

PRUEBAS SELECTIVAS TÉCNICO ESPECIALISTA EN SALUD

PÚBLICA Y MEDIO AMBIENTE

(LABORATORIO DE ANÁLISIS Y CONTROL)

SEGUNDO EJERCICIO

MODELO B

Lea detenidamente el enunciado de cada uno de los dos supuestos prácticos. Cada uno incluye varios apartados con preguntas relacionadas.

Conteste cada uno de los apartados completando la información requerida.

Se permite el uso de calculadora con las características especificadas en la convocatoria.

No está permitido el uso de teléfono móvil durante la ejecución del ejercicio.

SUPUESTO 1

Se realiza el control oficial de muestras reglamentarias de productos de la pesca frescos para los que se han solicitado las siguientes determinaciones:

- 1.1-Determinación de N/Proteína por volumetría (M^o Kjeldalh)
- 1.2-Determinación de Histamina por HPLC con detector de fluorescencia
- 1.3-Recuento de *Listeria monocytogenes*

1.1-Nitrógeno/Proteínas por volumetría (Método de Kjeldalh)

Breve descripción del ensayo: La muestra se digiere con ácido sulfúrico concentrado, utilizando catalizador de sulfato potásico y sulfato de cobre. El nitrógeno orgánico se transforma en ión amonio que posteriormente, en medio fuertemente básico, genera amoniaco en cantidad equivalente al nitrógeno presente en la muestra. El digerido se destila y el destilado se recoge en solución de ácido bórico. La posterior valoración con HCl 0,1M hasta viraje de un indicador permite el cálculo del nitrógeno proteico inicialmente presente en la muestra.

Para llevar a cabo el ensayo se necesita preparar las siguientes disoluciones de trabajo en el laboratorio partiendo de los reactivos que se indican en cada caso:

PREGUNTA 1. Disolución de Hidróxido sódico al 40% (m/v) a partir de NaOH en lentejas, reactivo para análisis, con 85% de riqueza. Indicar el peso en gramos de reactivo necesario para preparar 5 L de disolución acuosa.

Respuesta:
Justifique su respuesta:

PREGUNTA 2. Disolución indicadora de verde de bromocresol al 0,1% (m/v) en Metanol, a partir de reactivo con riqueza del 99,0%. Indicar el peso necesario de reactivo en mg, para preparar 50 ml de disolución indicadora.

Respuesta:
Justifique su respuesta:

PREGUNTA 3. Indique el peso en gramos de carbonato sódico Na₂CO₃ patrón primario (Riqueza=100%), necesarios para neutralizar 50 ml de una disolución de HCl 0,1 M utilizando fenolftaleína como disolución indicadora.

Peso molecular Na₂CO₃ = 106 g/mol.

Peso molecular HCl = 36,5 g/mol.

Respuesta:
Justifique su respuesta:

PREGUNTA 4. Calcule el volumen necesario de disolución de HCl del 37% de riqueza en peso, cuya densidad es $1,19 \text{ g/cm}^3$ para preparar 500 ml de una disolución de HCl 3M.

Peso molecular HCl = $36,5 \text{ g/mol}$.

Respuesta:
Justifique su respuesta

PREGUNTA 5. En la valoración del Nitrógeno proteico de una muestra con disolución de HCl 0,1M (factor= 1,000), se han obtenido los siguientes datos primarios:

Datos primarios	Peso muestra, g	Volumen de HCl 0,1M gastado en la valoración, ml
Blanco	2,00	0,05
Muestra 1.1	1,35	29,20
Muestra 1.2	1,20	26,25

Calcule el contenido de %N proteico y %Proteínas en los dos replicados de la muestra 1, completando las celdas vacías de la tabla adjunta.

Peso atómico del N= $14,01 \text{ g/mol}$.

Factor conversión = 6,25

Resultados	% Nitrógeno	% Proteína
Muestra 1.1		
Muestra 1.2		

Justifique su respuesta:

PREGUNTA 6. Si los duplicados de la Muestra 1 han sido obtenidos en condiciones de repetibilidad y el criterio establecido durante la validación del ensayo de proteínas es que la diferencia máxima entre resultados sea de $\pm 0,4 \text{ g/100g}$, ¿cómo deberían evaluarse los resultados obtenidos? Marque la opción válida y justifique su respuesta:

Diferencia entre replicados (Muestra 1) =

Evaluación de la actividad:

- a) No cumple criterio de aceptación
- b) Cumple criterio de aceptación
- c) La actividad no puede evaluarse

Justifique su respuesta:

PREGUNTA 7. En el laboratorio se dispone de un material de referencia (MR) con valor certificado para Proteínas = 22,4 g/100 g con una incertidumbre con ($k=2$) de $\pm 0,2$ g/100 g. Dicho MR se analizó en la misma tanda de análisis que las muestra problema, obteniéndose un resultado de Proteínas = 22,0 g/100g. Calcule la recuperación y evalúe el resultado de esta actividad de control de calidad interno, si el criterio de aceptación establece que debe quedar en el rango entre 98%-102%.

Recuperación, % =

Evaluación de la actividad:

- a) Cumple criterio de aceptación
- b) No cumple criterio de aceptación
- c) La recuperación no puede evaluarse

Justifique su respuesta:

1.2-Determinación de Histamina por CL-FLD

Breve descripción del ensayo: La determinación de Histamina en productos de la pesca se realiza mediante un procedimiento por CL-FLD, que requiere la extracción previa del analito con ácido perclórico 0,4M y derivatización post-columna con O-Ftaldehído (OPA) para obtener un derivado fluorescente. La histamina se separa de otras aminas biógenas por Cromatografía de Líquidos. La concentración del analito se determina interpolando el área del pico en la recta de calibración obtenida previamente con patrones de Histamina de distinta concentración, analizadas en las mismas condiciones que las muestras problema (técnica de patrón externo).

Para llevar a cabo el ensayo se necesita preparar las siguientes disoluciones de trabajo en el laboratorio partiendo de los reactivos que se indican en cada caso.

PREGUNTA 8: Calcule el peso necesario en mg del reactivo sólido Clorhidrato de Histamina de 99,9% de riqueza para preparar 500 ml de una disolución madre de Histamina de concentración 200 mg/L. El reactivo se disuelve en HCl 0,1 N.

Peso molecular de Clorhidrato de Histamina= 184,07 g/mol

Peso molecular de Histamina= 111,15 g/mol

Respuesta:

Justifique su respuesta:

PREGUNTA 9. Se preparan 5 disoluciones de trabajo de concentración conocida de Histamina de 1, 5, 10, 20 y 40 mg/L, a partir de la disolución madre de Histamina de 200 mg/L (DM). Para ello se vierte el volumen necesario de la DM en matraz aforado de capacidad adecuada (Volumen final) y se diluye con agua desionizada hasta el aforo. Calcule el volumen necesario de la disolución madre de histamina que debe tomarse en cada caso, para obtener las disoluciones patrón de calibración del ensayo en las concentraciones que se indican.

Concentración Patrones de la curva de calibración	Volumen final, mL	Volumen necesario (mL) DM de 200 mg/L
1 mg/L	100	
5 mg/L	100	
10 mg/L	50	
20 mg/L	50	
40 mg/L	50	

Justifique su respuesta

PREGUNTA 10. Se inyecta en el sistema cromatográfico un volumen fijo de cada una de las disoluciones patrón en idénticas condiciones, obteniéndose la siguiente función lineal: $Y = 1,93 * x - 0,48$

Siendo:

Y = área del pico de Histamina

X = concentración de Histamina en mg/L en la disolución inyectada.

Calcule la concentración de Histamina en la disolución de la muestra en mg/L, si el pico del analito tiene un área de 47,78.

Respuesta:

Razone su respuesta:

PREGUNTA 11. Calcular el contenido de histamina del ejemplo anterior referido a la muestra, en mg/kg, teniendo en cuenta que en la etapa de preparación de la muestra para su análisis cromatográfico se inyectó una disolución obtenida a partir de 2,5 g de muestra en 25 ml de ácido perclórico 0,4N.

Respuesta:

Razone su respuesta:

PREGUNTA 12. En la misma secuencia se analizó un Material de referencia con un contenido certificado de histamina de 205 mg/kg. En el cromatograma del MR, el área del pico de histamina fue de 41,98. Calcule la concentración de Histamina en mg/Kg en el material de referencia, teniendo en cuenta que la disolución inyectada se obtuvo a partir de la alícuota tomada para el ensayo (2,5 g) en 25 ml con ácido perclórico 0,4N.

Respuesta:

Razone su respuesta:

1.3-Recuento de *Listeria monocytogenes*.

Se recibe una muestra de filete de pescado fresco de, aproximadamente, 100g.
Para el Recuento de *L. monocytogenes* se sigue un método oficial de recuento en placa empleando placas preparadas de agar ALOA de 90mm.

PREGUNTA 13. Describa brevemente la técnica de siembra si se desea estimar recuentos bajos.

PREGUNTA 14. Teniendo en cuenta la composición del agar ALOA, describa cómo son las colonias características de *L. monocytogenes*. Justifique su respuesta

PREGUNTA 15. Se siembran dos diluciones de la muestra por duplicado. De cada una se siembra 1 ml.

Se han realizado pruebas de confirmación a 5 colonias características de cada réplica. Los resultados han sido los siguientes:

Dilución	réplica	nº total de colonias características	nº colonias confirmadas +
Dilución 10 ⁻¹	1	52	4 de 5
	2	58	5 de 5
Dilución 10 ⁻²	1	7	3 de 5
	2	5	4 de 5

A partir de estos datos refleje los cálculos necesarios y exprese el resultado del recuento de *L. monocytogenes*. Justifique los cálculos.

SUPUESTO 2

Se reciben muestras de agua de consumo solicitando las siguientes determinaciones:

- 2.1-Nitritos por Espectrofotometría UV-Vis
- 2.2-Sodio por Espectrofotometría de absorción atómica
- 2.3-Recuento de coliformes y Recuento de *Escherichia coli*

2.1 Nitritos por espectrofotometría UV-VIS

Breve descripción del ensayo: La determinación de Nitritos se basa en su capacidad para reaccionar con el ácido sulfanílico, en medio ácido clorhídrico y en presencia de ión amonio y fenol, formando un complejo de coloración amarilla cuya absorbancia a 425 nm es proporcional a la concentración de nitritos en la muestra.

PREGUNTA 1- Para la determinación de Nitritos se ha preparado una curva de calibrado con patrones de las siguientes concentraciones: 0,020 mg/l; 0,050 mg/l; 0,10 mg/l; 0,15 mg/l; 0,20 mg/l. Las respuestas que se han obtenido, en unidades de absorbancia a la longitud de onda del ensayo, son respectivamente: 0,0098297; 0,024438; 0,046923; 0,068765; y 0,093274.

El rango de medida se ha validado entre 0,020 mg/l y 2,00 mg/l.

Se ha analizado una muestra directamente, tomando 25 ml, cuya respuesta en unidades de absorbancia ha sido 0,26168. Indique qué operaciones deberían hacerse para obtener la concentración exacta de Nitritos en la muestra.

PREGUNTA 2- Para el control de calidad del ensayo se prepararon dos disoluciones patrón de concentración de 0,020 mg/l (Límite de cuantificación) y de 0,50 mg/l (Valor paramétrico), a partir de una disolución madre de 100 mg/L. Describa cómo preparar 50 ml de cada una, si dispone del material volumétrico apropiado y agua desionizada. Indique el material volumétrico necesario.

PREGUNTA 3- En la determinación de nitritos por espectrofotometría UV-VIS, se ha obtenido una concentración de 0,58 mg/L para el patrón de 0,50 mg/l, utilizado como control de calidad del ensayo. ¿Cómo debería interpretarse este resultado si el criterio de aceptación para la recuperación establece que debe quedar en el intervalo 90-110% en todo el rango de medida?.

%Recuperación Patrón 0,50 mg/L =

Evaluación de la actividad:

- a) Los resultados cumplen criterio de aceptación
- b) Los resultados no cumplen criterio de aceptación
- c) Los resultados no son evaluables

Justifique su respuesta:

PREGUNTA 4. En la medida espectrofotométrica, la lectura de los patrones de calibración a 425 nm permite realizar un ajuste lineal que corresponde a la ecuación: $A = 0,4589 * X + 0,00092$,
Siendo A = Absorbancia de la preparación a 425 nm y X = concentración de Nitritos en mg/L.

En las muestras 1 y 2 se realiza lectura directa sin dilución, así como en el Material de referencia de la serie analítica. En la muestra 3 se realiza una dilución 1:5 (v/v). Calcule la concentración de NO_2^- en mg/L en las muestras analizadas teniendo en cuenta los datos primarios de Absorbancia leídos a 425 nm:

Muestras	Absorbancia 425 nm	NO_2 mg/L preparación	NO_2 mg/L muestra
Muestra 1	0,025		
Muestra 2	0,028		
Muestra 3 (1:5)	0,045		
MR	0,091		

PREGUNTA 5. En la tanda de análisis para determinación de nitritos una de las muestras presenta coloración por abundantes partículas en suspensión. ¿Qué etapas seguiría para poder determinar la concentración de nitritos por espectrofotometría UV-VIS?. Describa brevemente.

PREGUNTA 6. Describa brevemente cómo puede asegurarse en un espectrofotómetro UV-Vis la exactitud de las longitudes de onda de trabajo en toda la escala de medida instrumental.

2.2- Determinación de Sodio por Espectrofotometría de Absorción atómica

Breve descripción del ensayo: Las muestras se acidifican y se añade un modificador de matriz (CsCl al 0,1%). La disolución ácida se aspira sobre una llama sobre la que incide la luz emitida desde una lámpara de cátodo hueco de Na. La cantidad de energía absorbida en la llama por los átomos de sodio a la longitud de onda característica del sodio 589,6 nm, es proporcional a la concentración de sodio en la muestra.

Se preparan disoluciones patrón de 0, 0.5, 2.0, 5.0 y 10 mg/L analizadas en las mismas condiciones que las muestras cuyas absorbancias corresponden a la función lineal:

$$A = 0,0345 * X + 0,003$$

Siendo: A la absorbancia a la longitud de onda característica del Na
X = concentración de Na en mg/L

PREGUNTA 7. Calcule la concentración de Na en mg/L en las muestras analizadas teniendo en cuenta los datos primarios de Absorbancia:

Muestras	Absorbancia 589,6 nm	Na mg/L preparación	Na mg/L muestra
Muestra 1.1	0,0691		
Muestra 1.2	0,0715		
MR (1:5)	0,0157		

PREGUNTA 8. Evalúe la repetibilidad del ensayo con los resultados obtenidos para la muestra 1, si el criterio de aceptación es que el recorrido relativo sea inferior o igual al 5%. Justifique su respuesta.

2.3 Recuento de coliformes y recuento de *Escherichia coli* en aguas de consumo

Se emplea un método de filtración por membrana empleando agar CCA (Chromogenic coliform agar).

PREGUNTA 9. Para el recuento de *E.coli* - coliformes se filtra un volumen de 100 ml de la muestra sin diluir.

Tras la incubación se obtienen los siguientes resultados:

- 30 colonias rosas y 20 colonias azules/moradas

Se realiza el test de la oxidasa a 10 colonias rosas, siendo el resultado negativo en todas ellas. Se realiza el test del indol a 10 colonias azules/moradas siendo el resultado positivo en todas.

Refleje el cálculo y la expresión del resultado del Recuento de coliformes y *E.coli*. Justifique los cálculos.

PREGUNTA 10. En el control de calidad interno se realizó control de recuperación y control de precisión en condiciones de reproducibilidad.

Para ello se doparon muestras de 250 ml de agua con 1 ml de una suspensión de *Escherichia coli* y 1 ml de una suspensión de *Klebsiella pneumoniae*.

Para conocer el inóculo añadido se realizaron 3 réplicas de 1 ml de cada suspensión. Los resultados de las réplicas fueron:

-Suspensión *E.coli*: 35, 39, 41 ufc/ml

-Suspensión *K. pneumoniae*: 33,28, 26 ufc/ml

Calcule los valores de referencia (ufc/100 ml) para *E. coli* y para coliformes

PREGUNTA 11. Si los resultados del control de calidad interno fueron:
Resultado técnico A: 26 ufc /100 ml para coliformes y 13 ufc para *E coli*
Resultado técnico B: 22 ufc/100 ml para coliformes y 12 ufc para *E.coli*

Calcular recuperación de cada técnico y precisión (reproducibilidad) para ambos parámetros

PREGUNTA 12. En el control de calidad del medio CCA se obtuvieron los siguientes resultados, empleándose TSA como agar de referencia y *E. coli* como microorganismo diana:

-Nº de colonias del microorganismo diana en agar CCA: 53 ufc

-Nº de colonias del microorganismo diana en agar TSA: 50 ufc

¿cómo evaluaría la productividad del medio? Justifique su respuesta

PREGUNTA 13. En el control de selectividad del medio CCA empleando *Enterococcus faecalis* como microorganismo no diana se obtuvo el siguiente resultado:

Inóculo de 10^4 ufc de *Enterococcus faecalis* : crecimiento abundante de colonias de color crema. Evalúe el resultado.

PREGUNTA 14. En la calibración de la nevera del laboratorio se obtuvieron los siguientes resultados en la hoja de cálculo:

Temperatura de consigna (°C): 3,0

Temperatura del display (°C): 3,0

Promedio general (°C) de las temperaturas medidas por todas las sondas: 2,5

Tolerancia establecida (°C): 2,0

Incertidumbre combinada, $u = 0,12331$

Evalúe su conformidad

PREGUNTA 15. En la calibración de una pipeta aforada se obtienen los siguientes resultados en la hoja de cálculo:

Calibración en 1 punto.

Volumen nominal: 1 ml

Clase A

Temperatura 20°C

Volumen medio de 10 mediciones a la temperatura de referencia: 0,998 ml

Teniendo en cuenta que el error sistemático tolerado para este tipo de pipetas es de 0,008 ml, evaluar el error sistemático obtenido.