

SUPUESTO PRACTICO I (3,5 PUNTOS)

a) Supóngase una disolución cuyo soluto es H_2SO_4 y el disolvente agua. Con los valores indicados en la siguiente tabla rellénense, para cada caso, los campos que se encuentran vacíos. (2 PUNTOS)

- Riqueza H_2SO_4 : 100%
- Densidad H_2SO_4 : $1,84 \text{ g/cm}^3$
- Masa molecular H_2SO_4 : 98 g/mol
- Densidad agua: $1,00 \text{ g/cm}^3$
- Masa molecular agua: 18 g/mol

	MASA SOLUTO g	MASA DISOLVENTE g	MASA SOLUTO Y DISOLVENTE g	VOLUMEN SOLUTO mL	VOLUMEN DISOLVENTE mL	VOLUMEN SOLUTO Y DISOLVENTE mL	% MASA	% VOLUMEN	g/L	MOLES SOLUTO	MOLES DISOLVENTE	MOLARIDAD	NORMALIDAD
CASO 1	22	990											
CASO 2			812		750								
CASO 3										2	35		
CASO 4										0,05		0,05	

- b) Calcular que volumen de una disolución de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 0,1N, es necesario para neutralizar una alícuota de 20 mL de una disolución de H_2SO_4 0,05M (caso 4 del cuadro anterior).
Masa molecular de $\text{Ba}(\text{OH})_2 = 171,4 \text{ g/mol}$
(0,5 PUNTOS)

- c) Al realizar la neutralización anterior se produce un precipitado de BaSO_4 . Si consideramos que la precipitación se produce de forma cuantitativa, se filtra, lava y calcina el precipitado a BaSO_4 puro. Calcular que peso de BaSO_4 obtendríamos en la neutralización de la alícuota anterior.
Masa molecular de $\text{BaSO}_4 = 233,4 \text{ g/mol}$
(0,5 PUNTOS)

- d) A 500 mL de la disolución de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 0,1 N se le añade una cantidad desconocida de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ sólido puro sin que se produzca variación de volumen. Se toman 20 mL de la disolución resultante y se diluyen a 100 mL con agua y se valora hasta neutralidad con H_2SO_4 0,05 M gastándose 50 mL. Calcular qué cantidad de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ se ha añadido a la disolución inicial
(0,5 PUNTOS)

SUPUESTO PRACTICO II (4 PUNTOS)

La glucoproteína E (gE) no se encuentra en las cepas vacunales del virus de la enfermedad de Aujeszky utilizadas en España. Por lo tanto, la detección de anticuerpos específicos frente a gE en muestras de sueros de cerdos, permite la diferenciación entre animales vacunados, sanos e infectados por este virus.

Se pretende realizar una técnica **ELISA INDIRECTO** que detecta Ac totales frente a ADV (enfermedad de Aujeszky). Los pocillos están tapizados con antígeno inactivado de ADV completo.

Muestras: Se usa una dilución del suero problema a 1:200 en solución diluyente de muestras.

a) Elegir, de las opciones mostradas a continuación (marcando con una X), cuales son las **precauciones y pautas de seguridad** necesarias para llevar a cabo la técnica mencionada, dejando en blanco aquellos apartados que se consideren innecesarios. **(1 PUNTO)**

- Leer atentamente y seguir las instrucciones del manual
- Conservar los reactivos en refrigeración (4°C). Equilibrarlos a temperatura ambiente (atemperarlos) antes de su uso
- Centrifugar las microplacas antes de comenzar la técnica
- Manejar los reactivos con cuidado como si fueran potencialmente infecciosos
- Llevar gafas protectoras de luz UV
- Evitar la contaminación de los reactivos y no usarlos fuera de la fecha de caducidad
- Guardar las normas de trabajo habituales en un laboratorio, tales como no pipetear con la boca, rotular el material, etc.
- Utilizar una punta de pipeta por muestra
- Esterilizar en autoclave las microplacas suministradas en el Kit antes de utilizarlas
- Incluir sistemáticamente los controles positivo y negativo en cada estudio

b) Elegir, de las opciones mostradas a continuación (marcando con una X), cuales son **materiales** necesarios para llevar a cabo la técnica mencionada, dejando en blanco aquellos apartados que se consideren innecesarios **(1 PUNTO)**

- Placas de 96 pocillos
- Pipeta multicanal
- Micropipetas
- Microscopio de transmisión
- Puntas de micropipeta desechables
- Transiluminador
- Lavador automático o botella de lavado
- Guantes
- Termociclador
- Incubador
- Espectrofotómetro (lector de ELISA)
- Equipo HPLC

c) **Procedimiento:** elegir las etapas adecuadas y ordenarlas de forma correcta para llevar a cabo el ELISA INDIRECTO

(Numerar en el orden en que se considere necesario realizar cada paso dejando en blanco aquellos que no se consideren necesarios para realizar la técnica) **(2 PUNTOS)**

- Esterilizar en autoclave las placas suministradas en el kit antes de comenzar el ensayo
- Distribución de 50 μ L de controles por duplicado y 50 μ L de las muestras diluidas 1:200 a los pocillos de la placa (por duplicado). Usar una punta de micropipeta por muestra
- Añadir enzima TaqDNApolimerasa para catalizar la reacción
- Lavado (lavador de placas o multicanal): Realizar un total de 3 lavados
- Estabilizar los reactivos a 18-25°C antes de empezar la prueba
- Lectura inmediata en un lector de ELISA con un filtro de 405 nm
- Frenado de la reacción. Dispensar 50 μ L de solución de frenado. Agitar suavemente la microplaca
- Distribución del conjugado. Dispensar 50 μ L de conjugado anti-Ig de cerdo. Incubar 40 minutos a 37°C
- Introducir en el termociclador y programar los ciclos de amplificación
- Realizar 3 lavados como en el caso anterior
- Dispensar 50 μ L de solución del sustrato. Incubar a temperatura ambiente (18-25°C) y en oscuridad durante 15 minutos
- Incubación de las muestras
- Exponer a luz ultravioleta durante 30 minutos
- Interpretación de los resultados

SUPUESTO PRÁCTICO III (4 PUNTOS)

El género *Salmonella* se considera un patógeno para la salud por lo que la legislación requiere investigar su presencia/ausencia en alimentos para consumo humano y alimentación animal.

Se pretende investigar la presencia/ausencia del género *Salmonella* en 25 gramos de moluscos vivos depurados. Para ello se utilizará como marco normativo la Norma Internacional ISO 6579. (No se exige conocer la Norma de forma detallada, se valoran los conocimientos generales sobre los requerimientos de cultivo microbiológico del género)

a) Elegir, de las opciones mostradas a continuación (marcando con una X), cuales son **precauciones y pautas de seguridad** necesarias para llevar a cabo el procedimiento mencionado, dejando en blanco aquellos apartados que se consideren innecesarios: **(1 PUNTO)**

- Deben adoptarse precauciones normalizadas y emplearse protecciones de barrera (guantes, batas)
- Al entrar y al salir del laboratorio es imprescindible un cambio completo de ropa y calzado
- Las prácticas y los procedimientos básicos de contención del nivel de bioseguridad 2 deben ser el requisito mínimo para la manipulación de muestras
- Estará estrictamente prohibido pipetear con la boca
- No se colocará ningún material en la boca ni se pasará la lengua por las etiquetas
- Se requieren sistemas exclusivos de suministro y evacuación del aire de la sala

- b) Elegir, de las opciones mostradas a continuación (marcando con una X), cuales son **equipos y materiales**, y **medios y reactivos** necesarios para llevar a cabo el procedimiento mencionado, dejando en blanco aquellos apartados que se consideren innecesarios: **(1 PUNTO)**

Equipos y materiales

- Estufas de cultivo con temperatura regulable
- Ultracentrifuga
- Agitador de tubos o Vortex
- Autoclave
- Stomacher o homogenizador de palas
- Horno mufla
- Termociclador
- Cabina de Bioseguridad Clase II
- Instrumentos estériles para obtener la muestra a pesar: bisturí, tijeras y pinzas
- Guantes desechables estériles
- Placas Petri plásticas desechables estériles. Tamaño pequeño (90 a 100 mm de diámetro) o tamaño grande (140 mm de diámetro)
- Bolsas plásticas estériles para Stomacher
- Asas de aro y asa en punta (o desechables)
- Placas de vidrio para aglutinación

Medios y Reactivos

- Agua Peptonada Tamponada
- Caldos de enriquecimiento
- Bacteriófago λ
- Medios selectivos en placa
- Agar nutritivo
- Bromuro de etidio
- Antisueros
- API 20 E u otro equivalente y reactivos correspondientes
- TaqDNA polimerasa

c) **Procedimiento:** elegir las etapas adecuadas y ordenarlas de forma correcta para llevar a cabo la técnica.

(Numerar en el orden en que se considere necesario realizar cada paso dejando en blanco aquellos que no se consideren necesarios para realizar la técnica) **(2 PUNTOS)**

- Porción para análisis y suspensión inicial de dilución 1/10
- Siembra de la dilución inicial en tres series de cinco tubos
- Preenriquecimiento en medio tamponado e incubación
- Enriquecimiento selectivo
- Enriquecimiento no selectivo
- Siembra en placa en superficie
- Siembra en placa en profundidad
- Selección de colonias para confirmación
- Siembra en agar nutritivo de colonias seleccionadas e incubación
- Confirmación bioquímica
- Confirmación colorimétrica
- Confirmación serológica

SUPUESTO PRÁCTICO IV (3 PUNTOS)

Se quiere determinar el contenido en calcio de una muestra de pienso para animales mediante absorción atómica con llama. Para ello, la muestra se somete a un ataque con una mezcla de ácido nítrico 1N, ácido sulfúrico 2N y ácido perclórico 1N en proporción 1:1:1 y se lleva a sequedad. El residuo obtenido se disuelve en ácido nítrico 1N hasta un volumen de 50 mL.

a) Se realiza un calibrado para lo que se prepara en matraces de 50 mL, disoluciones en ácido nítrico 0,2N y concentración de 1, 2, 3 y 4 ppm de calcio además del blanco correspondiente. Para ello se dispone de ácido nítrico 1N y una disolución patrón de calcio de 25 ppm.

Se realizan las medidas de absorción atómica en cada matraz y se obtiene una recta de calibrado con la siguiente ecuación:

$$A = 0,07206 (\text{concentración de calcio}) + 0,00220$$

Calcular que volúmenes de ácido nítrico 1N y de disolución patrón se debe tomar para cada matraz de calibrado incluido el blanco. **(1 PUNTO)**

b) Posteriormente se realiza un calibrado utilizando el método de las adiciones estándar. Para ello 0,1028 g de muestra se trata con la mezcla de ácidos de ataque, se lleva a sequedad y el residuo se disuelve en ácido nítrico 1N hasta un volumen de 50 mL.

De esta disolución se toman 4 alícuotas de 0,5 mL que se colocan en diferentes matraces de 10 mL a los que se añaden cantidades crecientes de una disolución patrón de calcio de 25 ppm y se enrasa en agua destilada.

Se procede a la medida de absorción atómica en cada matraz y se obtiene una recta de calibrado que responde a la siguiente ecuación:

$$A = 0,05897 (\text{concentración de calcio}) + 0,05083$$

Calcular el porcentaje de calcio presente en la muestra de pienso. **(1,5 PUNTOS)**

c) A la vista de los resultados experimentales obtenidos, indíquese de manera breve y razonada si existen efectos de matriz. **(0,5 PUNTOS)**

SUPUESTO PRÁCTICO V (2 PUNTOS)

Indicar el orden de las etapas para la determinación de la acidez total de un vinagre, dejando en blanco las que no tengan lugar:

- Aparición de color amarillo pálido que permanece, al menos, 15-30 segundos
- Se realizan los cálculos oportunos y se aplica la fórmula de la acidez total o grado acético
- Se llena una bureta de 50 mL con disolución de HCl 0,5 N
- Con pipeta aforada, se vierten 10 mL del vinagre en un Erlenmeyer de 250 mL
- Se añaden 6 gotas de naranja de metilo a la disolución de vinagre
- Se diluye la muestra con 100 mL de agua destilada exenta de CO₂
- Se adiciona la disolución de NaOH gota a gota y agitando de manera continua
- Se añaden 6 gotas de fenolftaleína a la disolución de vinagre
- Con probeta, se vierten 10 mL del vinagre en un vaso de precipitados de 250 mL
- Se llena una bureta de 50 mL con disolución de NaOH 0,5 N
- Se adiciona la disolución de HCl gota a gota y agitando de manera continua
- Aparición de color rosado que permanece, al menos, 15-30 segundos

SUPUESTO PRÁCTICO VI (1 PUNTO)

a) Ordenar los pasos necesarios para la calibración de una pipeta aforada de 10 mL: **(0,25 PUNTOS)**

- Llenar la pipeta hasta el aforo con agua destilada
- Cálculo del volumen
- Pesar y anotar
- Depositar en el recipiente el volumen de agua pipeteado
- Pesada en balanza analítica del recipiente sobre el que se depositará el agua

b) Repetido el proceso tres veces, se obtienen los siguientes datos:

RÉPLICA	m_1 (g)	m_2 (g)
1	42,1677	52,1682
2	42,4412	52,4408
3	42,3572	52,3558

Calcular el volumen en mL para cada una de las tres réplicas, sabiendo que la temperatura de trabajo fue de 21 °C. Utilizar los datos de la tabla de Temperatura vs Densidad siguiente: **(0,5 PUNTOS)**

Temperatura °C	Densidad kg / m ³	Temperatura °C	Densidad kg / m ³	Temperatura °C	Densidad kg / m ³
0 (hielo)	917,00	33	994,76	67	979,34
0	999,82	34	994,43	68	978,78
1	999,89	35	994,08	69	978,21
2	999,94	36	993,73	70	977,63
3	999,98	37	993,37	71	977,05
4	1000,00	38	993,00	72	976,47
5	1000,00	39	992,63	73	975,88
6	999,99	40	992,25	74	975,28
7	999,96	41	991,86	75	974,68
8	999,91	42	991,46	76	974,08
9	999,85	43	991,05	77	973,46
10	999,77	44	990,64	78	972,85
11	999,68	45	990,22	79	972,23
12	999,58	46	989,80	80	971,60
13	999,46	47	989,36	81	970,97
14	999,33	48	988,92	82	970,33
15	999,19	49	988,47	83	969,69
16	999,03	50	988,02	84	969,04
17	998,86	51	987,56	85	968,39
18	998,68	52	987,09	86	967,73
19	998,49	53	986,62	87	967,07
20	998,29	54	986,14	88	966,41
21	998,08	55	985,65	89	965,74
22	997,86	56	985,16	90	965,06
23	997,62	57	984,66	91	964,38
24	997,38	58	984,16	92	963,70
25	997,13	59	983,64	93	963,01
26	996,86	60	983,13	94	962,31
27	996,59	61	982,60	95	961,62
28	996,31	62	982,07	96	960,91
29	996,02	63	981,54	97	960,20
30	995,71	64	981,00	98	959,49
31	995,41	65	980,45	99	958,78
32	995,09	66	979,90	100	958,05

c) Si la tolerancia de la pipeta de 10 mL es de ± 0.01 mL, explicar si puede ser utilizada.
(0,25 PUNTOS)

SUPUESTO PRÁCTICO VII (0,5 PUNTOS)

Para la determinación de Cu en alimentos se han utilizado dos métodos diferentes y se analiza un material de referencia certificado, con un valor asignado para el Cu de $38,56 \pm 0,11 \mu\text{g/L}$.

Con el método 1 se ha obtenido un valor de $38,48 \pm 0,71 \mu\text{g/L}$.

Con el método 2 se ha obtenido un valor de $36,87 \pm 0,04 \mu\text{g/L}$.

Indicar qué método sería más exacto y cuál sería más preciso, razonando la respuesta.

SUPUESTO PRÁCTICO VIII (2 PUNTOS)

Identificar lo que representa cada una de las imágenes siguientes, (escribir al lado derecho de cada imagen)
































































