

HPLC ABORDADO DESDE EL APRENDIZAJE BASADO EN PROBLEMAS

Paula Páez^{1,*} y Dina J. Carp²

1-*Ingeniería en Biotecnología e Ingeniería en Alimentos - Universidad Nacional de Río Negro, Sede Alto Valle y Valle Medio*

2-*Licenciatura en Criminología y Ciencias Forenses - Universidad Nacional de Río Negro, Sede Alto Valle y Valle Medio*

E-mail: ppaez@unrn.edu.ar

Breve texto para difusión

En este trabajo se presenta una experiencia pedagógica con estudiantes de Ingeniería en Biotecnología donde se incorpora el uso de un simulador cromatográfico. Se aplicó al análisis de una situación problemática, para conceptualizar y afianzar el tema de la separación en cromatografía líquida.

Palabras clave

Aprendizaje basado en problemas – Cromatografía líquida de alta performance – Simulaciones - Parabenos

Introducción y objetivos

La formación de ingenieros en la actualidad requiere un alto compromiso situacional por parte de los alumnos y de los docentes, ya que los mismos se encuentran involucrados en un ámbito científico - tecnológico de cambios y actualizaciones en forma continua. Es por ello que se busca incorporar al curriculum de la materia la resolución de situaciones problemáticas prácticas que desarrollen el “criterio químico” del alumno.

Desde hace mucho tiempo las estrategias metodológicas utilizadas en la enseñanza de las ciencias experimentan un cambio radical, debido a los problemas asociados con el modelo de clase tradicional: los estudiantes son entrenados dentro de una rutina de pensamiento algorítmico, buscando leyes y fórmulas que aplican para obtener la respuesta correcta. La falta de comprensión conceptual de los principios de la Química ha sido bastante investigada, observándose resultados positivos cuando se aplican metodologías activas y cooperativas ([1]).

Edwards V. ([2]), afirma que “la forma de conocimiento situacional imprime una relación más significativa entre éste y el sujeto, dado que lo incluye y lo interroga.” Con la propuesta de implementar un Estudio de Caso se pretende que el docente “sea un mediador entre los alumnos y el conocimiento, presente la situación por medio de las preguntas pero no espera respuestas únicas. Las preguntas que se realizan no son para controlar un conocimiento adquirido. La docente en ésta lógica expresa su opinión y no como verdad, de modo de abrir algún espacio para la elaboración del alumno. Esto le permite una relación de menos sumisión, les deja espacio para la duda”.

El objetivo del presente trabajo es incorporar la metodología ABP en la enseñanza de la técnica de separación de cromatografía de alta performance (HPLC), para que los alumnos comprendan los conceptos y condiciones de la separación de la técnica HPLC, haciendo uso de un simulador de HPLC. Para lo cual los alumnos deben considerar las características de la estructura molecular de los

compuestos orgánicos de las muestras y de los componentes de las fases móviles, las fuerzas intermoleculares que se presentan en el transcurso de la separación, así como las condiciones de equilibrio que se presentan entre los compuestos a separar, la fase móvil y la fase estacionaria.

La metodología de separación por HPLC es un tema importante en la enseñanza de química analítica instrumental, pero puede ser una técnica de difícil dominio e interpretación. La mayor dificultad puede atribuirse al gran número de variables experimentales que influyen en el resultado de cada análisis cromatográfico. Para que un alumno logre alcanzar a una noción de los parámetros experimentales y las interacciones que pueden verse afectadas en una separación de HPLC, se necesitaría llevar a cabo un gran número de experimentos. Que los alumnos logren obtener ésta comprensión en una clase de pocas horas de laboratorio de química es casi imposible. Con la incorporación de los simuladores de HPLC los alumnos pueden conocer y experimentar con los principios fundamentales de las técnicas cromatográficas. El uso de estos simuladores ofrece la ventaja de ser fáciles de usar, relativamente barato, no hay riesgo de daños a la instrumentación, sin consumo de reactivos y solventes, menor supervisión, y algunos ofrecen información instantánea. Por supuesto, los simuladores no deben ser un sustituto para el uso de bienes ([3]).

Descripción de la Propuesta Educativa

La propuesta educativa se basa en la resolución de un Estudio de Caso en la que se busca que el alumno al final de una teoría y/o en forma independiente analice una situación problemática planteada y luego responda una serie de “preguntas críticas”, que obligan a los alumnos a examinar ideas importantes, nociones y problemas relacionados con el mismo. Su objetivo es promover la comprensión ([4]).

La metodología ABP propuesta involucra las siguientes etapas:

1. Planteo del problema. Se realizó en el aula, luego de realizar la introducción del tema HPLC, explicando el fenómeno involucrado, las características de la técnica aplicada y aclarando los conceptos básicos de la técnica de separación.
2. Análisis del problema sobre la base del conocimiento impartido, los alumnos deben plantear una hipótesis.
3. Ordenamiento de las hipótesis propuestas, tratando de obtener una justificación a cada uno de los planteamientos.
4. Completar el planteo del problema con el uso del software HPLC, con el apoyo y revisión de todos los conocimientos asociados al problema y con el estudio individual.
5. Discusión y/o consultas para la resolución para lo cual se habilita Foro de consultas en el aula virtual, donde interactúan docente con alumnos.
6. Entrega de informe individual tratando de integrar los conocimientos en una explicación adecuada del fenómeno. Para la elaboración del mismo se realizó acompañamiento del docente.

El problema planteado fue la necesidad de desarrollar un método analítico para determinar la presencia de diferentes parabenos en productos cosméticos, y estimar la prevalencia de exposición a parabenos en Argentina.

Los parabenos son ésteres del ácido 4- hidroxibenzoico. Son activos frente a hongos y levaduras y se utilizan como estabilizantes y conservantes en cosméticos y jabones, e incluso como antimicrobianos en alimentos. Investigaciones recientes han sugerido que podría haber una relación entre la exposición a parabenos, del tipo antropogénica, y la mayor incidencia de cáncer de mama, disfunción

de tiroides, alergias y obesidad en mujeres. Diversos parabenos empleados en cosmetología (butilparabeno, etilparabeno, propilparabeno) pueden ser separados y cuantificados por HPLC, para lo cual es necesario desarrollar la técnica adecuada, eligiendo los solventes, la columna y las condiciones de flujo adecuadas para realizarla. Para desarrollar el método analítico se utilizó el software **HPLC SIMULATOR** se encuentra disponible en el sitio hplcsimulator.org.

Para orientar la resolución de la situación problemática se propusieron diferentes actividades que van desde dibujar la estructura de los analitos y solventes intervinientes y analizar sus interacciones; predecir el tiempo de retención y el orden de elución en un sistema HPLC utilizando metanol y acetonitrilo; y luego con la ayuda del software HPLC simulator repetir lo anterior calculando el factor de retención (k_1) y modificando por dilución con agua la concentración de los solventes hasta obtener la mejor separación. Se les solicita además racionalizar una conclusión relacionando los factores de retención obtenidos para las distintas fases móviles, con la ecuación de energía libre de Gibbs. Finalmente deben comparar la hipótesis original, planteada del orden de elución de los analitos para los dos solventes con los resultados obtenidos en el simulador; y arribar a una conclusión.

La secuencia ABP se realizó con los alumnos del 3er año de la materia Química Analítica e Instrumental, poseen nociones de las condiciones de equilibrio que se presentan en una corrida cromatográfica y de los tipos de interacciones (fuerzas de Van der Waals, y hidrofóbicas e hidrofílicas) que se presentan entre los analitos a separar, fase estacionaria y fase móvil, entre otros temas.

Evaluación de la propuesta y conclusión

La evaluación de la propuesta se realizó teniendo en cuenta el planteo de la hipótesis de trabajo; la justificación del orden de elución elegido; grado de participación del foro de consulta, evaluación de la herramienta por parte de los alumnos.

A partir del conocimiento de trabajar con una fase estacionaria apolar los alumnos plantearon correctamente el orden de elución de los analitos frente a los dos tipos de solventes en la oralidad de la primera clase. Un alumno afirma, como hipótesis "Para los parabenos su ordenamiento según su polaridad está tomando en cuenta por el largo de su cadena carbonada, teniendo como criterios que los compuestos con cadenas carbonadas más largas son las más no polares, es decir más hidrofóbicos. Por ende su ordenamiento según su polaridad creciente será: Etilparabeno > propilparabeno > butilparabeno. En el caso de los solventes (en base a la tabla de índices de polaridad de Snyder,[5]) su polaridad será Acetonitrilo < metanol < agua. Por lo tanto, teniendo en cuenta la polaridad de los compuestos a separar y de la polaridad de los solventes, el etilparabeno eludirá más rápido por la columna por ser el más polar de los compuestos e interactuar más fuerte con el solvente, es decir, tendrá los menores tiempos de elución. Para el caso del butilparabeno sus tiempos de retención serán más grandes porque interactuara mucho más con la columna y menos con el solvente, ya que es polar". En relación a los tiempos de retención de los compuestos, no pudieron estimarlos. No pudieron predecir cuál de las dos fases móviles era la más adecuada, sólo lo pudieron resolver en el momento que simularon las corridas cromatográficas con el simulador. La superposición de picos con el 100% de Acetonitrilo ó 100% de metanol tampoco fue predecible para los alumnos. Sólo a partir de la simulación de las corridas plantearon la necesidad de mejorar las condiciones cromatográficas, agregando un solvente más polar, el agua. Allí pudieron racionalizar que la incorporación del agua aumentó los tiempos de retención, al aumentar la afinidad de la porción no polar del analito (hidrofóbico) por la fase estacionaria (no polar) y menos aún a la fase móvil ahora más hidrofílica. Un alumno luego de realizado la experiencia con el simulador concluye

“La polaridad de los solventes modificada con una mezcla del solvente polar con agua mejora la resolución entre los picos y en consecuencia la separación de los parabenos”....Otro alumno concluye “Con el estudio de los tiempos de elución y los valores de ΔG de los K' para cada compuesto, mostró que para la separación de parabenos en una mezcla de 50% de metanol/agua se obtiene la mejor separación entre los picos y tiempos de elución aceptables. Esto contradujo una primera hipótesis, la cual se pensaba que, con acetonitrilo, se iba a lograr mejor separación de los parabenos. Con los estudios simulados con mezclas de solventes de acetonitrilo y agua, los tiempos de elución y resolución son más pobres, esto se terminó de confirmar observando valores de ΔG ”.

Esta propuesta metodológica para los alumnos resultó muy útil porque les permitió interactuar con una herramienta novedosa, de forma casi independiente y les permitió alcanzar una mayor percepción de la problemática de la separación cromatográfica. Es de destacar que el rol del docente fue de facilitador y de mediador. Se cumplieron los objetivos propuestos.

Referencias bibliográficas

- [1] Thomas, J.W.; Hooper, L., “*Supplemental instruction for introductory chemistry courses - a preliminary investigation*”, Journal of Chemical Education, **1998**, 75, 328 – 331.
- [2] Edwards V., “*La Relación de los Sujetos con el conocimiento,*” Revista Colombiana de Educación, **1993** Nro 23. 23 – 68.
- [3] Boswell P., Stoll D. R., Carr P.W., Nagel N.L., Vitha M., Mabbott G.A., “*An Advanced, Interactive, High-Performance Liquid Chromatography Simulator and Instructor Resources*”, Journal of Chemical Education, **2013**, 90, 198 – 202.
- [4] Wassermann S., “*El estudio de casos como método de enseñanza*”, Buenos Aires, Amorrortu, **1994**.
- [5] Snyder L., “*Classification of the solvent properties of common liquids*”, Journal of Chromatography, **1974**, 92, 223-230.