolle d'aria quando aspiri il sangue e il siero; se vedi troppo aria nella Pasteur, premi leggermente il cappuccio per farla uscire.

### Soggetto n.1:

- Con la Pasteur n.1 trasferisci 3 gocce di sangue<sup>1</sup> in ogni incavo ovale del supporto in plastica.
- Nell'ovale in alto a sinistra (A) aggiungi 3 gocce di siero Anti-A.
- Nell'ovale centrale (Rh) aggiungi 3 gocce di siero Anti-Rh.
- Nell'ovale in basso (B) aggiungi 3 gocce di siero Anti-B.

Con lo stecchino in plastica mescola il contenuto in ciascuno degli incavi, cambiando bacchetta per ogni reazione. L'agglutinazione determinata dagli anticorpi si vede in pochi secondi, ma i risultati sono più chiari se aspetti qualche minuto. Guarda la piastra in controluce inclinandola leggermente, così puoi verificare meglio se il sangue è ancora liquido o si è agglutinato. Nelle tabelle del foglio risposte scrivi (+) se c'è stata agglutinazione, segna un (-) in assenza di reazione.

Prendi una nuova piastra e ripeti il test con il sangue dei soggetti 2, 3 e 4 lavorando come sopra.

**Compila la tabella 1.3.1 nel foglio risposte e assegna il gruppo sanguigno a ciascuno dei quattro soggetti analizzati. Sapendo che i gruppi sanguigni delle coppie dei genitori sono rispettivamente ABx0 , Ax0 , AxAB , 0x0 indica gli appaiamenti corretti figlio – coppia (Esercizio 1.3.3).**

<sup>1</sup> Si tratta in realtà di sangue simulato: i nostri reagenti ti permettono di fare queste analisi senza correre alcun rischio.

## DNA fingerprinting

L'analisi dei gruppi sanguigni ha stabilito che il sangue rinvenuto nella scena del crimine è di tipo O. Le indagini si stringono dunque tra i sospetti che possiedono un gruppo sanguigno con tali caratteristiche, che indicheremo con le lettere A, B, C.

Sappiamo che ogni individuo, eccetto i gemelli monozigoti, possiede un'impronta genetica unica. Con la tecnica chiamata "DNA *fingerprinting*" possiamo creare e poi analizzare tale impronta. Per eseguire questo test del DNA è stata applicata la tecnica della PCR, che amplifica particolari regioni del genoma con sequenze ipervariabili (microsatelliti). Nella scatola di polistirolo trovi i campioni di DNA ottenuti con la PCR; gli organizzatori hanno preparato un gel di agarosio che ti permetterà di visualizzare i risultati di questo esperimento. Dovrai caricare i prodotti di DNA nel gel e separarli mediante elettroforesi.

**Consiglio:** *l'esperienza ha dimostrato che l'uso della micropipetta può provocare qualche difficoltà iniziale. Pertanto, è meglio allenarsi nel riempimento dei pozzetti nel gel di agarosio prima di eseguire l'esperimento vero e proprio. Usa la soluzione di colorante blu (2 volumi) e glicerina (1 volume) come prova: è avendo un buon esercizio perché ha circa la stessa viscosità dei campioni di DNA. Leggi bene le istruzioni in appendice su come si caricano i campioni di DNA in un gel di agarosio.*

**Con la pipetta preleva 10 µl del campione (PM) e carica il liquido colorato nel primo pozzetto. Cambia puntale, poi carica 10 µl del campione (V) nel secondo pozzetto del gel. Prosegui caricando tutti i campioni ricevuti nel seguente ordine:**

1. Marcatore di peso molecolare (PM)
2. Vittima (V)
3. Scena del crimine (SC)
4. Sospetto n. 1 (A)
5. Sospetto n. 2 (B)
6. Sospetto n. 3 (C)
7. Controllo negativo della reazione di PCR (Bco)

**Nel foglio risposte 1.4.1 risolvi l'esercizio su come si calcola la lunghezza delle bande di DNA in un gel di agarosio.**

Ci vorranno circa 40 minuti per separare i prodotti di DNA con l'elettroforesi in gel di agarosio. Trascorso questo tempo chiama un istruttore per visualizzare le bande di DNA presenti nel gel.

**Osserva bene i risultati del gel, poi scrivi nel foglio risposte 1.4.2 chi tra i tre sospetti analizzati ha un profilo simile a quello rinvenuto nella scena del crimine.**

## Tema 2.

### I principi dell'ottica al servizio delle indagini [50 punti]

Anche queste attività mirano a contribuire alla soluzione del grave caso del cadavere in cucina. Qui si tratta di misurare alcune proprietà fisiche, indagando sul brandello di tela trovato fra le dita del morto e sul liquido contenuto nella brocca e nel fondo dei bicchieri presenti sulla tavola.

#### 2.1 analisi della struttura bidimensionale del tessuto mediante diffrazione

##### 2.1.1 Misura della lunghezza d'onda del laser

###### *Qualche informazione teorica*

Le prove sulla tela richiedono l'uso di una sorgente che emette un fascio sottile di luce monocromatica. Si sceglie dunque una luce laser ma, a causa di tagli sulle spese, si dovrà usare un puntatore di cui non è nota la lunghezza d'onda della luce emessa. Per fortuna siamo in grado di determinarla poiché possediamo un reticolo costituito da una piastrina sulla quale sono tracciate delle fitte linee parallele ed equidistanti. Il fascio di luce quando raggiunge la piastrina è costretto ad attraversare un gran numero di sottilissime fenditure parallele e perciò viene diffratto. La diffrazione si evidenzia su uno schermo parallelo al piano del reticolo con una successione lineare di macchie luminose di cui quella al centro è la più luminosa; il centro di questa macchia si chiama “*massimo centrale*” o “*massimo di ordine zero*”. I centri delle macchie luminose immediatamente alla destra e alla sinistra di questo si chiamano “*massimi di ordine 1*”, i due massimi di luce successivi saranno i “*massimi di ordine 2*” e così via. Vedi la seguente Figura 2.1.

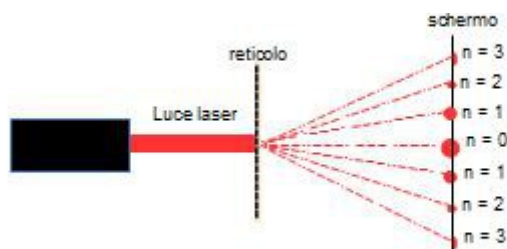


Figura 2.1 Un fascio di luce laser rossa trasmessa attraverso un reticolo subisce diffrazione. Sullo schermo sono indicati il massimo centrale e quelli dei primi tre ordini.

Più lo schermo è lontano dal reticolo e maggiore è la distanza  $X$  fra i massimi adiacenti. Non cambia invece con la distanza l'angolo sotto il quale si vedono i due massimi da un punto del reticolo come appare nella figura 2.2 qui sotto in cui si confrontano due posizioni diverse dello schermo.

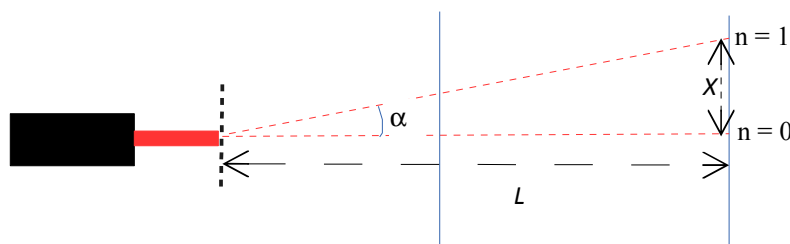


Figura 2.2 Schema in cui si vedono l'angolo di diffrazione  $\alpha$  e la distanza  $X$  fra i massimi di ordine zero e di ordine 1

Per proseguire nel lavoro è importante sapere che vale la seguente relazione:

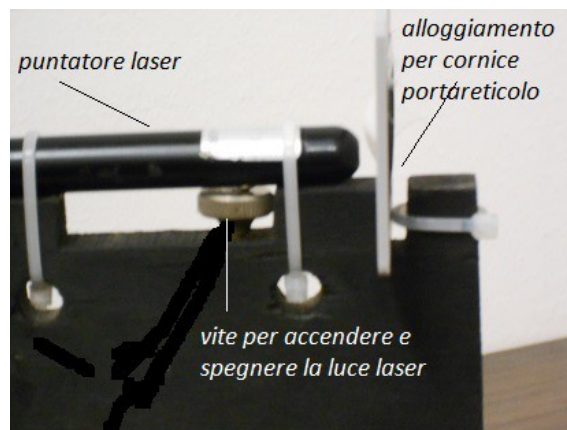
$$\sin \alpha = \frac{\lambda}{a} \quad \text{[Formola 1]}$$

dove  $\lambda$  è la lunghezza d'onda della luce e  $a$  è il passo del reticolo, cioè la distanza fra i centri di due fenditure successive.

### L'apparecchiatura

Sul supporto di legno sono montati il puntatore laser ed il sostegno per il reticolo: dopo aver deciso la loro posizione fisserai con il nastro biadesivo che hai a disposizione il supporto di legno che non deve essere spostato per tutta la durata di questo esperimento (2.1). Il laser si accende azionando la vite: il laser dovrà rimanere acceso solo per il tempo strettamente necessario a prendere le misure. Fungerà da schermo un foglio di carta bianca fissata su un riquadro di legno compensato, a sua volta retto da uno zoccolo di legno dotato di fenditura. Potrai disporre lo schermo alla distanza che giudichi più opportuna. Vedi la fotografia riportata a lato:

Figura 2.3



### Materiali a disposizione per questa misura

- sostegno in legno con puntatore laser e alloggiamento per cornici porta diapositive
- una scatola di plastica contenente un reticolo (140 fenditure per mm) e 5 cornici con riquadri di stoffa
- Reticolo e cornici vanno maneggiati con molta cura toccando solamente le cornici
- riquadro di compensato che va fissato sulla sua base di legno, da utilizzare come schermo
- fogli di carta da disegno bianca formato A4
- metro a nastro
- nastro adesivo
- forbici
- righello
- matita appuntita
- n° 3 fogli di carta millimetrata che serviranno anche per le attività successive
- nastro biadesivo e temperamatite si trovano sul tavolo di servizio

### Misure e risultati

Calcolando il passo del reticolo e misurando la distanza  $L$  del reticolo dallo schermo e la distanza  $X$  fra i massimi di ordine zero e di ordine 1, potrai risalire alla misura dell'angolo  $\alpha$  e alla lunghezza d'onda della luce laser. Dovrai tenere conto della Formola 1 scritta sopra. **Rispondi alle domande del Fascicolo Risposte.**

*Nota: Fai attenzione nel maneggiare i materiali; in particolare il reticolo va trattato con delicatezza. Se viene reso inutilizzabile potrai comprare al costo di 2.5 punti un altro reticolo.*

**ACCENDI IL LASER SOLO QUANDO E' DIRETTO VERSO LO SCHERMO E SOLO PER IL TEMPO STRETTAMENTE NECESSARIO A PRENDERE LE MISURE.**

**NON GUARDARE MAI DIRETTAMENTE LA SORGENTE DI LUCE (PUNTATORE)**

**E NON PUNTARE IL RAGGIO VERSO ALTRE PERSONE.**

**Non rispettare le regole può essere pericoloso!**

**L'uso scorretto può venire sanzionato con la squalifica!**

### 2.1.2 Studio dei tessuti

Quattro camicie variamente strappate, confezionate con stoffe apparentemente compatibili con quella trovata fra le dita del morto, sono state confiscate nelle abitazioni di altrettanti indagati e poste sotto sequestro. Seguendo la procedura di seguito descritta, esaminerai la struttura delle stoffe per poi confrontarle con quella della stoffa trovata sul luogo del delitto. Quest'ultima è macchiata ma, si pensa, non tanto rovinata da non permettere confronti attendibili.

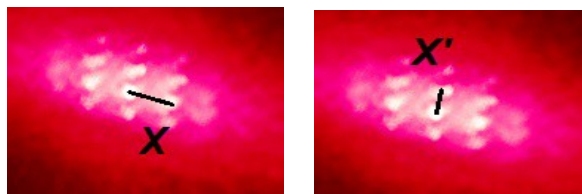
#### Materiali

- Userai gli stessi materiali che hai usato nella misura precedente;
- una busta con i quattro campioni di tessuto sequestrati agli indagati e un campione del tessuto trovato sul luogo del delitto. I tessuti che provengono dagli indagati sono contrassegnati con A, B, C, D; quello che proviene dal luogo del delitto con la lettera M. Maneggiare con la massima cura evitando di toccare la stoffa. Estrarre i campioni solo per effettuare la misura e poi riporli.

#### Procedimento

Disponi il reggi-schermo in modo che la distanza  $L$  fra il piano dello schermo ed il piano del tessuto sia di circa 2.0 m.

Fai attenzione poiché un tessuto di tela non essendo fatto per essere un reticolo produce una figura di diffrazione più complicata.  $X$  e  $X'$  indicano le distanze tra il centro del massimo centrale e quello del massimo di primo ordine nelle due direzioni ortogonali, come mostrato in Fig. 2.4.



*Figura 2.4 Figura di diffrazione ottenuta da una stoffa: in ambedue le direzioni ortogonali si osservano il massimo principale e quello dei primi ordini, molto luminosi. Si intravedono anche alcune deboli macchie luminose nello sfondo dovute alla irregolarità dei fili.*

La trama e l'ordito della stoffa determinano una struttura geometrica ripetitiva di celle tutte uguali che, investita da un fascio di luce, può dare luogo ad una figura di diffrazione. Il reticolato di celle si comporta quindi come un reticolo bidimensionale quando le dimensioni lineari delle celle sono confrontabili con quelle della lunghezza d'onda della luce. L'analisi della figura di diffrazione consente di ottenere informazioni dettagliate sulle caratteristiche di simmetria della stoffa con procedimento non molto più complesso di quello visto per un reticolo ad una dimensione. Qui supporremo che stoffe della stessa struttura diano luogo a uguali figure di diffrazione e, invece di confrontare i passi del reticolo confronteremo le distanze fra i massimi (quello principale e quello del primo ordine) delle figure di diffrazione.

**2.1.2.1** Scrivi sul Fascicolo Risposte quali attenzioni dovremo avere perché i confronti siano affidabili.

**2.1.2.2 e 2.1.2.3** Le figure di diffrazione potranno essere caratterizzate misurando le distanze  $X$  e  $X'$  per ciascuna stoffa facendo attenzione a controllare le variabili il cui valore deve essere mantenuto costante; quali siano si ricava osservando la Formula 1. Segui le indicazioni operative **2.1.2.2** e **2.1.2.3** sul **Fascicolo Risposte**.

**2.1.2.4** Si considera che possa costituire un indizio a carico del sospettato il solo fatto che la misura delle distanze fra i massimi adiacenti per la stoffa della sua camicia ( $X$  e  $X'$ ) siano compatibili con quelle trovate per la stoffa che si trovava fra le mani dell'assassinato. Farai un controllo di compatibilità delle misure per le coppie ( $X$ ,  $X'$ ) per tutte quattro le stoffe degli indagati confrontandole con quelle trovate per M. Usa la carta millimetrata con disegni sensati e comprensibili da presentare ai magistrati inquirenti.

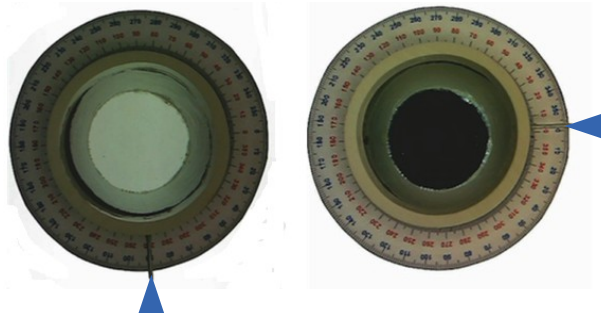
**2.1.2.5** Trai le conclusioni fondate sull'evidenza delle tue misure. Rispondi sul **Fascicolo Risposte**.

## 2.2 Identificazione di una sostanza dissolta in un liquido con metodo polarimetrico

Sul luogo del delitto è stata trovata una brocca quasi piena contenente un liquido, e due bicchieri quasi vuoti. Poiché uno dei sospettati non può assolutamente assumere cibi contenenti zucchero (saccarosio) si vuole sapere se il liquido trovato ne contiene. Il saccarosio è un materiale otticamente attivo, come migliaia di altre sostanze e userai quindi un metodo ottico per evidenziare la eventuale presenza di zucchero nella brocca.

Hai certamente sentito parlare delle lenti polaroid. Se facciamo passare un fascio di luce attraverso due lenti polaroid che abbiano i loro piani perpendicolari alla direzione di propagazione della luce, possiamo facilmente notare che l'intensità della luce emergente varia a seconda di come le due lenti sono orientate l'una rispetto all'altra. Basterà, per vederlo, far ruotare una delle due lenti mantenendola parallela all'altra. Si potrà notare che l'intensità della luce trasmessa passa da un massimo ad un minimo a seguito di una rotazione di  $90^\circ$  della lente. Esperimenti simili furono fatti da Fresnel e da Arago già nel 1816, parecchi decenni prima che venisse sviluppata la teoria dell'elettromagnetismo e si riconoscesse nella luce un'onda elettromagnetica.

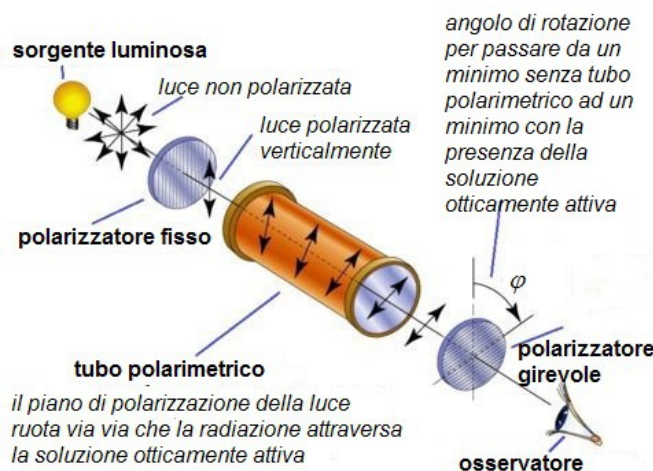
In questo fenomeno la luce non polarizzata, quando attraversa un filtro polaroid emerge come luce polarizzata, oscillando in un unico piano ed avendo perduto parte della sua intensità. Il filtro infatti lascia passare solamente la radiazione elettromagnetica che "oscilla" in una certa direzione la quale è determinata dalla struttura del materiale di cui è fatto il filtro. Allora se la luce polarizzata incontra un nuovo filtro polaroid, può attraversarlo mantenendo invariata la sua intensità, oppure affievolirsi o anche venire assorbita del tutto, a seconda dell'orientamento che diamo al secondo filtro ruotandolo.



*Figura 2.4 Nell'immagine a sinistra la luce attraversa la coppia di filtri polarizzatori; nell'immagine a destra, dopo che uno dei due filtri è stato ruotato di  $90^\circ$ , l'intensità della luce trasmessa è quasi nulla.*

Se, successivamente, fra i due filtri inseriamo un contenitore contenente la soluzione di una sostanza otticamente attiva e facciamo passare attraverso di essa il fascio luminoso possiamo notare che l'intensità della luce emergente risulta modificata: per ottenere di nuovo un minimo dell'intensità della luce emergente dobbiamo ruotare nuovamente di un certo angolo il filtro che avevamo ruotato prima.

*Figura 2.5 Schema di un semplice polarimetro*



L'ampiezza di questo angolo dipende dalla molecola otticamente attiva in soluzione e dal numero di molecole con le quali il fascio di luce interagisce, numero a sua volta dipendente dalla concentrazione della soluzione e dalla lunghezza del tubo polarimetrico.

Altri parametri da cui dipende l'angolo di rotazione del piano di polarizzazione dell'onda luminosa sono la temperatura e la lunghezza d'onda della luce. Per questa ragione le misure vengono eseguite con luce monocromatica, ed a temperatura ambiente. La lunghezza d'onda della luce dello strumento che userai è  $\lambda = 590 \text{ nm}$ .

In questo esperimento studierai le caratteristiche ottiche del liquido preso dalla caraffa sul luogo del delitto e le confronterai con quelle di sostanze otticamente attive.

### Materiali a disposizione

- Banco ottico con due filtri polarizzatori, sorgente di luce e sostegno per il tubo polarimetrico.
- Quattro tubi polarimetrici con lunghezza interna  $l = 1.98 \text{ dm}$  e capienza di circa  $60 \text{ cm}^3$ .
- Un cilindro graduato contenente un campione del liquido trovato nella brocca sul luogo del delitto. Da un'altra precedente indagine si sa che questo campione ha concentrazione pari a  $50 \text{ g}$  di soluto /  $100 \text{ cm}^3$  di soluzione.
- Un bicchiere contenente  $500 \text{ cm}^3$  di acqua demineralizzata che servirà per preparare diverse concentrazioni della soluzione.
- Un becher da  $200 \text{ cm}^3$  con bastoncino miscelatore per preparare le nuove soluzioni.
- Un foglio di carta millimetrata.

### Procedimento

#### 2.2.1 Misura dell'angolo di rotazione del piano di polarizzazione ottica

Con la luce accesa osserva nell'oculare la luce trasmessa attraverso i due filtri polarizzatori. Ruota il filtro polarizzatore che si trova vicino all'oculare fino a che la luce gialla che osservi, scompare o presenta un minimo di luminosità. In queste condizioni leggi l'angolo indicato dall'indice sul goniometro. Segna questa posizione che sarà lo zero di riferimento per le prossime misure. Riporta questo dato sul **Fascicolo Risposte**.

Ora riempi uno dei portacampioni, cautamente, con la soluzione di concentrazione  $50 \text{ g}/100 \text{ cm}^3$ . Richiudi inserendo con cura la copertura di vetro e quindi avvitando il coperchio forato. Assicurati che l'indice del goniometro sia nella posizione determinata prima come zero di riferimento. Appoggia il tubo polarimetrico sull'apposita staffa del banco ottico.

Osserva dall'oculare la luce trasmessa attraverso i due polarizzatori e la soluzione. Ruota cautamente il filtro finché la macchia luminosa non scompare o almeno raggiunge un minimo di luminosità. L'angolo fra lo zero, che è il tuo riferimento, e la nuova posizione del segno indicativo, è l'angolo di rotazione  $\varphi$  che stai cercando. Annotalo sul Fascicolo Risposte nella **Tabella 2.2** insieme alla concentrazione della soluzione che hai usato. Annota anche l'incertezza della tua lettura del goniometro.

Prima di procedere a nuove misure non dimenticare di ruotare il segno di riferimento in modo da riportare il goniometro alla posizione di zero che hai determinato precedentemente. Ripeterai le operazioni per misurare l'angolo  $\varphi$  per altre tre soluzioni con le seguenti concentrazioni:  $25 \text{ g}/100 \text{ cm}^3$ ,  $12.5 \text{ g}/100 \text{ cm}^3$ ,  $6.25 \text{ g}/100 \text{ cm}^3$ .

Dovrai ogni volta preparare la nuova soluzione nel becher a partire dalla soluzione che possiedi. Scriverai sul **Fascicolo Risposte** come procedi per ottenere la nuova soluzione. *Se vuoi puoi comprare la soluzione già pronta al prezzo di 1 punto per  $100 \text{ cm}^3$ .*



### 2.2.2 Determinazione dell'angolo specifico di rotazione.

L'angolo specifico di rotazione è una proprietà caratteristica della sostanza dissolta, indipendente dalla concentrazione della soluzione e dalla lunghezza del percorso in essa della luce. Esso dipende invece dalla temperatura e dalla lunghezza d'onda della luce. L'angolo specifico di rotazione è definito con la seguente formula

$$[\alpha]_{\lambda}^t = \frac{\varphi}{l \cdot c}$$

- dove  $\varphi$  è l'angolo di rotazione del piano di polarizzazione misurato in gradi sessagesimali;
- $l$  è la lunghezza interna del cilindro portacampioni, misurata in dm;
- $c$  è la concentrazione della soluzione misurata in g / 100 cm<sup>3</sup>

L'angolo specifico di rotazione  $[\alpha]_{\lambda}^t$  è quindi misurato in (gradi·cm<sup>3</sup>) / (dm·g). Calcola l'angolo di rotazione specifica per ciascuno dei diversi valori della concentrazione della **Tabella 2.2**. Inserisci i valori calcolati per l'angolo specifico di rotazione della sostanza in esame nella **Tabella 2.3**.

### 2.2.3 Costruisci un grafico per la rotazione ottica

Traccia sulla carta millimetrata un grafico dell'angolo di rotazione  $\varphi$  in funzione della concentrazione. Teoricamente ci aspettiamo una relazione di dipendenza lineare: traccia sulla carta millimetrata quella che giudichi la retta che meglio approssima i punti del grafico. Incolla il grafico sul **Fascicolo risposte**.

### 2.2.4 Discussione dei risultati

Seleziona la risposta coerente con l'evidenza che hai trovato nel corso di questa attività, rispondendo alle domande della **Tabella 2.4** del **Fascicolo Risposte**.

### 2.2.5 Conclusioni

Nella **Tabella 2.5** seleziona la sostanza (se c'è) che ha angolo di rotazione specifico più vicino ai risultati che hai trovato. Motiva e commenta le tue conclusioni.



*Sostieni la campagna di protezione del lupo italiano*



## TEMA 3 – CSI Chimica

*Un suggerimento: il test della sezione B è talmente semplice e rapido, eppure di fondamentale importanza per le indagini, che ti consigliamo di svolgerlo **subito**!*

### A. Identificazione delle sostanze recuperate nel magazzino

In bella vista nel magazzino è stato trovato un inventario con elencate queste sostanze, tutte indicate come praticamente pure (>99%):

- ACIDO CITRICO MONOIDRATO
- ACIDO ASCORBICO (VITAMINA C)
- ACIDO TARTARICO
- ACIDO MALICO
- ACIDO MALEICO
- ACIDO MALONICO
- ACIDO SUCCINICO
- GLUCOSIO (DESTROSIO)
- FRUTTOSIO
- SACCAROSIO (ZUCCHERO DA CUCINA)

I 10 contenitori presenti in magazzino riportano invece i seguenti codici incomprensibili:

- |               |               |               |               |               |
|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| (A) 200-066-2 | (C) 201-069-1 | (E) 202-601-5 | (G) 203-740-4 | (I) 205-503-0 |
| (B) 200-075-1 | (D) 200-334-9 | (F) 205-695-6 | (H) 203-742-5 | (J) 200-333-3 |

infine, le due bustine confezionate, evidentemente pronte per la vendita, riportano queste diciture:

- **(VC)** VITAMINA C PURISSIMA PER RAFFREDDORI POTENTISSIMI
- **(FR)** FRUTTOSIO ECCELLENTE PER CICLISTI

**Il tuo ruolo in questa fase dell'indagine è:**

- 1) assegnare a ciascuno dei codici incomprensibili la sostanza corrispondente presente in inventario;
- 2) scoprire se una delle sostanze (e quale) può essere stata sostituita con **ACIDO OSSALICO DIIDRATO**, noto per presentare tossicità renale compatibile con quella riscontrata nei ciclisti ricoverati;
- 3) valutare se le sostanze vendute dalla vittima corrispondono a quanto riportato in etichetta o se erano state adulterate, volontariamente o accidentalmente.

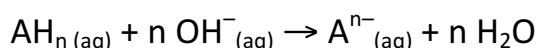
**Campioni a tua disposizione:**

- **10 provettine marcate A-J** (vedi sopra) contenenti le sostanze recuperate nel magazzino,
- **2 provettine marcate VC e FR** (vedi sopra) contenenti i campioni dei prodotti confezionati per la vendita presenti in magazzino

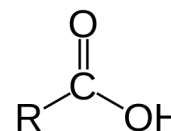
### A1. Identificazione degli acidi

Un acido in soluzione è in grado di neutralizzare una base forte come l'idrossido di sodio NaOH. Continuando ad aggiungere idrossido, ad un certo punto tutto l'acido viene consumato. A questo punto, un'ulteriore aggiunta di base provoca un brusco aumento di pH, evidenziato dal viraggio da incolore a magenta dell'indicatore fenolftaleina.

La reazione di neutralizzazione completa per un generico acido può essere schematizzata in questo modo:

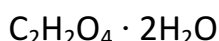


Qui ***n*** indica il numero di protoni acidi che la sostanza è in grado di scambiare. Questo valore viene detto **proticità**. Gli acidi organici presenti nel magazzino hanno diversi valori di proticità, corrispondenti al numero di **gruppi carbossilici** presenti sulla molecola (vedi qui a destra, dove R indica *il resto della molecola*).



L'**acido ascorbico** è un caso particolare di acido monoprotico organico in cui l'idrogeno acido non appartiene ad un gruppo carbossilico (vedi formula sull'allegato).

Alcune delle sostanze presenti in questo caso sono **idrate**: questo vuol dire che nella forma solida cristallina, per ogni molecola di quel composto è presente anche un numero definito di molecole di acqua. Monoidrato significa con una molecola d'acqua, diidrato con due, e così via. Nelle formule, l'acqua di idratazione viene riportata preceduta da un pallino. La formula bruta dell'**acido ossalico diidrato** è, per esempio:



**A1.1** – Gli zuccheri nella lista non presentano gruppi carbossilici e non rientrano tra i casi particolari come l'acido ascorbico. Che cosa ti aspetti che succeda aggiungendo ad una loro soluzione acquosa una goccia di soluzione di fenolftaleina ed una goccia di soluzione (non troppo diluita) di NaOH? ⇒ **Rispondi sul foglio risposte!**

#### Calcoli preliminari:

**A1.2** – A partire dalle strutture delle molecole organiche **riportate in allegato**, determina le formule brute di tutte le sostanze acide che potrebbero essere presenti nel magazzino della vittima (dunque anche l'acido ossalico), valutarne la proticità e calcola i rispettivi pesi molecolari. ⇒ **Riporta questi dati nella tabella A.T1 sul foglio risposte.**

Usa i seguenti valori per i pesi atomici relativi: **PA(H) = 1**    **PA(C) = 12**    **PA(O) = 16**

Avrai a disposizione una soluzione circa 1 M di NaOH.

**A1.3** – Sfruttando le informazioni su pesi molecolari e proticità, calcola i volumi di NaOH 1 M necessari per neutralizzare completamente 250 mg di ciascuno di questi acidi. ⇒ **Riporta questi risultati nella tabella A.T1 sul foglio risposte; riporta anche i calcoli svolti.** (nota: per evitare di dover scrivere troppo, è sufficiente che riporti soltanto i calcoli relativi all'acido citrico monoidrato e all'acido ascorbico)

**A1.4** – È molto probabile che la concentrazione effettiva della soluzione di NaOH che è stata preparata dagli assistenti sia inferiore a 1 M, perché la soda è piuttosto igroscopica e difficile da pesare. In questo caso cosa ti aspetti che succeda ai volumi calcolati in **A1.3**? Pensi che saresti comunque capace di identificare correttamente tutti gli acidi? ⇒ **Rispondi sul foglio risposte, giustificando sinteticamente le tue risposte!**

#### Reagenti e materiali:

- NaOH ca. 1 M in una beuta da 100 mL (**ATTENZIONE!**)
- Soluzione di fenolftaleina in provettina, etichettata **PH**
- Acqua deionizzata in spruzzette
- 2 becker o beute da 50/100 mL
- Pipetta graduata di plastica da 5 mL, con pipettatore a stantuffo
- Pipetta pasteur di plastica
- Spatolina sottile metallica (in comune) **LASCIARE SEMPRE, PULITA, ACCANTO ALLA BILANCIA**
- Spatoline di plastica
- Scotch di carta (in comune) per etichettare temporaneamente la vetreria

- Pennarello indelebile
- Bilancia semianalitica (sensibilità 0.001 g), in comune
- Fogli di alluminio per le pesate (in comune)

### Procedura sperimentale

⇒ **Indossa tutti i dispositivi di protezione! (quantità, camice, occhiali di protezione)**

Per ciascuno dei campioni A-J, procedi in questo modo:

*(Suggerimento: per accelerare le operazioni puoi procedere in parallelo su due campioni alla volta utilizzando entrambi i becker/beute da 50/100 mL a tua disposizione)*

- 1) Trasferisci in un becker/beuta da 50/100 mL,  $250 \pm 5$  mg del campione, segnandoti il peso effettivo nella **tabella A.T2 sul foglio risposte**. Per consentire a tutti di usarla, cerca di non impegnare troppo a lungo la bilancia!
- 2) Aggiungi circa 10 mL di acqua e mescola fino a completa dissoluzione. Uno dei campioni potrebbe impiegare più tempo degli altri a sciogliersi. In quel caso potrai utilizzare il bagno riscaldato a disposizione in laboratorio per accelerare il processo. **Fai attenzione a non scottarti!**
- 3) Aggiungi due gocce di soluzione di fenoltaleina e mescola
- 4) Riempi la pipetta graduata di soluzione di NaOH fino al segno “-2mL” (quindi con un totale di 7 mL), utilizzando il pipettatore a stantuffo. In caso di necessità puoi chiedere istruzioni sull’uso ad un assistente, ma essenzialmente ti converrà unicamente usare la rotellina, nelle due direzioni, per riempire e svuotare con precisione.
- 5) Fai gocciolare nel recipiente contenente il tuo campione la soluzione di NaOH, mescolando, fino al viraggio. È molto importante che nelle vicinanze del punto di viraggio le aggiunte siano goccia a goccia e sotto continua agitazione. Segnati il volume di NaOH utilizzato, sulla **tabella A.T2 sul foglio risposte**. Tieni presente che hai già una certa idea dei volumi che dovrai aggiungere, quindi per i primi mL dovresti poter procedere abbastanza speditamente!
- 6) Al termine, getta il contenuto del recipiente nel lavandino e sciacqualo per poter procedere alle analisi successive.

### Analisi dei risultati e identificazione degli acidi

In base ai risultati dell’esperimento, nella **tabella A.T2 sul foglio risposte** distingui gli acidi dagli zuccheri e assegna a ciascuno dei campioni acidi il suo nome.

**A1.5** – Sono davvero presenti tutti gli acidi presenti nell’inventario della vittima? È possibile che uno di essi fosse in realtà acido ossalico diidrato? Quale? ⇒ **Rispondi sul foglio risposte, giustificando sinteticamente!**

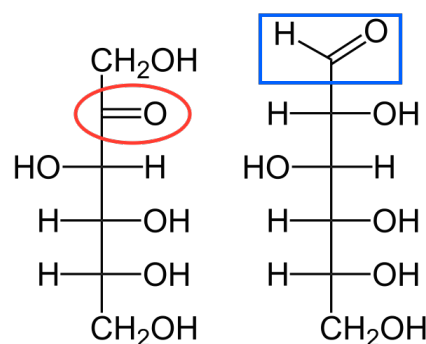
**A1.6** – Due degli acidi hanno pesi molecolari molto vicini (due unità!). In base alle informazioni a tua disposizione e alla strumentazione in tuo possesso, pensi di poterti fidare delle sole misure con NaOH per distinguerli? Pensi di avere a disposizione un metodo alternativo per identificare con certezza uno dei due?\* ⇒ **rispondi sul foglio risposte, giustificando sinteticamente le tue risposte!**

*\*In caso di risposta affermativa alla seconda domanda, svolgi questo esperimento alternativo, e riportane i risultati nello spazio per le note, a margine della tabella A.T2 sul foglio risposte!*

## A2. Identificazione degli zuccheri

Gli zuccheri possono essere **zuccheri semplici (monosaccaridi)** o **disaccaridi** come il saccarosio, il normale zucchero da cucina, o ancora **polisaccaridi**, come l'amido. I monosaccaridi si dividono in **aldosi** (glucosio) caratterizzati da un gruppo aldeidico e **chetosi** (fruttosio) caratterizzati da un gruppo chetonico.

*Nella figura qui a destra sono riportate le strutture a catena aperta del fruttosio, con il gruppo chetonico cerchiato in rosso, e del glucosio, con il gruppo aldeidico riquadrato in blu.*



Gli zuccheri sono inoltre classificati in **riducenti** e **non riducenti** secondo la loro capacità di ridurre particolari reattivi. In uno zucchero riducente come il glucosio il gruppo aldeidico dello zucchero viene ossidato ad acido carbossilico.

Possono reagire anche molecole come il fruttosio che non contengono inizialmente il gruppo aldeidico, ma che lo possono generare durante la reazione.

È per questo motivo che talvolta danno reazione positiva non solo zuccheri come il glucosio, ma anche il fruttosio che in certe condizioni viene prima isomerizzato a glucosio e poi ossidato.

Gli zuccheri come il saccarosio, detti zuccheri non riducenti non vengono ossidati

Pertanto uno zucchero può essere identificato attraverso alcune reazioni specifiche dei gruppi funzionali che lo caratterizzano.



Il saccarosio, in ambiente acido acquoso può idrolizzare liberando una molecola di glucosio e una di fruttosio. Il saccarosio (vedi struttura sul foglio allegato), a differenza dei monosaccaridi che lo compongono non è in grado di formare strutture a catena aperta.

## Test di riconoscimento degli zuccheri

Ti proponiamo alcuni test che permettono di distinguere uno zucchero da un altro.

Eseguendo i test di seguito riportati su ognuno degli zuccheri che ti sono stati assegnati avrai modo di identificarli e di scoprire se lo zucchero venduto sia realmente fruttosio.

### A2a. Reazione con acqua di bromo

L'acqua di bromo è una soluzione altamente ossidante di colore giallo intenso-arancione a base di bromo Br<sub>2</sub> disciolto in H<sub>2</sub>O. Viene spesso impiegata come reattivo nei saggi chimici di riconoscimento per sostanze che reagiscono col bromo in ambiente acquoso. Tra i composti più comuni che reagiscono bene con acqua di bromo ci sono i composti organici con doppio legame C=C ed il glucosio.

#### Reagenti e materiali:

- i 3 campioni (A-J) identificati come zuccheri, e il campione di fruttosio (FR)
- Acqua di bromo, in provetta tappata, sotto cappa (**ATTENZIONE!**)
- 4 Provette di vetro
- Acqua deionizzata in spruzzette
- Pipette Pasteur di plastica (da 1 mL, con graduazioni) o di vetro
- Spatolina e bilancia
- Bagno di acqua bollente, e mollette per maneggiare le provette, in comune

**Esecuzione del test con acqua di bromo****ATTENZIONE! Dovrai eseguire questa prova sotto cappa**

In una provetta aggiungi ad una soluzione di circa 0,5 g di zucchero in ca. 3 mL di acqua 10 gocce (0.5 mL) di acqua di bromo e scaldi a bagnomaria per 30 secondi; registra **sul foglio risposte** se il colore del bromo scompare oppure no. In questo esperimento è importante confrontare direttamente i risultati di tutti e 4 i campioni, analizzati nelle stesse condizioni. Quindi svolgi i saggi contemporaneamente.

Al termine del saggio getta i residui liquidi nella tanica dei rifiuti sotto cappa e sciacqua le provette nel caso volessi riutilizzarle. **Mostra le provette ad un assistente chimico prima di eliminarne i contenuti!**

**A2b. Saggio di Seliwanoff**

Il saggio di Seliwanoff è un test chimico utilizzato in laboratorio per la distinzione tra zuccheri chetosi ed aldosi. Il principio su cui si basa il saggio è la reattività selettiva con gli zuccheri chetosi. Il reattivo di Seliwanoff (resorcina +  $H_2O$  + HCl concentrato) rivela la presenza di uno zucchero chetoso nella soluzione attraverso la comparsa di una colorazione rosso-ciliegia. Il saggio quindi distingue chetosi da aldosi dando rispettivamente esito positivo (comparsa della colorazione) o esito negativo (assenza di colorazione: la soluzione rimane trasparente). La presenza di acido cloridrico concentrato nel reattivo comporta per riscaldamento idrolisi del saccarosio a dare glucosio più fruttosio.

**Reagenti e materiali:**

- i 3 campioni (A-J) identificati come zuccheri, e il campione di fruttosio (FR)
- Reattivo di Seliwanoff, in provetta.
- 4 Provette di vetro
- Acqua deionizzata in spruzzette
- Pipette Pasteur di plastica (da 1 mL, con graduazioni) o di vetro
- Spatolina
- Bagno di acqua bollente, e mollette per maneggiare le provette, in comune

**Esecuzione del test di Seliwanoff**

In una provetta sciogli una punta di spatola dello zucchero in esame in  $H_2O$ , aggiungi 1mL di reattivo di Seliwanoff e fai riscaldare a bagnomaria la soluzione ottenuta per circa 2 minuti. Registra **sul foglio risposte** la comparsa o meno di colorazione, ed eventuali differenze di intensità tra i campioni, e **mostra le provette ad un assistente chimico prima di eliminarne i contenuti!**

**A2c. Saggio di Tollens**

Il reattivo di Tollens contiene ioni  $Ag^+$  in una soluzione acquosa di ammoniacale.

In un aldoso come il glucosio il gruppo aldeidico dello zucchero viene ossidato dallo ione  $Ag^+$  ad acido carbossilico mentre l'argento metallico precipita o si deposita sulle pareti della provetta come specchio d'argento. Possono reagire anche molecole come il fruttosio che non contengono inizialmente il gruppo aldeidico, ma che lo possono generare durante la reazione.

È per questo motivo che danno reazione positiva non solo zuccheri come il glucosio, ma anche il fruttosio che viene prima isomerizzato a glucosio e poi ossidato.

Gli zuccheri come il saccarosio, detti zuccheri non riducenti, danno invece reazione negativa al test di Tollens.

**Reagenti e materiali:**

- i 3 campioni (A-J) identificati come zuccheri, e il campione di fruttosio (FR)
- NaOH 1 M (**ATTENZIONE!**)
- Soluzione di  $AgNO_3$  0,1 M in provetta con tappo. (**Attenzione, macchia la pelle!**)

- Soluzione di ammoniaca in provetta con tappo (**ATTENZIONE!**)
- 4 Provette di vetro *nuove*
- Acqua deionizzata in spruzzette
- Pipette Pasteur di plastica (da 1 mL, con graduazioni) o di vetro
- Spatolina (paletta da caffè)

### Esecuzione del test di Tollens

Alla provetta contenente 5 mL di  $\text{AgNO}_3$  0.1 M aggiungi 0.5 mL della soluzione di NaOH 1 M preparata in precedenza (**FAI ATTENZIONE!!**): si forma un precipitato di  $\text{Ag}_2\text{O}$ . Aggiungi goccia a goccia, sotto cappa, agitando (col tappo chiuso) dopo ogni aggiunta, una soluzione di ammoniaca fino a sciogliere completamente il precipitato. La soluzione così preparata contiene lo ione  $\text{Ag}^+$  come complesso solubile  $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ .

Preleva e sciogli in una provetta nuova una punta di spatola di zucchero in ca. 1 mL di acqua, quindi aggiungi  $\frac{1}{4}$  del reattivo di Tollens appena preparato, e mescola. Riscalda a bagnomaria per 2-3 secondi una provetta alla volta agitandola solo dopo averla estratta dal bagno. Registra ***sul foglio risposte*** il risultato dopo aver lasciato a riposo per qualche minuto e **mostra le provette ad un assistente chimico prima di eliminarne i contenuti!**

**ATTENZIONE! Appena terminata la prova svuota le provette nel contenitore dei rifiuti sotto cappa e sciacquale con acqua.**

## Un quadro d'insieme

**A2.1** – riunisci tutti i risultati dei tuoi saggi nella tabella **A.T2** ***sul foglio risposte***, assegnando il nome corretto ai campioni di zuccheri, nonché valutando che cosa conteneva il campione di “Fruttosio Eccellente per Ciclisti”.

## A3. Verifica della purezza della “Vitamina C Purissima”

Sorge il sospetto che la vittima potesse aver adulterato, questa volta di proposito, anche la vitamina C che vendeva come rimedio portentoso per i raffreddori più potenti. Si vuole quindi confrontare il campione “VC” con quello di vitamina C presente in magazzino, e per farlo sfrutterai le proprietà riducenti della sostanza in questione.

Una molecola di vitamina C è in grado di ridurre una molecola di iodio elementare  $\text{I}_2$  a due ioni iodato  $\text{I}^-$ , ossidandosi ad acido deidroascorbico:



Come saprai bene, la presenza di un eccesso di iodio  $\text{I}_2$  in presenza di ione ioduro può essere evidenziata dalla colorazione blu della salda d'amido.

### Reagenti e materiali:

- il campione (A-J) identificato come acido ascorbico, e il campione di vitamina C (VC)
- Soluzione 0.24 M di  $\text{I}_2$  in  $\text{H}_2\text{O}$  e KI (è una versione più concentrata della soluzione di Lugol)
- Siringa da 2.5 mL con ago
- Salda d'amido in provettina etichettata **SA**
- Pipetta pasteur
- 2 becker/beute da 50/100 mL
- Acqua deionizzata in spruzzette
- Bilancia e spatolina

### Procedura sperimentale:

Per ciascuno dei due campioni,

1. pesa ca. 90 mg di sostanza (annota il peso effettivo) e trasferiscili nel recipiente (becker/beuta) sciogliendoli con circa 10 mL di acqua
2. aggiungi 4 gocce di salda d'amido
3. riempi la siringa con 2.5 mL di soluzione di iodio 0.24 M e usala per far gocciolare la soluzione nel recipiente, agitando, fino a comparsa di colore blu.
4. Annota sul foglio risposte il volume di soluzione di iodio consumato.

**A3.1** – la purezza dei due campioni è sufficientemente simile da poterli considerare identici?

⇒ **rispondi e giustifica sul foglio risposte**

**A3.2** – Sei in grado di *calcolare* la purezza dei due campioni? ⇒ se sì, **riporta calcoli e risultati sul foglio risposte**

**A3.3** – in questo caso che cosa si può concludere sul comportamento della vittima e del fornitore di acido ascorbico? ⇒ **rispondi sul foglio risposte**

**A3.4** – utilizzando le sole sostanze presenti nel magazzino della vittima sarebbe possibile adulterare la vitamina C in modo che risulti comunque pura nei saggi descritti nella sezione A1? In caso affermativo, descrivi a parole come si potrebbe fare e indica il numero minimo di sostanze aggiuntive necessarie. ⇒ **rispondi sul foglio risposte**

## B. Giallo nel giallo... Un velocissimo test sulla pipì.

Bisogna verificare se la pipì recuperata sulla scena del crimine possa essere o meno compatibile con un soggetto diabetico. Le persone diabetiche presentano livelli sensibili di glucosio nelle proprie urine, quindi il test che devi svolgere è molto semplice: verificare se il campione contiene glucosio. Per questo scopo, se non sono a disposizione tecniche strumentali più precise, viene tipicamente utilizzato il **saggio di Benedict**.

### Saggio di Benedict

Il saggio di Benedict serve per evidenziare la presenza di zuccheri riducenti. Il reagente è solfato rameico in soluzione basica, di colore blu scuro. La formazione di un precipitato colore rosso-mattone indica la presenza di glucosio in concentrazione elevata, a concentrazioni minori si può avere un precipitato verde, giallo, arancio. L'assenza di variazioni di colore indica assenza di glucosio. Potrai utilizzare questo test per verificare l'eventuale presenza di glucosio nel campione di urina e per confermare l'identificazione del glucosio ottenuta attraverso le prove precedenti.

### Campione a tua disposizione:

- provettina contenente la pipì, marcata **PP**.

### Reagenti e materiali:

- 2 mL di reattivo di Benedict (colore azzurro scuro) in una provettina,
- una pipetta Pasteur in plastica, nuova
- Una provetta di vetro
- bagno di acqua calda (in comune), pinze per provette.

### Esecuzione del test di Benedict

In una provetta di vetro, versa tutto il campione di pipì assegnato e aggiungi 1 mL di reattivo, mescola e riscalda a bagnomaria per 3-5 minuti.

Se vuoi consumare il reattivo che ti avanza per confermare il glucosio identificato tra i campioni A-J, sostituisci al campione di pipì una puntina di spatola di sospetto glucosio e un paio di mL di acqua.

Annota **sul foglio risposte** l'eventuale formazione di precipitato ed il colore del precipitato stesso.