



PERCORSO DI ALTERNANZA

SCUOLA-LAVORO A.S. 2014-2015

CLASSE IV D SCIENZE APPLICATE

Dicono di noi 3

Le aziende e le loro finalità : lachimer 4

Le aziende e le loro finalità : cra 5

Sicurezza in laboratorio 6

Titolazioni acido-base 7

Esperimento – Titolazioni acido – base 8

I batteri 9

Analisi su campione di terra 10

Terreni di coltura

Teoria ed esperimenti 11

Foggia, percorsi Alternanza Scuola-Lavoro al Liceo Volta

Il nostro Liceo ha in atto due percorsi di Alternanza Scuola-Lavoro nel settore chimico-biologico, autorizzati dall'Ufficio Scolastico Regionale. Il progetto di Alternanza scuola-lavoro nasce dall'esigenza didattica di sperimentare un nuovo modo di "fare scuola" attraverso uno stretto collegamento con il mondo della ricerca/impresa che, secondo la logica del "learning by doing", tende a stimolare le capacità di apprendimento degli allievi ed ad ottimizzare il ruolo educativo della scuola interagendo con le esigenze e lo sviluppo del territorio.

Il progetto intende contribuire ad implementare azioni di approccio preventivo al mondo del lavoro con la collaborazione di professionisti altamente qualificati; orientare gli studenti verso una più consapevole scelta degli studi universitari con la valutazione di alcune reali opportunità lavorative di alta specializzazione; sostenere il miglioramento della formazione e dell'istruzione soprattutto in ambito scientifico; arricchire la formazione acquisita nei percorsi scolastici e formativi con l'acquisizione di competenze spendibili nel successivo percorso di studio.

Il percorso formativo di Alternanza Scuola-Lavoro è articolato in tre annualità che corrispondono al secondo, terzo e quarto anno scolastico. Il 1° anno di Alternanza è dedicato alla fase della sensibilizzazione e dell'orientamento, mentre il 2° e 3° anno sono dedicati alla realizzazione vera e propria del progetto che si articola in periodi di formazione in aula e periodi di apprendimento presso Enti/Università/laboratori, per un totale di 150 ore curricolari annuali, di cui 30 di formazione in aula con esperti in campo chimico-biologico e 120 ore di formazione presso Università/Enti di ricerca/laboratori. Al termine del percorso di Alternanza, l'Istituzione Scolastica certifica le competenze acquisite dallo studente che rappresentano un credito spendibile in tutte le circostanze in cui esso sia riconosciuto.

LE AZIENDE E LE LORO FINALITÀ



Il Lachimer è una Azienda speciale della Camera di Commercio di Foggia, realizzata grazie ad un progetto cofinanziato dalla Unione Europea, attraverso il Fondo Europeo di Sviluppo Regionale e dal Ministero delle Attività Produttive. Lo scopo dell'Azienda è quello di svolgere un servizio di prova, consulenza e certificazione di merci e prodotti in settori di analisi rispondenti alle esigenze dell'economia locale. I servizi offerti si estendono a molteplici settori, sono resi senza fini di lucro, con l'obiettivo sia di essere a supporto dell'economia locale, attraverso il sostegno alle imprese, sia di tutelare il consumatore. Dal 1996 svolge attività di analisi, attraverso l'effettuazione di prove chimiche, fisiche e microbiologiche. I cambiamenti e le esigenze del settore produttivo, hanno suggerito l'ampliamento dei servizi resi dall'Azienda, trasformandola nel "Laboratorio polifunzionale delle Imprese". Il laboratorio collabora attivamente sia con la Facoltà di Economia e Commercio che con la Facoltà di Agraria dell'Università degli Studi di Foggia e costituisce un punto di riferimento per l'attività didattica di vari istituti scolastici.

Il Lachimer effettua analisi e prove:

- chimico-merceologiche;
- sensoriali sugli alimenti;
- prove su materiali da costruzione.



Laboratorio Lachimer.

Inoltre il laboratorio offre consulenze in ambito di:

- sicurezza alimentare (HACCP);
- sistemi di gestione della qualità (ISO 9001);
- sistemi di gestione ambientali (ISO 14001/reg.EMAS);
- responsabilità sociale (SA 8000);
- attività di formazione professionale.

LE AZIENDE E LE LORO FINALITÀ



Nel 1919 l'Istituto Nazionale di Genetica per la Cerealicoltura, attraverso l'acquisizione della tenuta "Masseria Manfredini", costituì a Foggia la Stazione Fitotecnica per le Puglie. Con la propria dotazione fondiaria, la Stazione Fitotecnica iniziò un'attività basata sulla moltiplicazione e conservazione in purezza dei nuovi frumenti, costituiti a Rieti dal Prof. Nazareno Strampelli. Nell'agosto 2007, a seguito dell'attuazione del piano di riorganizzazione del CRA, l'Istituto Sperimentale per la Cerealicoltura, Sezione di Foggia diviene Centro di Ricerca per la Cerealicoltura. Le Strutture presenti all'interno dell'azienda, sono quattro:

- l'Azienda Sperimentale, di 145 ettari, e di attrezzature per la sperimentazione cerealicola ed agronomica;
- il Laboratorio di Chimica e Metabolomica, dotato di apparecchiature di recente acquisizione per analizzare: zuccheri, lipidi, proteine, amminoacidi, vitamine, sostanze antiossidanti, microelementi, sali minerali e contaminanti come micotossine e metalli pesanti;
- il Laboratorio di Tecnologia della Pasta e del Pane, che dispone di attrezzature e strumentazione per la valutazione delle caratteristiche tecnologiche della granella dei principali cereali;
- il Laboratorio di Genomica, attrezzato per la biologia molecolare, per l'analisi genomica mediante approcci high-throughput e per la trasformazione genetica. Il laboratorio è dotato di sequenziatore capillare, stazione robotica, strumenti per l'amplificazione del DNA (PCR e qPCR), sistemi di elettroforesi capillari, ecc.

L'azienda si occupa di:

- miglioramento genetico di frumento duro, orzo e farro;
- genetica e genomica;
- chimica e metabolomica della qualità biochimica dei sistemi antiossidanti;
- sviluppo di nuovi alimenti a base di cereali;
- ottimizzazione della gestione agronomica.

SICUREZZA IN LABORATORIO

a cura del dott. Ivano Vitale

Indispensabile per ogni operatore di laboratorio è la prevenzione: ogni persona, deve conoscere quali sono i rischi che incontra in laboratorio. Essi sono di due tipi:

-IGIENICO AMBIENTALI, ovvero l'esposizione a fattori nocivi presenti nell'ambiente di lavoro.

Questi rischi sono legati ad:

-**agenti chimici** (l'esposizione prolungata a sostanze chimiche presenti nell'ambiente di lavoro, ad esempio emissioni di vapori, fumi, nebbie e polveri)

-**agenti fisici**, che incidono sulle condizioni igienico-ambientali del laboratorio (es. esposizione a rumori, ultrasuoni, radiazioni..)

-INFORTUNISTICI (legati a traumi di natura fisica)

I rischi infortunistici sono lesioni:

- per ferite da taglio** (dovute a vetreria da laboratorio soggetta a sollecitazione termica o meccanica);
- **per ustioni termiche** (dovute a piastre riscaldanti che raggiungono i 200-300°C e l'uso del bunsen);
- **connesse all'impiego di apparecchiature che lavorano sotto pressione o vuoto** (rischio di esplosione o implosione);
- **elettrocuzione**(scarica accidentale di corrente elettrica che attraversa l'organismo umano)
- **manipolazione di sostanze chimiche** , il cui contatto avviene solo con sostanze chimiche corrosive.



Uso del guantone per prelevare il campione dalla fiamma del bunsen.

TITOLAZIONI ACIDO - BASE

Le titolazioni sono procedimenti analitici nei quali la concentrazione incognita dell'analita viene determinata misurando la quantità di una specie standard che reagisce completamente con l'analita stesso. La specie standard può essere una soluzione a concentrazione nota di una specie chimica, di cui si misura il volume o la massa.

Buretta graduata. Strumento utile per determinare se la



CONCETTI CHIAVE DELLE TITOLAZIONI

TITOLAZIONI VOLUMETRICHE Nella buretta è contenuta una soluzione a concentrazione nota (titolante), nella beuta è contenuto un volume noto di una soluzione a concentrazione incognita di una specie che reagisce.

PUNTO DI EQUIVALENZA È il punto di una titolazione in cui la quantità di reagente standard aggiunta è esattamente uguale alla quantità di analita.

PUNTO FINALE È il punto in cui si verifica un cambiamento fisico che permette all'operatore di giudicare completa la titolazione.

INDICATORE Sostanza aggiunta alla soluzione del campione in grado di produrre in corrispondenza del punto di equivalenza un cambiamento fisico osservabile dalla soluzione.

FENOFTALEINA Indicatore che può assumere due colorazioni: trasparente a pH acido; rosa a pH basico.

ERRORE DI TITOLAZIONE Differenza tra il punto di equivalenza e il punto finale

a cura del dott. Oronzo Barbati

Strumenti

Buretta da 50 mL
Beuta da 100 mL
Sostegno per buretta



*Sale da cucina per
uso chimico.*

*Acido
cloridrico*

Reattivi

1. Soluzione a titolo noto di NaOH 0,1 M (titolante)
2. Soluzione di HCl a concentrazione incognita
3. Soluzione di indicatore (fenoftaleina)

1. Si prepara la buretta, fissandola opportunamente all'apposito sostegno, e la si riempie con un volume noto della soluzione titolante di NaOH 0,1 M.
2. Si introducono nella beuta 50 mL della soluzione a titolo incognito di HCl.
3. Si aggiungono, alla soluzione di acido cloridrico, piccole quantità di indicatore, fino al raggiungimento di un bel colore intenso, che nel caso della fenilalanina è il viola.
4. Si procede ora alla titolazione aggiungendo, goccia a goccia, la soluzione titolante fino al cambiamento (viraggio) del colore dell'indicatore, che nel caso della fenilalanina passa dal trasparente al viola.
5. Sulla scala graduata della buretta leggeremo il volume di titolante utilizzato.



I batteri vengono classificati in base a forma, modalità di nutrizione, metabolismo e in base alle caratteristiche delle pareti.

I batteri principali sono di due tipi:

- cocchi, che hanno forma sferica;
- bacilli, che hanno forma a bastoncino.

Esigenze nutrizionali

I substrati vengono formulati a partire da ingredienti standardizzati, complessi o acquistati in forma disidratata con ingredienti già premiscelati. Forniscono zuccheri e proteine.

Esigenze gassose

I batteri possono vivere in assenza o in presenza di ossigeno. Si distinguono:

- ciclo aerobico, ovvero vivono in presenza di ossigeno;
- ciclo anaerobico, ovvero vivono in assenza di ossigeno;
- ciclo aerobico o anaerobico facoltativo, vivono sia in presenza che in assenza di ossigeno.

Crescita microbica

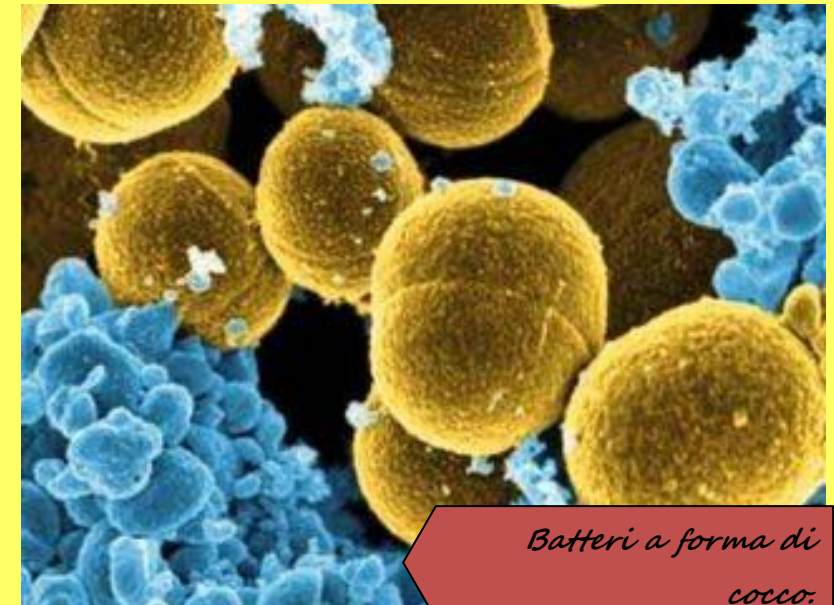
La crescita microbica avviene in diverse fasi.

1° fase :latenza. I batteri non si moltiplicano.

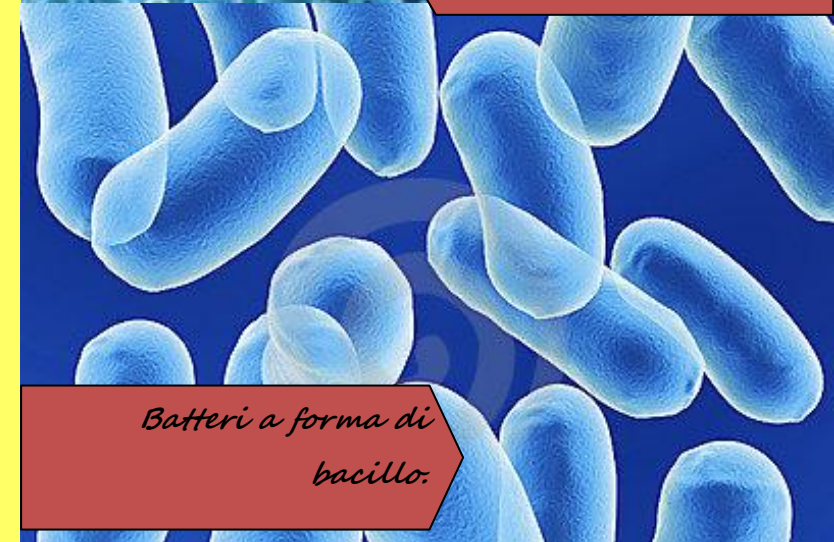
2° fase :esponenziale. I batteri si moltiplicano.

3° fase: rallentamento. I nutrienti si riducono e il ritmo delle divisioni cellulari diminuisce

4° fase: stazionaria. Il numero di cellule nuove è uguale al numero di cellule morte.



Batteri a forma di cocco.



Batteri a forma di bacillo.

L'analisi sul campione di terra serve per la determinazione della carica batterica aerobia in un terreno. Da ciò possiamo valutare la fertilità fisica, chimica e biologica del terreno. Nella parte retrostante dei laboratori Lachimer sono presenti piccole piantagioni di prezzemolo; per valutare le qualità del terreno, è stato prelevato un campione e lo abbiamo analizzato nel laboratorio. 10 g di terreno sono stati mescolati in una provetta con 90 ml di acqua distillata. Il composto è stato lasciato omogeneizzare. Sono state preparate 10 provette nel quale sono state effettuate delle diluizioni con 100 mL di "Maximum Recovery", un diluente che è stato diviso in 10 mL per ogni provetta con il terreno omogeneizzato. Nello stesso momento, è stato preparato del terreno nutritivo di base (PCA) e inserito il tutto in autoclave per 15 minuti a 121 °C per raggiungere le condizioni di sterilità. Al termine, 1 mL di ogni provetta, è stato inserito sulle piastre precedentemente trattate con il PCA. I composti sono stati inseriti nell'incubatrice a 30 °C per 3 giorni affinché potesse crescere la carica batterica. Alla lettura dei risultati al conta colonie, le uniche



*Maximum Recovery
Diluent.*

piastre leggibili erano quelle con diluizioni e più alta.



TERRENI DI COLTURA

Terreno di coltura: mezzo nel quale o sul quale può avvenire lo sviluppo e la crescita in vitro di un microrganismo

♣ **Caratteristiche**

- ⊙ concentrazione adatta di sostanze nutritive per la crescita batterica
- ⊙ adeguato grado di umidità
- ⊙ reazione (pH) adatta
- ⊙ sterili e protetti da qualsiasi inquinamento

Contengono:

⊙ **Peptoni:** insieme di composti idrosolubili, ottenuti per idrolisi (acida od enzimatica) delle proteine (caseina, soia, ecc.)

⊙ **NaCl:** aggiunto in concentrazioni adeguate per le necessità osmotiche richieste, in vivo, da alcuni microrganismi parassiti

♣ **Zuccheri** glucosio, lattosio, mannite, sono aggiunti per scopi specifici in terreni particolari

⊙ **Estratti di lievito**, carne, d'organo: forniscono fattori di crescita e sali inorganici

⊙ **Arricchimenti:** sangue lisato, emoglobina, latte disidratato, gelatina vitamine. Necessari per la crescita di batteri più "esigenti" dal punto di vista nutrizionale

⊙ **Supplementi selettivi:** specifici (antibiotici) od a spettro meno definito (sali biliari, cristalvioletto, sodio-azide)

⊙ **Indicatori:** le sostanze coloranti (fenolo, blu di bromo fenolo, rosso fenolo, verde di bromo cresolo, ecc.) permettono di seguire il metabolismo fermentativo del batterio in esame, determinando il viraggio di colore del terreno a valori critici di pH

Vengono classificati in solidi o liquidi

In base allo stato fisico:

⊙ **Terreni LIQUIDI:** componenti sciolti in acqua e sterilizzati.

⊙ **Terreni SOLIDI:** possono essere naturalmente tali (terreno alla patata) o vengono solidificati per aggiunta di un agente gelificante (agar, gelatina, silica-gel)

In base alla **funzione:**

⊙ **Terreni di ARRICCHIMENTO (o ELETTIVI):** la specie microbica di interesse vi cresce in un tempo assai più breve rispetto ad altre specie microbiche.

TERRENI DI COLTURA

☉**Terreni SELETTIVI:** contengono sostanze batteriostatiche (sali biliari, telluriti) a una concentrazione nota che inibiscono o rallentano lo sviluppo di molte specie microbiche, consentendo di isolare i microrganismi da campioni altamente contaminati.

☉**Terreni DIFFERENZIALI:** contengono sostanze indicatrici di particolari reazioni biochimiche che avvengono nel terreno, consentendo di identificare i microrganismi di specifici microrganismi

In base alla **costituzione chimica:**

☉**Terreni MINIMI:** per la crescita dei soli batteri autotrofi. Gli elementi essenziali (N, C, S, P) sono presenti come sali inorganici in composizione e quantità note.

☉**Terreni SINTETICI(o Definiti):** nota la formulazione chimica di ogni ingrediente; le singole sostanze di cui il batterio necessita sono presenti in quantità note.

☉**Terreni COMPLESSI:** ignota l'esatta composizione chimica delle sostanze nutritive (estratto di carne di bue, cuore, cervello, ecc.). Comprendono la maggior parte dei terreni usati in laboratorio.

AGAR: sostanza gelificante, ricavata dalle alghe, che rende solido il terreno.

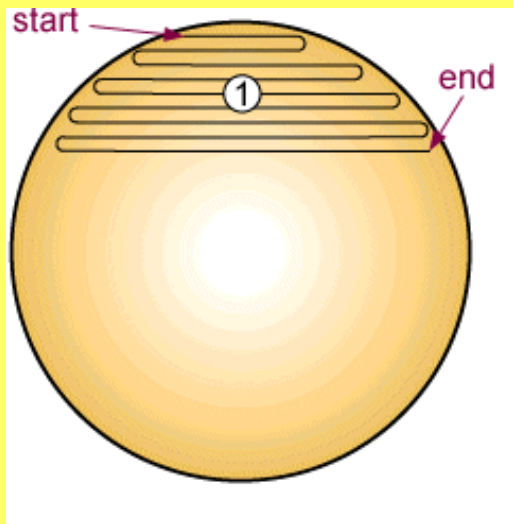
BGA (Brilliant green agar) Il BGA contiene lattosio e saccarosio che, se fermentati dai batteri, cambia colore in un verde brillante, altrimenti si ha un viraggio verso il colore rosso. Il terreno ha un'elevata azione inibitrice nei confronti di E. coli, Proteus e Pseudomonas.

MAXIMUM RECOVERY DILUENT Diluente isotonic. Riduce lo shock fisiologico e consente il massimo recupero dei microrganismi dai campioni.

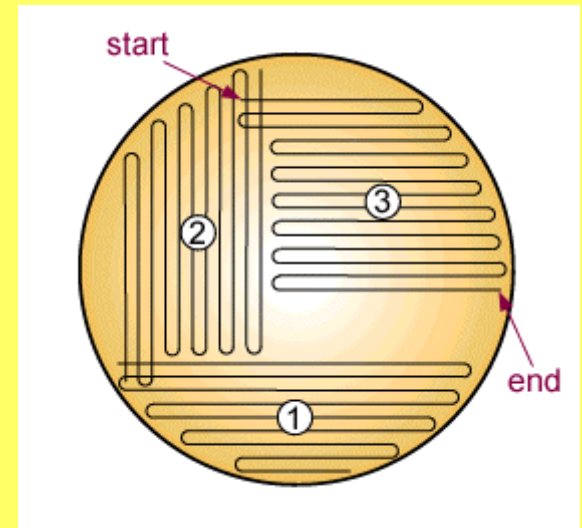
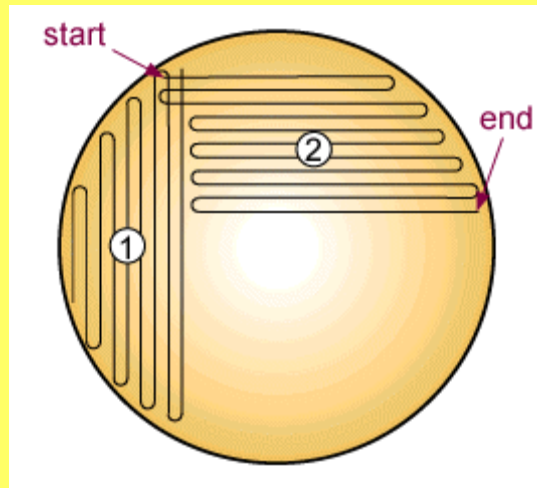
PCA (Plate Count Agar) Terreno contenente glucosio e estratto di lievito utilizzato in microbiologia alimentare per il conteggio dei batteri aerobi nel latte, nelle carni, nei prodotti a base di carne e altri alimenti. E' altresì utilizzato nelle analisi dei prodotti farmaceutici, cosmetici e delle loro materie prime.

TBX AGAR (TRYPTONE BILE X-GLUCURONIDE MEDIUM) Terreno selettivo per il conteggio dei ceppi di Escherichia coli β -D-glucuronidasi-positivi nei prodotti alimentari. Il risultato si ottiene mediante conteggio diretto in piastra delle colonie caratteristiche dopo sole 24 ore di incubazione. È indicato per la determinazione di E. Coli presunta nei prodotti destinati al consumo umano o per l'alimentazione animale con incubazione a 44°C e non con metodo di semina per inclusione o in superficie. È un terreno selettivo **chromogenic**. L'azione selettiva è dovuta alla presenza di sali biliari, inibitori per i batteri G⁺ l'azione differenziale è esplicata dal substrato cromo genico X-GLUC, l'idrolisi del quale dà luogo alla formazione di un pigmento blu-verde. L' E.Coli è una delle poche specie β glucuronidasi +, insieme a qualche ceppo di Salmonella e quindi coltiva sul terreno con colonie blu o verdi. Gli enterobatteri β glucuronidasi + coltivano con colonie incolori.

XLD AGAR (Xylose-Lysine-Desoxycholate Agar) è un terreno selettivo e differenziale usato per l'isolamento degli enterobatteri patogeni.



TERRENI DI COLTURA SEMINA PER ISOLAMENTO



BATTERI UTILIZZATI NELLA SPERIMENTAZIONE

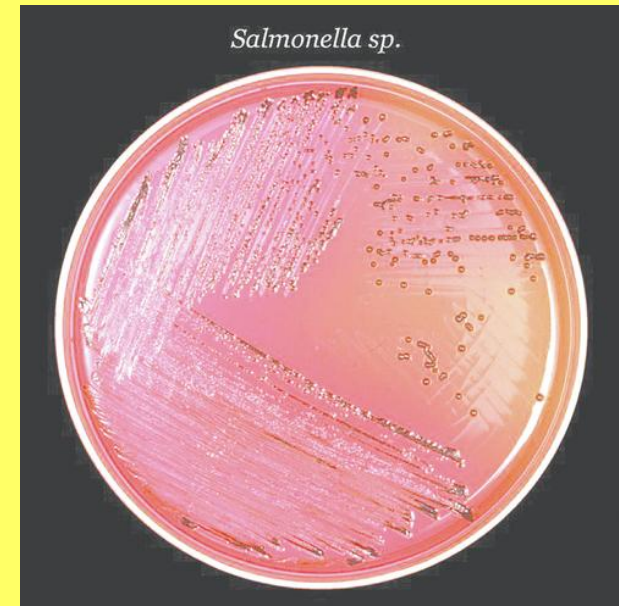
ESCHERICHIA COLI Sono batteri che a 44°C formano colonie blu sul TBX. È un microrganismo a forma di bastoncello G-

aerobio e anaerobio facoltativo non sporigeno che cresce a temperatura di 44,5°C, lattosio fermentante, β glucoronidasi +, indolo + in terreni contenenti triptofano.

SALMONELLA Identificare gli Enterobatteri è possibile in base ad una serie di caratteri biochimici quali la capacità di usare particolari substrati, presenza di particolari enzimi, produzione di specifici prodotti metabolici e la loro capacità di fermentare particolari zuccheri. Il genere Salmonella è un microrganismo bastoncellare, G⁻, asporigeno, mobile per la presenza di flagelli.

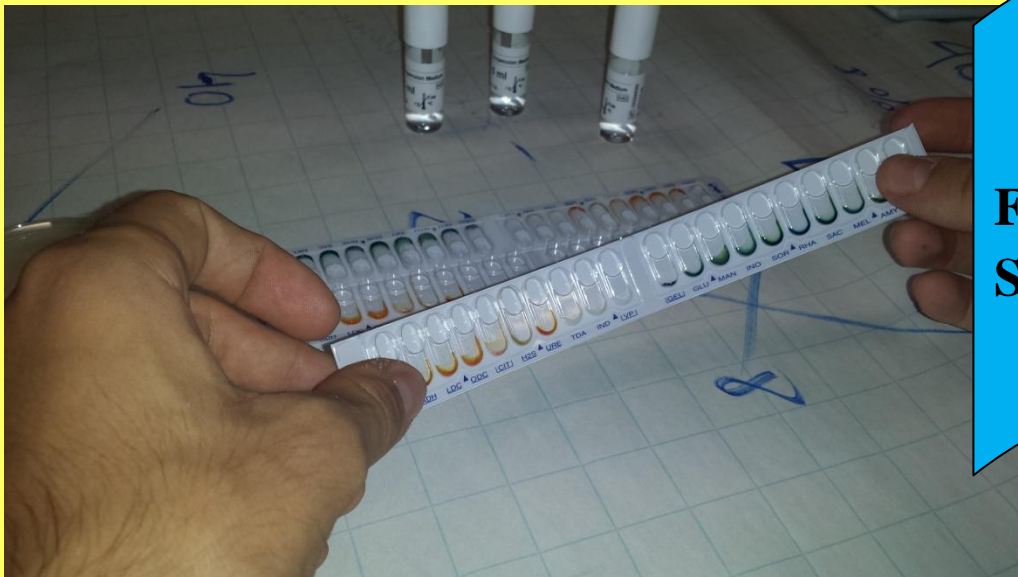


E. coli



Salmonella sp.

FASI IDENTIFICAZIONE SALMONELLA



1 Fase di prearricchimento

Viene rivitalizzata e recuperata la salmonella presente.

2 Arricchimento selettivo

Prevede l'uso di due terreni: RVS broth (brodo azzurro) e MK (brodo verde smeraldo)

3 Isolamento

Viene fatto su due terreni differenziali: XLD e BGA (incubazione per 24 ore a 37°C)

4 Coltura pura

Si prepara la piastra.

5 Identificazione biochimica con "API 20 E"

Incubazione per 24 ore a 37°C.



BIBLIOGRAFIA

Valitutti . Concetti di chimica- Ed Zanichelli

F. Fanti Biologia, Microbiologia e Biotecnologia - Ed Zanichelli

Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C

Accredia:

Determinazione acidità dei vini OIV - MA - A5313-01 R2009

Determinazione acidità oli Reg CEE 2568/1991 11/07/1991

GU CEE L248 05/09/1991 AII II

Reg CE 702 /2007 21/06/2007 GU

CE L1&1 22/06/2007

Ricerca Salmonella su alimenti di uso umano e zootecnico e campioni ambientali

UNI EN ISO 11290- 1:2005

Conta E coli beta-glucuronidasi positivo su alimentidestinati ad uso umano e zootecnico ISO 16649-2-2001

Conta di microrganismi a 30°C su alimenti UNI EN ISO 4833 -1:2013