



Propuesta de enseñanza: validación de métodos analíticos cualitativos

López Santiago Norma Ruth*, Gavilán García Irma C. y Flores Avila Carolina

Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química. Av. Universidad 3000, Coyoacán, Ciudad de México, C.P. 04510. México.

*Autor para correspondencia: nruthls@yahoo.com

Recibido:

20/julio/2019

Aceptado:

04/noviembre/2019

Palabras clave:

Validación de métodos analíticos, métodos cualitativos

Keywords:

Validation of analytical methods, qualitative methods

RESUMEN

En este trabajo se presentan los resultados de una propuesta de la enseñanza de validación de métodos analíticos cualitativos, probada con éxito durante 3 semestres en la materia Analítica experimental III que se imparte en la FQ-UNAM. Los estudiantes al término de curso cuentan con un aprendizaje significativo sobre la validación de métodos analíticos cualitativos, son capaces de generar documentos y registros científicos y técnicos, documentar estrictamente los registros experimentales y de cálculos (en bitácora dura y/o electrónica) y, sobre todo, de integrar y aplicar sus conocimientos cuando están a un paso de terminar la carrera.

ABSTRACT

This work presents the results of a proposal for the teaching of validation of qualitative analytical methods, successfully tested for 3 semesters in the subject Experimental Analytical III taught in the FQ-UNAM. Students at the end of the course have significant learning on the validation of qualitative analytical methods are able to generate scientific and technical documents and records, strictly document experimental and calculations (in hard and/or electronic logs), and above all of the integrate and apply of their knowledge when they are one step away from obtaining the degree.

Introducción

En los laboratorios de rutina es habitual contar con una primera etapa de análisis cualitativo para determinar si uno o más analitos están presentes/ausentes en una muestra y, de ser así, avanzar a la segunda etapa de cuantificación. La información que se puede obtener con los resultados de análisis cualitativo va desde autenticar una sustancia/ producto o verificar si está presente por encima o por debajo de un nivel de concentración (valor de corte), proporcionan una respuesta binaria (positiva/negativo) que podría ser suficiente para la toma de decisiones (López et al., 2015) y, bajo esta mirada, los resultados proporcionados por un método cualitativo son de suma importancia. Adicionalmente, se puede decir que tiene la versatilidad de poder aplicarse en el laboratorio, en campo, o en situaciones que requieren que se tomen decisiones inmediatas, por lo que cada vez es más frecuente su aplicación en diferentes áreas, como la forense, medicina clínica, criminalística, ambiental, alimentaria, polímeros y recubrimientos, biológicas y químicas, ya que son una alternativa atractiva al análisis cuantitativo y requieren de una menor inversión en dinero y/o tiempo (Trullols et al., 2004; López et al., 2015).

Sumado a eso, en la actualidad los laboratorios deben asegurarse de la calidad de los resultados que emiten, por lo que es fundamental su validación para garantizar la fiabilidad, trazabilidad o comparabilidad de los mismos (López et al., 2015), sin embargo, la validación de métodos analíticos se ha enfocado principalmente a métodos cuantitativos (Trullols et al., 2004; López et al., 2015).

Varios autores y organizaciones (como la Eurachem, IUPAC, AOAC) han elaborado propuestas o directrices sobre diversos aspectos de la validación de métodos cualitativos utilizando la información disponible en la literatura, sin embargo, todavía no hay consenso sobre el protocolo y la terminología que debe usarse para este tipo de métodos (Trullols et al., 2004, Ellison y Fearn, 2005, López et al., 2015).

Atendiendo a esta necesidad creciente de los laboratorios y al compromiso universitario de formar profesionistas preparados, que sean capaces de evaluar, optimizar y normalizar los métodos de análisis utilizados en los sectores productivos, educativos y de servicio del área química y de generar resultados confiables, en este trabajo se presenta una propuesta de la enseñanza de validación de métodos analíticos cualitativos dentro del marco de la materia Analítica Experimental III, que se imparte en la FQ-UNAM y que tiene como objetivos introducir al alumnos en el desarrollo y validación de métodos analíticos, incluyendo el manejo del vocabulario propio del tema, y la integración de las herramientas

analíticas para resolución de problemas particulares, desde el momento del muestreo hasta la interpretación de resultados(FQ-UNAM, 2019).

Metodología

La estrategia seguida para la elaboración de la propuesta de enseñanza fue:

- Revisión en la literatura de los aspectos fundamentales y terminología para la validación de un método analítico cuantitativo.
- Selección de métodos cualitativos aplicados en distintas áreas.
- Generación de la propuesta de enseñanza
- Enseñanza frente a grupo.

La propuesta de enseñanza se ha probado, de forma interactiva, con estudiantes de octavo semestre de la carrera de Química en la materia Analítica Experimental III de la FQ-UNAM, en los semestres 2018-2, 2019-1 y 2019-2

Resultados y discusión

Aspectos fundamentales y terminología para la validación de un método analítico cualitativo

La validación de un método analítico es el proceso para definir un requisito analítico, y la confirmación de que cuenta con capacidades consistentes con las aplicaciones requeridas mediante la evaluación del desempeño de un método (Morrillas, 2016).

La validación de un método cualitativo debe seguir el mismo rigor que la de un método cuantitativo. En la tabla 1 se resumen los principales parámetros de desempeño y las estrategias utilizadas para su establecimiento (Trullols et al, 2004; López et al, 2015; Morillas, 2016). En cada prueba cualitativa se debe definir la respuesta o cualidad buscada para asociarla con un resultado "positivo" de la prueba, así mismo, la ausencia de esta cualidad se asocia con un resultado "negativo"; la relación entre estas respuestas permitirá calcular los parámetros de desempeño de cada método.

Selección de métodos cualitativos aplicados en distintas áreas

Para la elección y generación de los protocolos experimentales, se seleccionaron métodos de las áreas de alimentos, polímeros, textiles y forenses, que fueran plausibles de adaptar a un laboratorio de enseñanza, para lo cual se tomaron en cuenta las siguientes directrices: a) tiempos de realización e infraestructura disponible en el laboratorio y b) habilidades y conocimientos previos requeridos. Finalmente se seleccionaron las pruebas mostradas en tabla 2.

Tabla 1. Parámetros de validación de métodos cualitativos.

Parámetro	Ecuaciones de cálculo
Precisión	$IFP = \frac{\text{Índice de falsos positivos (IFP)}}{\text{Falsos positivos (100)}} = \frac{\text{Total positivos conocidos}}{\text{Total positivos conocidos}}$
	$IFN = \frac{\text{Índice de falsos negativos (IFN)}}{\text{Falsos negativos (100)}} = \frac{\text{Total negativos conocidos}}{\text{Total negativos conocidos}}$
Sensibilidad diagnóstica (SD)	$SD = \frac{\text{Num. muestras verdaderas positivas}}{\text{Num. muestras total con la condición}}$
Especificidad Diagnóstica (ED)	$ED = \frac{\text{Num. muestras verdaderas negativas}}{\text{Num. muestras total sin la condición}}$
Límite de corte (límite de detección de la prueba)	Probabilidad de respuestas positivas, P(x) y probabilidad de respuestas positivas más no concluyentes versus los niveles de concentración probados

Tabla 2. Metodología para el desarrollo de los protocolos.

Prueba	Área de aplicación
Identificación sustancias ¹ controladas	Forense y criminalística, educación
Identificación cualitativa de fibras textiles ¹	Textil, forense, educación
Identificación cualitativa de polímeros ¹	Polímeros y recubrimientos, ambiental (reciclado), forense, educación
Identificación de metanol en bebidas alcohólicas ²	Alimentaria y educación

¹Los protocolos completos con un enfoque para el área forense y criminalística se pueden consultar en (Fragoso Lugo, 2019), 2 (Secretaría de Economía, 2017) y tesis en proceso.

Propuesta de enseñanza y aplicación frente a grupo

Al inicio del semestre se plantean a los estudiantes los escenarios de laboratorios que tienen como objetivo validar un método analítico cualitativo y por equipo de trabajo, seleccionan uno de los métodos mostrados en la tabla 2. Para el desarrollo del proyecto se cuenta con el semestre completo, durante el mismo, deben generarla documentación del proceso completo de la validación.

Las actividades en clase incluyen sesiones donde se revisa con los estudiantes los aspectos teóricos fundamentales la validación de métodos analíticos cualitativos y cuantitativos y se lleva a cabo un taller de manejo de datos experimentales generados en una validación.

Como se trata de un proyecto que ellos deben desarrollar y validar para resolver un problema analítico plausible, no se les proporcionan los protocolos como tal, solo se les da a conocer los documentos normativos, o bien, la

literatura pertinente aplicable a su proyecto que en este caso particular se enfoca a métodos cualitativos.

La estrategia completa se compone de 5 actividades que incluyen las etapas esenciales para la completa comprensión de la validación de un método analítico cualitativo y su documentación, de acuerdo con la normatividad o necesidades que se desean satisfacer. A continuación, se describen dichas actividades.

Protocolos normalizados de trabajo (PNT).

Un punto esencial para la poder llevar a cabo la validación de un método analítico es contar con un protocolo de trabajo establecido con claridad y que cumpla con los puntos requeridos.

Para esta actividad se creó la platilla AEIII-PTA-PNT "Protocolo normalizado de trabajo", donde los estudiantes moldean el protocolo normalizado del método que van a validar, figura 1.

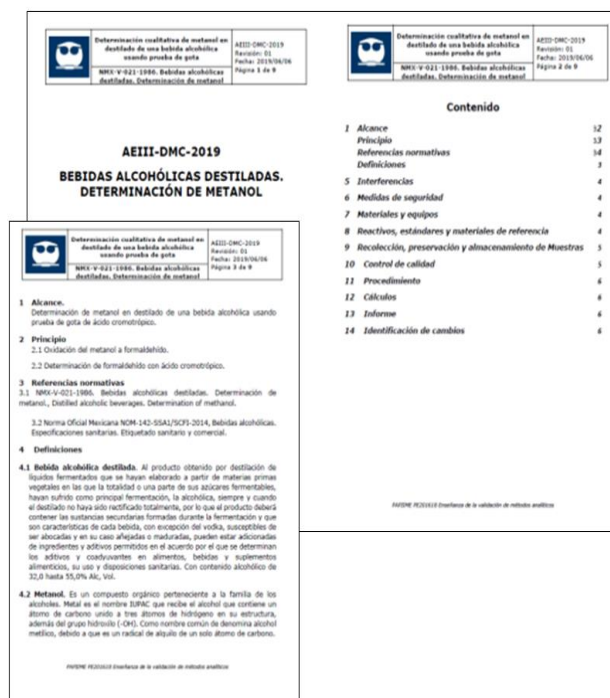


Figura 1. Ejemplo de PNT, primeras hojas, semestre 2019-2

Plan de validación (PV)

Otro punto esencial es contar con un plan de validación, para apoyar la adquisición de conocimiento en cuanto a los parámetros que deben obtener, para lo cual se creó la plantilla AEIII-PTA-PV "Plan de validación" donde los estudiantes colocan de forma sucinta los parámetros a obtener, la experimentación, los cálculos estadísticos a efectuar y los criterios de aceptación, figura 2.



Plan de validación
NMX-V-021-1986. Bebidas alcohólicas destiladas.
Determinación de metanol.
AEIII-PV
Revisión: 01
Fecha: 2019/06/06
Página 2 de 1

Parámetro	Experimentación realizada	Ecuaciones de cálculo	Cualidad observable
Concentración de corte	Se prepararon disoluciones de metanol de distintas concentraciones a partir de un reactivo de grado analítico. Se realizó la prueba 10 veces.	Se trazó gráfico % positivos vs. log [MeOH] con los resultados de diferentes disoluciones estándar.	
Tasa de falsos Positivos	Se midieron muestras de blanco con una concentración menor a la concentración de corte. Se realizó la prueba 30 veces.	$T.F.P. = \frac{\# \text{ de muestras positivas por debajo de la C.C.}}{\# \text{ total de muestras por debajo de C.C.}}$	
Tasa de falso negativos	Se midieron muestras de blanco con una concentración mayor a la concentración de corte. Se realizó la prueba 30 veces.	$T.F.N. = \frac{\# \text{ de muestras negativas por encima de la C.C.}}{\# \text{ total de muestras por encima de C.C.}}$	Pruebas positivas presencia de coloración violeta
Sensibilidad diagnóstica	Se consideró el número total de verdaderos positivos, a partir de la tasa de falsos negativos.	$S.D. = \frac{\# \text{ de verdaderos positivos}}{\# \text{ total de muestras con condición}}$	
Especificidad diagnóstica	Se consideró el número total de verdaderos negativos, a partir de la tasa de falsos positivos.	$E.D. = \frac{\# \text{ de verdaderos negativos}}{\# \text{ total de muestras sin condición}}$	

Figura 2. Ejemplo de un plan de validación.

Manejo de resultados experimentales

Se solicita que los estudiantes elaboren su hoja de cálculo y la validen (tal como lo solicitan los criterios de las entidades acreditadoras en México), con la que manejarán sus resultados, figura 3.

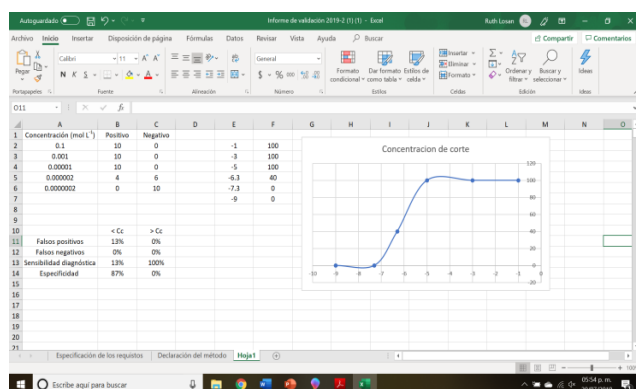


Figura 3. Ejemplo de HC 2018-2

Informe de validación (IV)

Al final de semestre los estudiantes han completado su proyecto y el resultado es un método validado. Los resultados de la validación se plasman en el formato AEIII-FTO-IVV "Informe de validación", el cual incluye apartados que permiten dejar claro el alcance, los parámetros evaluados y la conclusión, esto de acuerdo con la normatividad o necesidades, previamente fijadas, que se desean satisfacer, figura 4a.

Informe de aplicación a muestras (IP)

Una vez que los estudiantes han concluido, la docente les entrega muestras para que lleven a cabo el análisis de las mismas y generen un informe técnico de resultados, de acuerdo al formato AEIII-FTO-IP "Informe de prueba".

Cabe mencionar que estas actividades están enfocadas para cubrir ampliamente las necesidades de un laboratorio que cuente con certificación (como ISO 9000) o acreditación (ISO 17025).

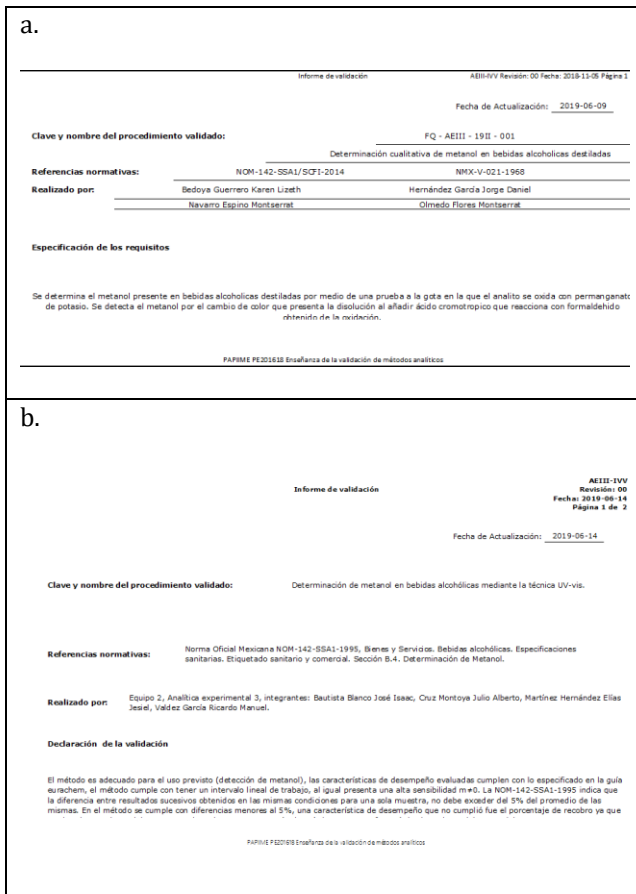


Figura 4. Ejemplo de del informe de validación.

a) Requisitos y b) Declaración de la Validación

Entre los puntos que consistentemente les cuestan más trabajo a los estudiantes se pueden mencionar la elaboración de la hoja de cálculo, la aplicación e interpretación de los estadísticos en el manejo de los datos enfocado a química analítica, integrar los conocimientos adquiridos en otras áreas de la química y de las materias previamente cursadas, así como apegarse a generar documentos que exigen una estructura determinada.

La propuesta de enseñanza presentada se ha probado con éxito durante los semestres 2018-2, 2019-1 y 2019-2, es posible hacer esta afirmación dada la

retroalimentación recibida por parte de los estudiantes en cuanto al aprendizaje adquirido o reafirmado, la lectura de documentos científicos, la documentación estricta de los registros (en bitácora dura y/o electrónica) y a la integración y aplicación de conocimientos cuando están a un paso de terminar la carrera. Así mismo, queda pendiente en ellos una pequeña llama del empleo y versatilidad de la química analítica cualitativa.

Conclusiones

La propuesta de enseñanza presentada se ha probado con éxito durante los semestres 2018-2, 2019-1 y 2019-2 ya que los estudiantes al término de los cursos cuentan con un aprendizaje significativo sobre la validación de métodos analíticos cualitativos, son capaces de generar documentos y registros científicos y técnicos, de documentar estrictamente los datos experimentales y cálculos (en bitácora dura y/o electrónica) y, sobre todo, de integrar y aplicar sus conocimientos cuando están a un paso de terminar la carrera.

Agradecimientos

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) de la UNAM por el financiamiento otorgado a través de los proyectos PAPIME PE201618 Enseñanza de la validación de métodos analíticos y PE204718 Estrategia de enseñanza de la química forense experimental.

A los estudiantes del grupo 06 de los AE III de los semestres los 2018-2, 2019-1 y 2019-2, a Jannette A. Lugo Fragoso y Luis E. Alcántara Manjarrez.

Referencias

Ellison S., Fearn, T. (2005). Characterising the performance of qualitative analytical methods: Statistics and terminology. *Trends in Analytical Chemistry*, 24(6), 468-476.

Fragoso Lugo J.A. (2019). *Propuesta de protocolos experimentales para la enseñanza de Química Forense a Químicos*. Ciudad de México: FQ-UNAM.

López M., Callao M., Ruisánchez I. (2015). A tutorial on the validation of qualitative methods: From the univariate to the multivariate approach. *Analytica Chimica Acta*, 891, 62-75.

Morrillas P.P. (2016). *La Adecuación al Uso de los Métodos Analíticos. Una Guía de Laboratorio para Validación de Métodos y Temas Relacionados*. Recuperado jun 8 de 2018, https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_ES.pdf

Secretaría de Economía (2017). Norma Oficial Mexicana NOM-199-SCFI-2017, Bebidas alcohólicas-Denominación, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba. *Diario Oficial de la Federación*.

Trullols E., Ruisánchez I., Riu F. (2004). Validation of qualitative analytical methods. *Trends in Analytical Chemistry*, 23(2), 137-145.