

# Validación del método para búsqueda de residuos de disparo de arma de fuego (GSR) por SEM/EDS.

## Validation of the method for the search for residuals of firearm shots (GSR) by SEM/ EDS.

Fecha de presentación: Octubre 2020

Fecha de aceptación: Febrero 2021

Rogelio Maxil Tirso.  
CLEU Campus Puebla.

*“Actualmente los laboratorios forenses utilizan métodos o procedimientos sin validar, es decir, no se toman los requisitos establecidos por los estándares internacionales”*

### Resumen

La función pericial en los laboratorios forenses es la base de apoyo científico al proceso probatorio dentro del contexto de la administración de justicia en México. Como consecuencia, es de gran importancia que emita resultados obtenidos mediante normas, protocolos, y estándares internacionales con el apoyo de equipos de vanguardia, dando resultados de manera científica, pronta y de calidad.

El presente estudio describe los requisitos generales para la validación de métodos analíticos utilizados en los laboratorios forenses utilizados por la comunidad científica forense y la normativa vigente para laboratorios de pruebas y ensayos. Como es el caso de la identificación de los residuos de disparo en mano por microscopía electrónica de barrido, que es una de las técnicas más empleadas y buscan conocer si una persona ha accionado un arma de fuego relacionado a un hecho punible. Este método de análisis a pesar de ser muy sensible es necesario demostrar su buen desempeño mediante la validación analítica, estableciendo los parámetros de validación para método cualitativo como es la precisión y veracidad, mediante el desarrollo de un protocolo de validación.

### Palabras Clave

Validación, GSR, SEM/EDS, material de referencia, normalizado.

### Abstract

The expert role in forensic laboratories is the basis of scientific support for the evidentiary process within the context of the administration of justice in Mexico. As a result, it is of great importance that it delivers results obtained through international standards, protocols, and standards with the very sensitive it is necessary to support of state-of-the-art equipment, delivering results in a scientific, prompt and quality manner.

This study describes the general requirements for validation of analytical methods used in forensic laboratories used by the forensic scientific community and current regulations for testing and testing laboratories. As is the case with the identification of shooting residues by hand by scanning electron microscopy, which is one of the most used techniques and seek to know if a person has powered a firearm related to a punishable fact. This method of analysis despite being demonstrate its good performance through analytical validation, setting the validation parameters for qualitative method such as accuracy and veracity, by developing a validation protocol.

### Keywords

Validation, GSR, SEM/EDS, reference material, standardized.

## INTRODUCCIÓN

Los delitos relacionados con el uso de arma de fuego es uno de los delitos más frecuentes en los últimos años, pues según los reportes del secretariado ejecutivo del sistema de nacional de seguridad pública, en Puebla se tiene una incidencia en los últimos 3 años de hasta 1000 casos por año (Gobierno de México, 2020), por lo que la investigación de estos hechos delictivos debe ser estrictamente pronta y expedita a través de los órganos encargados de la persecución de los delitos.

La búsqueda de residuos de disparo de arma de fuego (GSR) en una persona involucrada en un proceso judicial por algún delito, es importante al momento de esclarecer la comisión del mismo.

Uno de los análisis forenses más utilizados para la búsqueda de residuos de disparo de arma de fuego, es la técnica de microscopía electrónica de barrido acoplado a un analizador de rayos X por dispersión de energía (EDS), por ser un sistema analítico de confirmación específica de restos metálicos del fulminante de un cartucho, es decir, de las partículas condensadas (plomo, bario y antimonio) que son producto de la elevada temperatura de ignición de los componentes del primer.

Cuando la mezcla del fulminante se funde, éste escapa del arma en forma de vapor o "pluma" a través de las aberturas disponibles del arma. Entonces, se solidifica en partículas finas y se deposita en las manos, ropa y superficies de la proximidad inmediata de la descarga del arma.

Esta técnica es considerada de muy alta sensibilidad y especificidad, sin embargo, de acuerdo a los requisitos establecidos por los estándares internacionales de calidad para aplicación forense, es necesario validar el método a desarrollar con este instrumento, lo que significa, que se debe considerar los métodos normalizados para este caso, como la norma ASTM 1588-10e1, donde establece los parámetros y requisitos técnicos para poder realizar un análisis adecuado y confiable.

El uso de métodos normalizados requiere el cumplir con los requisitos de la ISO/IEC 17025, como es el validar o verificar un método, para lo que se requiere el uso de materiales de referencia y poder medir los parámetros de validación o verificación.

Por otro lado, se entiende por validación de un método como un proceso documentado mediante el cual se demuestra que un procedimiento analítico es idóneo y apropiado para el propósito para el cual fue diseñado.

Típicamente, los parámetros que se validan en un método analítico son: exactitud, precisión, especificidad, selectividad, linealidad, límite de detección, límite de cuantificación y robustez. Para el caso de esta investigación se consideran los parámetros de repetibilidad y veracidad, lo que permite conocer la confiabilidad del mismo para su aplicación diaria y garantiza la fiabilidad si se conservan los parámetros que se han validado.

El laboratorio de química forense dentro del ámbito legal aporta análisis de los indicios mediante técnicas científicas que los respaldan, apoyando de forma importante a los organismos de procuración de justicia, es por ello que el uso de métodos de ensayo normalizados o no normalizados en los laboratorios forenses son imprescindibles (Cooperación Internacional Para la acreditación de laboratorios, 2014), sin embargo, no se ha implementado el desarrollo y validación de métodos de ensayo para el análisis de indicios y así garantizar la calidad probatoria de los mismos. Por tal razón, la tecnología

usada debe proporcionar resultados confiables mediante métodos validados, motivo por el cual, los laboratorios forenses deben garantizar la veracidad de sus resultados, específicamente para los casos donde se involucra un arma de fuego donde se requiere determinar la presencia de partículas de residuos de arma de fuego. Existen varias técnicas para su identificación, pero en su mayoría de estas técnicas son destructivas o irrepetibles (técnica de parafina, rodizonato de sodio, Harrison & Gillroy, EAA, activación de neutrones, ICP-OES), y no han sido las más idóneas o recomendables por cumplir con los requisitos establecidos en el código penal de procedimientos penales. El método que recomienda el grupo de expertos forense es el análisis por microscopía electrónica de barrido y espectroscopía de energía dispersa (SEM/EDS), por ser una técnica que proporciona información química elemental de partículas individuales, así como información morfológica (tamaño y forma) por medio de micrografías, con la ventaja de ser una técnica no destructiva, lo cual es indispensable para realizar otro estudio o reanálisis de la muestra, no obstante, es necesario que el método a desarrollar sea validado según los estándares internacionales para garantizar la calidad de los resultados.

La importancia del trabajo radica en que actualmente los laboratorios forenses utilizan métodos o procedimientos sin validar, es decir, no se toman los requisitos establecidos por los estándares internacionales como lo establece la norma ISO/IEC 17025 ( Instituto Mexicano de Normalización y certificación, 2018)), donde establece que se debe validar los métodos no normalizados, normalizados y los desarrollados por el laboratorio utilizados fuera de su alcance previsto o modificados de otra forma. La validación debe ser tan amplia como sea necesario para satisfacer las necesidades a las que se requieran cumplir y que también se debe generar evidencia mediante registros de dicha validación incluyendo como mínimo lo siguiente:

- 1) El procedimiento o plan maestro de validación utilizado
- 2) La descripción de los requisitos

**"El método que recomienda el grupo de expertos forense es el análisis por microscopía electrónica de barrido y espectroscopía de energía dispersa (SEM/EDS)"**

- 3) Las características de desempeño del método
- 4) Los resultados obtenidos
- 5) Una declaración de la validez del método, detallando su aptitud para su uso previsto.

Demostando conformidad a estos requisitos, se garantiza la calidad de un resultado de un análisis, evitando mayor grado de error o sesgo cognitivo, lo que nos llevaría a demostrar que toda actividad pericial en un laboratorio se trabaja bajo buenas prácticas y así contribuir a la investigación de un hecho delictivo.

## DESARROLLO

Los métodos empleados en el Laboratorio de Química Forense para la investigación de hechos delictivos relacionados con armas de fuego tienen el propósito de confirmar la presencia de residuos de nitrógeno, carbón y metales provenientes del disparo. Estos estudios se realizan en ropas, elementos interpuestos y en el cuerpo de la víctima y/o autor de los disparos.

En los Laboratorios de Química Forense se han utilizado diversas técnicas para tal fin, las cuales se describen brevemente a continuación:

### Prueba de parafina

Introducida en 1933 por Teodoro González, es una técnica de reacción química por el desarrollo de color que se basa en la identificación de los productos nitrados derivados de la deflagración de la pólvora, y fue utilizada para determinar si un individuo había accionado un arma de fuego. Se realiza embebiendo la mano del sospechoso en parafina caliente y una vez que solidifica, se retira el molde y es aplicada la solución al 0.25% de N, N- difenilamina en ácido sulfúrico concentrado, produciendo una coloración azul oscuro en presencia de nitrocompuestos provenientes del propelente. Ésta prueba se dejó de utilizar debido a que presenta falsos positivos con oxidantes fuertes presentes en algunos cosméticos, orina, fertilizantes, pinturas y solventes.

### Prueba de rodizonato de sodio

El uso de esta técnica fue posterior a la de parafina, es una prueba de color cualitativa basada en la reacción de plomo y bario con el rodizonato de sodio. Es una técnica de baja sensibilidad pero que aún se utiliza en la mayoría de los países de América Latina.

### Prueba de Harrison & Gilroy

Es una modificación a la prueba de rodizonato, en la cual se agrega yoduro de trifenilmetilarsonio antes de adicionar el rodizonato, esto con la finalidad de detectar la presencia de antimonio.

### Análisis por activación de neutrones

Introducida en 1962 por Ruch et al., es una prueba altamente específica, útil en la detección de bario y antimonio.

La muestra se obtiene a partir de un molde de parafina tomado de la persona que accionó el arma de fuego. El molde es sometido al bombardeo de neutrones, en un reactor nuclear donde el Sb y Ba, al transformarse en radioisótopos, emiten rayos gamma de longitudes de onda perfectamente definidas, lo que permite su identificación y cuantificación con base a las características del espectro.

### Análisis por espectroscopía de absorción atómica con horno de grafito (EAA)

Esta técnica se basa en que cada elemento absorbe energía a longitudes de onda características. Al exponer una muestra a la radiación emitida por una lámpara de cátodo hueco, los electrones de valencia del elemento de interés absorben esa energía provocando una disminución en la intensidad de la luz emitida por la lámpara. La Ley de Beer permite relacionar la intensidad de la luz con la concentración.

### Análisis por emisión atómica acoplada a plasma inductivamente (ICP-OES)

Es una técnica de análisis muy versátil, ya que puede determinar hasta 72 elementos metálicos simultáneamente en un tiempo de aproximadamente de 2 minutos, con un buen rango dinámico de 104 a 106. No presenta interferencias de matriz debido a las altas temperaturas alcanzadas por el plasma (6000 – 10000 K).

Los elementos poseen electrones de valencia, los cuales, al ser excitados por una fuente de energía, como lo es el plasma, la absorben; éste estado de mayor energía es altamente inestable por lo que los electrones tienden a regresar a su estado basal, emitiendo la energía que antes habían absorbido; cada elemento emite radiación a longitudes de onda características. La cantidad de energía emitida por la muestra es directamente proporcional a la concentración del elemento en la misma (Ley de Beer).

### Análisis por Microscopía Electrónica de Barrido y Espectroscopía de Energía Dispersiva (SEM/EDS)

Un Microscopio Electrónico de Barrido acoplado a un analizador de Rayos x por dispersión de energías es un sistema analítico diseñado para la visualización y análisis de muestras microscópicas. La técnica consiste en hacer incidir en la muestra un haz de electrones, éste bombardeo de electrones genera diferentes señales que, captadas con detectores adecuados, nos proporcionan

información acerca de la naturaleza de la muestra. El equipo con el que se cuenta dispone de los tres detectores, que son el de electrones secundarios, el de retrodispersados y el de Rayos X. La señal de electrones secundarios proporciona una imagen superficial de la muestra. La señal de retrodispersados una imagen cualitativa de zonas con distinto número atómico medio, y la señal de Rayos X espectros e imágenes acerca de la composición de elementos químicos en la muestra.

La parte principal de un microscopio electrónico de barrido es la denominada columna de electrones, tiene en su interior los siguientes elementos:

- Un cañón de electrones con un filamento que actúa como emisor o fuente de iluminación, por analogía con un sistema óptico.
- Un sistema de lentes electromagnéticas encargado de focalizar y reducir a un diámetro muy pequeño el haz de electrones producido por el filamento.
- Un sistema de barrido que hace recorrer el haz de electrones ya focalizado por la superficie de la muestra.



- Uno o varios sistemas de detección que permiten captar el resultado de la interacción del haz de electrones con la muestra y transformarlo en una señal eléctrica.
- Una salida conectada a una o varias bombas que producen el vacío necesario para que el conjunto funcione adecuadamente.
- Además, el microscopio posee diversos sistemas que permiten observar las señales eléctricas procedentes de los detectores, en forma de imágenes, fotografía, espectro de elementos, etc. en un monitor.

En el área forense se puede dar múltiples aplicaciones a este instrumento, entre las que destacan análisis de suelos, pinturas, y búsqueda de residuos de disparo de arma

de fuego o GSR.

Es una técnica no destructiva que emplea electrones en lugar de luz visible para obtener una imagen de alta resolución con el detector de electrones secundarios identificando las partículas de residuos de arma de fuego en función de su morfología; obteniendo la composición elemental de las partículas a través de la espectroscopia de dispersión de rayos X.

La técnica SEM/EDS ha sido científicamente aceptada para la examinación y análisis de GSR por las siguientes razones:

- La técnica no es destructiva
- Se requiere mínima preparación de la muestra
- Las partículas pueden ser analizadas individualmente
- La morfología de las partículas puede ser examinada
- Las partículas GSR pueden ser identificadas con un alto nivel de confianza sobre la base de la composición elemental y su morfología
- Se ha desarrollado una automatización altamente efectiva para la detección y clasificación de las partículas (Organization of Scientific Area Commiteen for Forensic Siencie, 2020).

### Validación

La validación es una parte esencial de las buenas prácticas de Laboratorio (análisis), Es, por lo tanto, un elemento del programa de garantía de calidad asociado con un producto o proceso en particular. Es a través de la validación que un laboratorio puede establecer la confianza de que los resultados, sistemáticamente cumplirán sus especificaciones. La documentación asociada con la validación, incluye:

- Procedimientos operativos
- Procedimiento para validación
- Protocolo e informe de validación

### Definición

Según ISO, la validación de un método se refiere al proceso de definir una necesidad analítica y confirmar que el método en cuestión tiene capacidades de desempeño consistentes con las que requiere su aplicación. Por lo tanto, la validación es confirmación, a través de examen y el aporte de evidencia objetiva, de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto (Instituto Mexicano de Normalización y certificación, 2018).

En la validación se comprende la determinación de una serie de parámetros que demuestren que los resultados del método son confiables y reproducibles. Cada uno de los parámetros a validar debe tener un diseño experimental planteado, estos parámetros de desempeño a evaluar son selectividad, límite de detección, límite de cuantificación, precisión, linealidad, exactitud, precisión, repetibilidad, veracidad y robustez principalmente.

### Parámetros de desempeño a evaluar

Precisión y veracidad	
<b>Precisión</b>	<p><b>Repetibilidad:</b> Se realiza análisis de la muestra 6 veces por el mismo operador, en el mismo instrumento y con los parámetros establecidos.</p> <p><b>Precisión intermedia:</b> Se realiza análisis de la muestra 6 veces por otro operador, en el mismo instrumento y con los parámetros establecidos.</p>
<b>Veracidad</b>	<p><b>SENSIBILIDAD</b> es la capacidad del método para identificar resultados positivos.</p> <p>En este caso un resultado positivo significa una partícula PbSbBa correctamente detectada y clasificada. El parámetro de sensibilidad se define como:  <math display="block">\text{SENSIBILIDAD} = \frac{TP}{(TP + FN)} * 100\%</math>                     donde TP significa número de resultados positivos verdaderos, FN significa número de resultados falsos negativos.                      El número de resultados de TP se calcula a partir de la ecuación:  <math display="block">TP = \text{Número total de PbSbBa} - FP</math> </p>

### Control de calidad

Al establecer estos parámetros para un correcto análisis automatizado de GSR, deben ser seleccionados parámetros adecuados con el fin de cumplir los estándares de calidad. Por lo tanto, como condiciones mínimas se debe establecer un procedimiento para confirmar los parámetros de operación del instrumento sobre una base de rutina.

### Diagrama general de trabajo

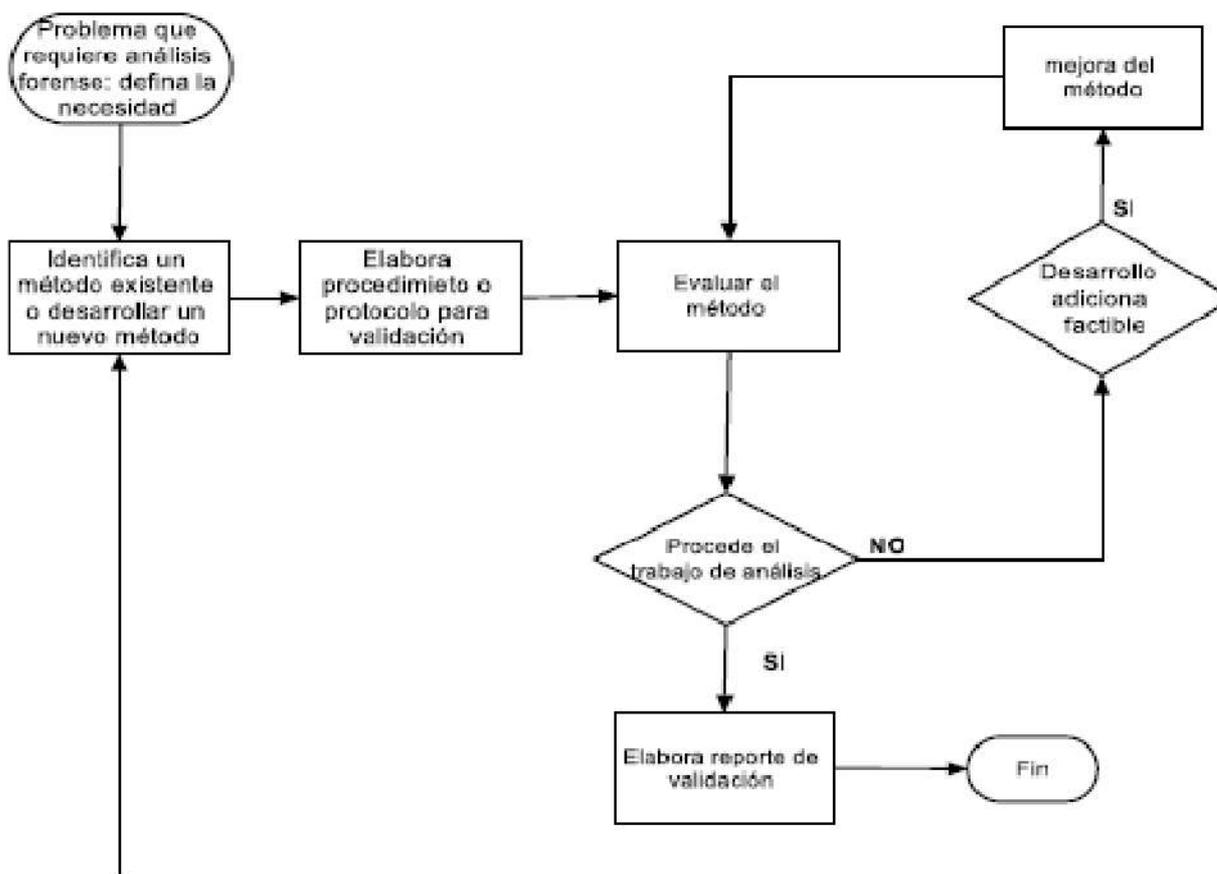


Figura 1. Selección, desarrollo y validación de un método analítico.

### Descripción

- 1.- Evaluar el desempeño del método
- 2.- Existe método existente establecido por la norma ASTM 1588-10 para la búsqueda de residuos de disparo de arma de fuego que establece las condiciones del equipo.
- 3.- Elabora protocolo o plan de validación estableciendo los criterios de aceptación para definir si el método cumple con los requisitos.
- 4.- Los resultados se establecen y se reportan en un informe, declarando que el método es apto para su propósito.

### Resultados

ANALISTA	ANÁLISIS 1	ANÁLISIS 2	ANÁLISIS 3	ANÁLISIS 4	ANÁLISIS 5	ANÁLISIS 6	SD	MEDIA	%CV
1	136	142	144	129	146	150	7.54	141.16	5.34
2	149	147	149	150	144	145	2.42	147.33	1.64

Tabla 1. Resultados para precisión en condiciones de repetibilidad.

TAMAÑO DE PARTÍCULA	PARTÍCULAS DETECTADAS	PORCENTAJE DE PARTÍCULAS DETECTADAS
0.5µm	18 de 22	81.81%
0.8µm	25 de 25	100.00%
1.2µm	26 de 26	100.00%
2.4µm	27 de 27	100.00%
10µm	1 de 1	100.00%
15µm	1 de 1	100.00%
20µm	1 de 1	100.00%

Tabla 2. Resultados en relación con la veracidad mostrando el porcentaje de partículas detectadas.

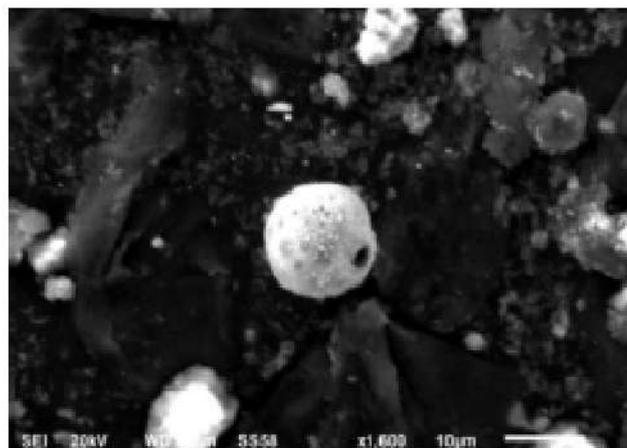


Ilustración 2. Partícula de GSR obtenida por SEM/EDS, Laboratorio de química forense del INCIFO, FGE Puebla.

## CONCLUSIÓN

Con base en los resultados obtenidos, los cuales se muestran en la Tabla 1 y 2, se considera que los parámetros utilizados en el método son idóneos para realizar la búsqueda de partículas GSR, ya que se logra detectar el 100% de las partículas con diámetro de 0.8 a 20  $\mu\text{m}$ .

El garantizar que la búsqueda de residuos de disparo de arma de fuego se realiza conforme a los parámetros de validación establecidos por la norma ISO/IEC 17025 permitirá emitir resultados confiables y de calidad, fortaleciendo la participación de los Peritos del Laboratorio de Química Forense.

## BIBLIOGRAFÍA

- Cooperación Internacional Para la acreditación de laboratorios. (2014). Módulos de un Proceso de Ciencias Forenses. Australia, Silverwater, Australia.
- Gobierno de México. (22 de octubre de 2020). Seguridad. Obtenido de Secretaria de seguridad y Protección Ciudadana: <https://www.gob.mx/sspc>
- Instituto Mexicano de Normalización y certificación. (09 de agosto de 2018). Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración. Ciudad de México, México, México.
- Organization of Scientific Area Commiteen for Forensic Siencie. (1 de marzo de 2020).
- Standard Practice for Gunshot Residue Analysis by Scanning Electron Microscopy/Energy Dispersive X-Ray Spectrometry. Maryland, Maryland, Estados Unidos de América.