



**PUBBLICAZIONE AI SENSI DELL'ART. 19 DEL D.LGS. N. 33 DEL 14 MARZO 2013,
MODIFICATO DALL'ART. 18 DEL D.LGS N. 97 DEL 25 MAGGIO 2016**

**PROVE SCRITTE STABILITE DALLA COMMISSIONE ESAMINATRICE DEL BANDO N. 301.16-
SELEZIONE PUBBLICA PER TITOLI ED ESAMI PER L'ASSUNZIONE A TEMPO
INDETERMINATO DI 1 UNITÀ DI PERSONALE CON PROFILO COLLABORATORE TECNICO
DEGLI ENTI DI RICERCA – VI LIVELLO PROFESSIONALE APPARTENENTE ALLE
CATEGORIE RISERVATARIE DI CUI ALL'ART. 1 DELLA LEGGE 12 MARZO 1999, N. 68,
RESIDENTE NELLA REGIONE PUGLIA DA ASSEGNARE ALL'ISTITUTO DI SCIENZE DELLE
PRODUZIONI ALIMENTARI (ISPA) DI LECCE**

PROVE SCRITTA E PRATICA DEL 05/11/2021

PROVA SCRITTA TRACCIA A- PROVA ESTRATTA

Il candidato, sulla base delle proprie conoscenze, descriva uno o più microrganismi di interesse alimentare e ne illustri le proprietà. Il candidato descriva inoltre le principali metodologie e le strumentazioni per la caratterizzazione dei suddetti. Relativamente alle strumentazioni indicate, ne esponga il principio di funzionamento e le condizioni operative ed eventuali limiti e potenzialità.

PROVA SCRITTA TRACCIA B- PROVA NON ESTRATTA

Il candidato, sulla base delle proprie conoscenze, dopo aver delineato le caratteristiche e le proprietà di uno o più microrganismi utili per la produzione di alimenti e/o bevande fermentate, illustri una o più metodologie sperimentali e la strumentazione necessaria per la caratterizzazione chimica e microbiologica dei suddetti alimenti e/o bevande fermentate. Riguardo alle strumentazioni indicate, ne esponga il principio di funzionamento e le condizioni operative.

PROVA SCRITTA TRACCIA C- PROVA NON ESTRATTA

Il candidato, sulla base delle proprie conoscenze, dopo aver delineato le proprietà di uno o più microrganismi di interesse agroalimentare, illustri le principali strumentazioni proprie di un laboratorio di microbiologia con particolare riferimento a quelle utilizzate per la caratterizzazione di microrganismi da utilizzarsi per produzione di alimenti o bevande fermentate. In riferimento alle strumentazioni indicate, ne esponga il principio di funzionamento e le condizioni operative.

PROVA PRATICA TRACCIA A- PROVA ESTRATTA

Quesito 1

È necessario isolare singole colonie da 6 differenti ceppi di lievito a partire da altrettante colture cresciute in mezzo liquido.

È anche necessario isolare singole colonie da sei ceppi di lievito partendo da colture cresciute in piastre Petri e contenenti terreno agarizzato.

Il candidato, sulla base delle proprie conoscenze descriva come pensa di poter isolare singole colonie di lievito a partire da:

- 1) colture cresciute in terreno liquido
- 2) colture cresciute su terreno agarizzato
- 3) Eventuali metodi di conservazione delle cellule di lievito ottenute al termine della coltura.

Il candidato, inoltre, specifichi la strumentazione, il materiale e i dispositivi di protezione individuale e collettivi necessari.

Quesito 2

Si deve estrarre il DNA cromosomale da colture di differenti ceppi di lievito cresciute ciascuna in 3 mL di terreno liquido. La procedura di estrazione prevede di effettuare i seguenti passaggi:

1. Centrifugare le provette contenenti le colture a 3000 rpm per 3 minuti a temperatura ambiente;
2. Lisare le cellule di lievito mediante agitazione su Vortex dopo l'aggiunta di 300 μL di breaking buffer (BB) e 0.5 g di sferette di vetro (diametro 0.45 mm);
3. Aggiungere 200 μL di una miscela già pronta di fenolo-cloroformio-alcol isoamilico (FIAC) e mescolare;
4. Prelevare 100 μL della fase superiore acquosa;
5. Far precipitare il DNA mediante aggiunta di:
100 μL di una soluzione di ammonio acetato 4M;
250 μL di etanolo assoluto;
6. Eliminare l'etanolo e solubilizzare il DNA in 50 μL di acqua sterile.

Dovendo procedere all'estrazione del DNA da 10 ceppi, si chiede al candidato di:

- 1) elencare la quantità in grammi di sferette e i volumi delle diverse soluzioni e di acqua occorrenti
- 2) indicare la strumentazione, vetreria e plastiche necessarie per il corretto svolgimento dell'esperimento.
- 3) indicare eventuali dispositivi di protezione collettiva e individuale necessari.

PROVA PRATICA TRACCIA B- PROVA NON ESTRATTA

Quesito 1

Si hanno a disposizione 10 differenti ceppi di lievito *Saccharomyces cerevisiae* cresciuti in altrettante differenti capsule Petri. Per ogni ceppo è necessario allestire una coltura in 20 mL di terreno liquido.

Il candidato, sulla base delle proprie conoscenze, descriva come eseguirebbe il compito assegnato specificando la strumentazione, il materiale e i dispositivi di protezione individuale e collettivi necessari.

In particolare, sulla base delle proprie conoscenze, descriva:

- 1) La procedura di inoculazione della coltura in terreno liquido.
- 2) Un metodo per il controllo finale della crescita microbica
- 3) Eventuali metodi di conservazione delle cellule di lievito ottenute al termine della coltura.

Quesito 2

Si deve allestire un esperimento di amplificazione di DNA mediante reazione polimerasica a catena (PCR) e i reagenti necessari sono disponibili in soluzioni stock e i volumi da prelevare di ciascuna soluzione sono indicati nella seguente tabella:

Concentrazioni sol. stock	Volume da utilizzare
Buffer PCR 10X	10 μ L
Primer Forward 10μM	1 μ L
Primer Reverse 10μM	1 μ L
dNTPs mix 10mM	2 μ L
DNA stampo 100ng/μL	2 μ L
Taq polimerasi (2.5U/μl)	1 μ L
H2O sterile	83 μ L
Volume finale	100 μL

Il candidato descriva quindi il materiale (plastiche e vetreria) e la strumentazione necessaria per prelevare adeguatamente i volumi di soluzioni richiesti, preparare la reazione ed effettuare il saggio richiesto. Descriva, inoltre, gli eventuali dispositivi di protezione individuale necessari.

PROVA PRATICA TRACCIA C- PROVA NON ESTRATTA

Quesito 1

È necessario determinare il numero di cellule vitali (Unità Formanti Colonia, UFC) in una coltura liquida mediante piastramento di alcune diluizioni seriali della coltura su terreno di coltura agarizzato

Il candidato, sulla base delle proprie conoscenze, descriva la procedura da eseguire per effettuare la determinazione, specificando la strumentazione ed il materiale necessario, l'uso dei dispositivi di protezione individuale e collettivi, nonché eventuali reagenti.

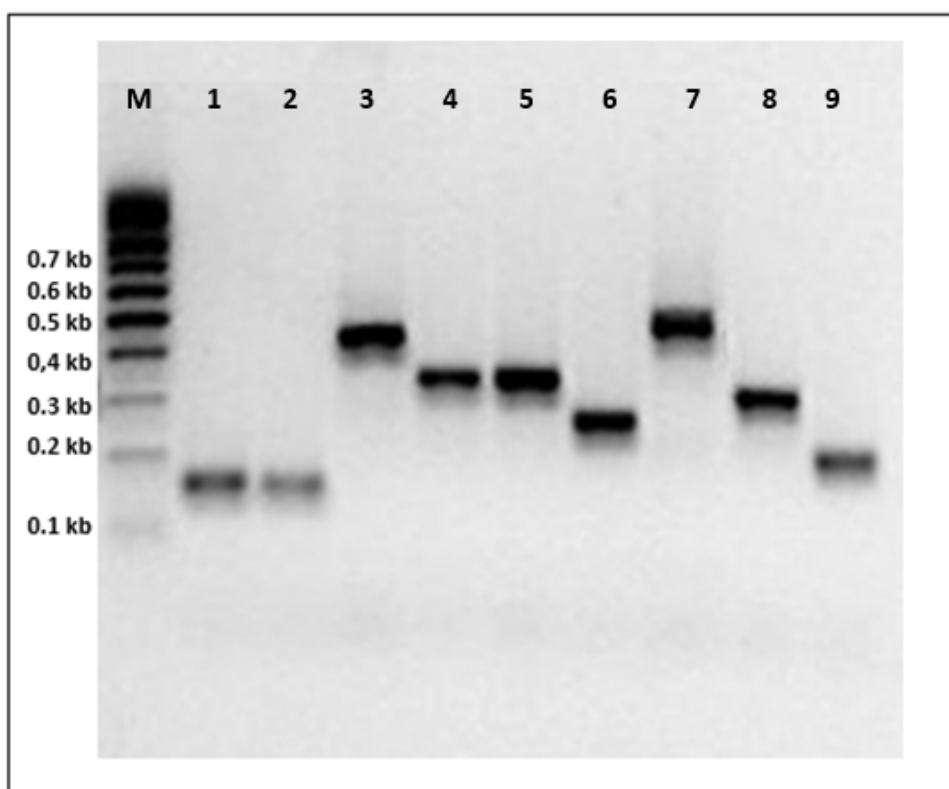
La semina di 1 mL della coltura iniziale diluita 1:100 ha permesso di contare 145 colonie. Il candidato determini il numero di UFC/mL nella coltura oggetto di analisi.

Quesito 2

Occorre visualizzare i prodotti di amplificazione di DNA mediante elettroforesi su gel di agarosio

Il candidato descriva il principio di funzionamento e la strumentazione necessaria per l'elettroforesi del DNA e gli eventuali dispositivi di protezione individuale necessari.

La figura successiva mostra il risultato del saggio. Il candidato, sulla base della lunghezza dei frammenti del marcatore di peso molecolare (M, presente nella prima corsia) indicati in figura, stimi la dimensione approssimativa espressa in Kilobasi (kb) dei 9 prodotti della PCR mostrati in figura.



IL PRESIDENTE

IL SEGRETARIO