



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN MÉTODO
VOLTAMPEROMÉTRICO PARA LA DETERMINACIÓN DE
MELOXICAM”**

TESIS COLECTIVA

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTAN

**ALEJANDRA CERÓN PEREZ
MÓNICA MARÍA MARTÍNEZ SÁNCHEZ**

DIRIGIDA POR

Dr. ADRIÁN SOSA DOMÍNGUEZ

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2022.



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales
de Información



DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN MÉTODO
VOLTAMPEROMÉTRICO PARA LA DETERMINACIÓN
DE MELOXICAM

por

Alejandra Cerón Pérez
Mónica María Martínez Sánchez

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0
Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Clave RI: FQLIN-267642



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN
MÉTODO VOLTAMPEROMÉTRICO PARA LA
DETERMINACIÓN DE MELOXICAM”**

TESIS COLECTIVA

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

PRESENTA

**ALEJANDRA CERÓN PEREZ
MÓNICA MARÍA MARTINEZ SANCHEZ**

DIRIGIDA POR

Dr. ADRIAN SOSA DOMINGUEZ

SINODALES

Dr. ADRIAN SOSA DOMÍNGUEZ

DIRECTOR

M. en C. ALMA DELIA BERTADILLO JILOTE

SINODAL

Dra. LAURA CRISTINA BERUMEN SEGURA

SINODAL

Dra. MARICELA GONZÁLEZ LEAL

SINODAL

DEDICATORIA

A mis padres, hermanas, mi cuñado y sobrino, por ser pilar fundamental en mi vida y alentarme a perseguir mis sueños. Este logro es nuestro.

.

Alejandra Cerón Pérez

A mis padres, hermanos y sobrinos; persigan sus sueños, nunca dejen de creer en sí mismos.

Mónica María Martínez Sánchez

AGRADECIMIENTOS

Comienzo agradeciendo a Dios por darme la oportunidad de vivir y disfrutar la vida, por brindarme salud y mantenerme a pie para poder realizar mis estudios universitarios.

A la Universidad Autónoma de Querétaro, por abrirme las puertas al conocimiento y permitirme estudiar la carrera que tanto me apasiona. Agradezco a los profesores que me guiaron a lo largo de este camino con sus enseñanzas, conocimientos y consejos.

A mi asesor de tesis, el Dr. Adrián Sosa Domínguez, quien confió plenamente en el proyecto, dando siempre apoyo y palabras de aliento cuando las frustraciones se hacían presentes. A mis sinodales, por sus comentarios y orientación a lo largo del trabajo.

Agradezco infinitamente a mis padres, que se han esforzado a lo largo de su vida para darme la mejor educación. Gracias a mi padre, por su comprensión, cariño y paciencia, que me ha enseñado que nunca es tarde para perseguir mis sueños. Gracias a mi madre, por su constante motivación, amor y alegría, por ser mi confidente y mi consuelo en días malos. Agradezco a ambos por no dejar de creer en mí a pesar de las adversidades, dándome siempre palabras de aliento, apoyando y creyendo en mí, para desarrollar los proyectos que han comenzado como un sueño y que gracias a ustedes se han hecho realidad. Este triunfo también es suyo.

A mis hermanas, por ser un ejemplo a seguir durante todos mis años de vida, por enseñarme a no rendirme e intentar dar la mejor versión de mí cada día. Agradezco las risas, los consejos, la motivación, su fortaleza e inspiración que le han dado a mi vida.

A mi cuñado, por ser como un hermano para mí, quien se ha ganado mi cariño y me ha visto crecer durante muchos años. Gracias por tus consejos y tu constante inspiración para crecer personal y profesionalmente. Gracias a mi sobrino Axel por hacer más felices mis días desde su llegada a mi vida.

Agradezco a Mónica Martínez, amiga y compañera de tesis, por creer en este proyecto desde sus inicios y no rendirse ante las dificultades, por tu paciencia y amistad, por las risas, el estrés, las frustraciones e incluso desveladas para sacar adelante el trabajo.

Finalmente, gracias a mis amigas de la universidad, por brindarme su amistad incondicional y compartir este camino conmigo desde hace cinco años, por todos los momentos juntas, que ahora se convierten en buenos recuerdos.

Alejandra Cerón Pérez

AGRADECIMIENTOS

Inicio agradeciendo a la Universidad Autónoma de Querétaro por haberme abierto las puertas para poder estudiar mi carrera, así como también a los diferentes docentes que me brindaron sus conocimientos y apoyo para seguir adelante día con día.

Mi agradecimiento va dirigido también a mi asesor de tesis el Dr. Adrián Sosa Domínguez, por haberme brindado su apoyo y haberme guiado con paciencia durante todo el desarrollo de la tesis. Agradezco a mis sinodales por sus comentarios en todo el proceso de elaboración y sus certeras correcciones.

Agradezco el apoyo constante de mis padres, que siempre han estado cuando los he necesitado. Gracias a mi madre por su cariño, por siempre procurar que comiera y durmiera bien. Gracias a mi padre por siempre proveerme de lo necesario para lograr mi meta. Gracias a ambos por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad, muchos de mis logros se los debo a ustedes entre los que se incluye este.

Gracias a mis hermanos por estar presentes aportando apoyo, felicidad y diversas emociones a mi vida. Gracias a mi sobrina por iluminar mi día con una sonrisa cuando creía que no podía más.

Agradezco a mi abuelita que después de mis padres es la persona que más se preocupa por mí, gracias por siempre creer en mí.

Muy particularmente agradezco a mis primos que me enseñaron esta profesión que tanto amo y me animaron en toda la carrera. A mis tías que me brindaron su apoyo en momentos difíciles para que siguiera adelante con perseverancia.

Doy las gracias a mi compañera y amiga Alejandra Cerón por haber creído en este proyecto hasta el final, por todos los momentos que pasamos trabajando y por compartir desveladas, risas y frustraciones.

Agradezco a Dios por darme la vida y guiar mis pasos día a día.

Por último, pero no menos importante agradezco a todas mis amigas quienes sin esperar nada a cambio me ofrecieron alegrías, tristezas y me acompañaron incondicionalmente en todo el camino, agradezco a mis demás familiares por confiar en mí, gracias por ser parte de mi vida y por estar a mi lado durante estos cinco años.

A todos, GRACIAS.

Mónica María Martínez Sánchez

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE CUADROS	ii
ÍNDICE DE FIGURAS	iii
RESUMEN	
1. ANTECEDENTES	13
1.1 AINES	13
1.2 Oxicames	15
1.3 Meloxicam	16
1.3.1 Toxicidad	18
1.4 Métodos tradicionales para la cuantificación de meloxicam	18
1.5 Voltamperometría	19
1.5.1 Voltamperometría cíclica	21
1.5.2 Electrodo de trabajo	22
1.5.3 Electrodo de carbón vítreo	24
1.5.3.1 Nanotubos de carbono de pared múltiple	25
1.6 Normas Mexicanas relacionadas a la industria farmacéutica	27
1.7 Validación de un método analítico	28
2. HIPÓTESIS	30
3. OBJETIVOS	31

3.1 General	31
3.2 Específicos	31
4. METODOLOGÍA	32
4.1 Materiales	32
4.1.1 Reactivos	32
4.1.2 Materiales de laboratorio	32
4.1.3 Equipo	32
4.2 Métodos	32
4.2.1 Preparación de la solución estándar	32
4.2.2 Modificación superficial del electrodo de trabajo	33
4.2.3 Desarrollo del método	33
4.3 Diseño Experimental	34
4.3.1 Validación del método	34
4.3.1.1 Confirmación de la identidad y selectividad	34
4.3.1.2 Determinación de intervalo de trabajo y linealidad	34
4.3.1.3 Determinación del límite de detección	35
4.3.1.4 Determinación del límite de cuantificación	36
4.3.1.5 Determinación de la exactitud y veracidad	36
4.3.1.5.1 Método espectrofotométrico UV	36
4.3.1.6 Precisión: Repetibilidad y Reproducibilidad	37
4.3.1.7 Recuperaciones	37
4.3.1.8 Pruebas de robustez	38
4.3.1.9 Evaluación del método para la cuantificación de meloxicam en formas farmacéuticas	38

4.3.1.10 Análisis estadístico	39
5. RESULTADOS	40
6. DISCUSIÓN	68
7. CONCLUSIONES	82
8. REFERENCIAS	84

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs)	13
2	Condiciones de las mediciones voltamperométricas	34
3	Modificación al electrodo de trabajo a diferentes concentraciones de MWCNT	40
4	Confirmación de la identidad	41
5	Condiciones del método desarrollado	42
6	Condiciones de las mediciones voltamperométricas para IBP	42
7	Identidad de Ibuprofeno (IBP)	43
8	Identidad de Meloxicam (MLC)	44
9	Confirmación de la selectividad	45
10	Linealidad del método	47
11	Parámetros de linealidad	47
12	Intervalo de trabajo	49
13	Parámetro de intervalo de trabajo	49
14	Parámetros de validación	51
15	Exactitud del método	52
16	Veracidad del método	53
17	Parámetros de repetibilidad	54
18	Parámetros de reproducibilidad	55
19	Porcentaje de recuperaciones	55
20	Linealidad a pH 4.5, 5.5 y 6.5	56
21	Parámetros de linealidad en pH 4.5, 5.5 y 6.5	57

22	Intervalo de trabajo para pH 4.5, 5.5 y 6.5	59
23	Parámetro de intervalo de trabajo a pH 4.5, 5.5 y 6.5	59
24	Límites de detección y cuantificación a pH 4.5, 5.5 y 6.5	61
25	Exactitud del método en pH 4.5, 5.5 y 6.5	62
26	Veracidad del método a pH 4.5, 5.5 y 6.5	63
27	Parámetros de repetibilidad a pH 4.5, 5.5 y 6.5	64
28	Parámetros de reproducibilidad a pH 4.5, 5.5 y 6.5	65
29	Porcentaje de recuperaciones a pH 4.5, 5.5 y 6.5	67
30	Cuantificación de meloxicam en formas farmacéuticas a pH 4.5, 5.5 y 6.5	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Familia de los oxicames	15
2	Estructura química del Meloxicam (MLC)	17
3	Forma de la onda para voltamperometría cíclica	21
4	Nanotubos de pared simple (SWCNT) y de pared múltiple (MWCNT)	26
5	Sensibilidad MWCNT a diferentes concentraciones	41
6	Voltamperograma de Ibuprofeno (IBP)	43
7	Voltamperograma de Meloxicam (MLC)	44
8	Voltamperograma con condiciones de MLC	45
9	Voltamperograma con condiciones de IBP	46
10	Linealidad del método	48
11	Intervalo de trabajo	50
12	Gráfico de residuales	50
13	Linealidad a pH 4.5, 5.5 y 6.5	58
14	Intervalo de trabajo a pH 4.5, 5.5 y 6.5	60
15	Gráficos de residuales a pH 4.5, 5.5 y 6.5	61

RESUMEN

El meloxicam (MLC) es un oxicame que tiene alto poder en la inhibición inflamatoria, la dosis recomendada es de 7.5 a 15 mg al día, si la dosis recomendada es superada, el riesgo a eventos cardiovasculares y accidentes cerebrales incrementa. Se han desarrollado diferentes métodos analíticos para su cuantificación, sin embargo, estos métodos requieren costosa instrumentación y regularmente largos tiempos en el proceso de preparación de la muestra, una opción a esto son los métodos electroanalíticos, como la voltamperometría, dado que son selectivos para la familia de los oxicames y ofrecen una alta sensibilidad, además de tener bajo costo, fácil manejo y corto tiempo de respuesta. En este trabajo se desarrolló un método voltamperométrico para la determinación de meloxicam utilizando un electrodo de carbono vítreo modificado con nanotubos de carbono (MWCNT) como alternativa para la determinación del Meloxicam (MLC) estableciendo a partir de su oxidación parámetros de validación como selectividad, linealidad, intervalo de trabajo, límite de detección y cuantificación, exactitud, veracidad, precisión; repetibilidad y reproducibilidad, porcentaje de recuperación, robustez y evaluación del método en formas farmacéuticas comerciales, permitiendo que, se obtuvieran resultados favorables para cada parámetro, a excepción de robustez, que demostró buen comportamiento solo a pH de 5.5, debido a que el pH es un factor crítico y dependiente del analito pero no del método, concluyendo así que el método es capaz de utilizarse para la determinación de Meloxicam bajo las condiciones voltamperométricas establecidas en el presente trabajo y a un pH de 5.5.

1. ANTECEDENTES

1.1 AINES

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) son actualmente uno de los grupos de fármacos de mayor indicación y consumo a nivel mundial. Entre los factores que facilitan su alto consumo, se encuentra que no requieren de receta como condición de venta, así como su amplio campo terapéutico, que va desde el tratamiento de diversos síndromes dolorosos hasta la prevención de eventos isquémicos cardiovasculares y cerebrovasculares (Oscanoa y Lizaraso, 2015).

Los fármacos categorizados como AINEs son diversos y presentan múltiples grupos químicos siendo los principales los mencionados en el Cuadro 1. Pese a que no presentan una estrecha relación estructural, comparten como efectos farmacológicos el ser antiinflamatorios, analgésicos, antipiréticos y además presentar un efecto antiagregante plaquetario, así como los efectos colaterales asociados a su administración (De Campos, 2019; Pérez y col., 2002).

Cuadro 1. Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) (Pérez y col., 2002).

Grupo químico	Fármaco(s)
Salicilatos	Ácido acetilsalicílico
Derivados pirazolónicos	Aminofenazona, fenilbutazona, azaprofazona
Derivados del paraaminofenol	Acetaminofén
Derivados del ácido acético	Indometacina, 2 sulindaco, glucametacina
Derivados carboxílicos y pirrol pirrólicos	Etodolaco, ketorolaco
Derivados del ácido fenilacético	Diclofenaco, aclofenaco, tolmetina, fenclofenaco

Derivados del ácido n-acetilantranílico	Ácido mefenámico, niflumico, meclofenamico, clonixinato de lisina
Derivados del ácido propiónico	Ibuprofeno, naproxeno, ketoprofeno, flurbiprofeno, fenoprofeno, oxaprozina
Grupo naftilo alcanonas	Nabumetona
Derivados enólicos	Piroxicam, meloxicam, tenoxicam
Sulfonanilidas	Nimesulida

El blanco farmacológico de los AINEs es la enzima ciclooxigenasa (COX) de la cual, en 1991, se describió que se presenta en dos isoformas, denominadas como COX-1 y COX-2. Estas dos isoformas pese a ser codificadas por diferentes genes; tienen estructuras químicas similares, además de poseer una concordancia del 60% en la secuencia de aminoácidos y patrones singulares de expresión. (Oscanoa y Lizaraso, 2015). La isoforma COX-1 es expresada de forma constitutiva, es decir que no necesita de ningún estímulo para su síntesis en muchos tejidos, mientras que la isoforma COX-2 es inducida por procesos inflamatorios (De Campos, 2019; Oscanoa y Lizaraso, 2015).

Dado el sitio de síntesis de la COX-2, su inhibición resulta como la mediación de los efectos no deseados consecuentes al proceso inflamatorio del tejido lesionado, sin embargo, una inhibición sinérgica de ambas isoformas resulta en la presencia de efectos colaterales que son consecuencia de la disminución en la síntesis de prostaglandinas, prostaciclina y tromboxanos (Pérez y col., 2002). Se ha encontrado, que estos efectos colaterales son mayormente atribuidos a la disminución de las prostaglandinas producidas por COX-1, que se encuentran en el organismo de manera constante y cumplen una función fisiológica resultando en efectos como, la hemostasia, la función renal y la protección de la mucosa gastrointestinal (De Campos, 2019).

1.2 Oxicames

Los oxicames son una familia de fármacos antiinflamatorios no esteroideos que se caracterizan estructuralmente por ser derivados del ácido enólico de 4-hidroxi-1,2-benzotiazina carboxamidas. Esta se distingue del resto de los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) no solo por su estructura, sino, porque presenta un sitio de unión diferente al sitio activo de COX (Xu y col., 2014).

La familia de los oxicames está compuesta por 6 fármacos; piroxicam, tenoxicam, isoxicam, lornoxicam, droxicam y meloxicam (Figura 1) (Vardanyan y Hruby, 2016). Históricamente, el piroxicam es el primer fármaco de esta familia, este fue puesto en venta bajo la denominación comercial de Feldene por la compañía Pfizer 1982 en Estados Unidos, teniendo una aceptación terapéutica inmediata en el mercado al grado de convertirse en uno de los 50 medicamentos más recetados por múltiples años. Posteriormente, se introdujeron el resto de los miembros de esta familia; oxicam, incluidos isoxicam, meloxicam, tenoxicam y lornoxicam, cuya aplicación clínica consiste principalmente en el tratamiento de la inflamación tanto aguda como crónica al inhibir la actividad de las dos isoformas de ciclooxigenasa (COX), COX-1 y COX-2 (Xu y col., 2014).

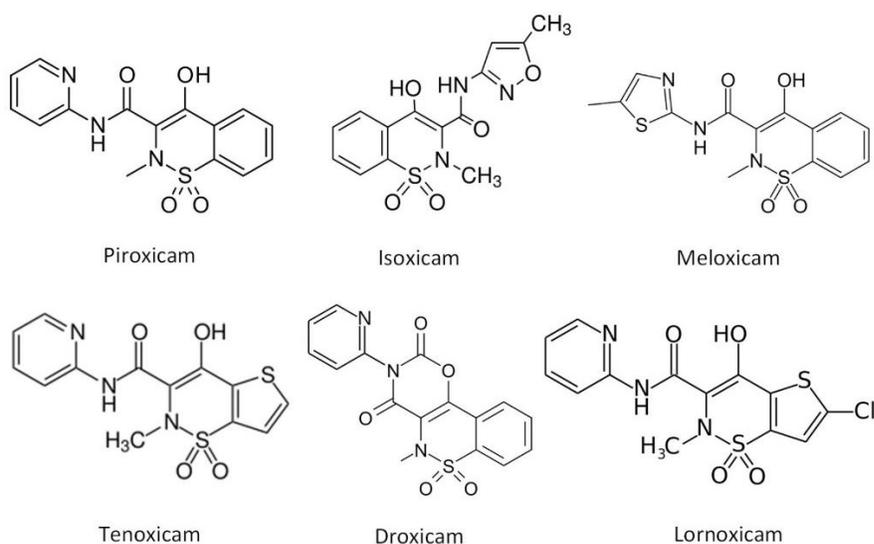


Figura 1. Familia de los oxicames (Xu y col., 2014).

1.3 Meloxicam

Como se ha mencionado con anterioridad, muchos de los AINEs presentan un efecto inhibitor no selectivo sobre las isoformas de la ciclooxigenasa (COX-1 y COX-2), lo que da como resultado la inhibición de la producción de prostaglandinas constitutivas en algunos tejidos, como mucosa gastrointestinal, pudiendo causar gastroduodenitis, úlcera gástrica y sangrado digestivo (De Campos, 2019). La existencia y conocimiento de las dos isoformas de la COX, así como sus diferentes funciones, ha permitido el desarrollo de nuevos fármacos que inhiben selectivamente la COX-2 los cuales en teoría poseen la misma eficacia antiinflamatoria de los AINEs no selectivos, pero sin presentar los clásicos efectos secundarios asociados a su consumo (Clària, 2001), pese a que esta teoría no es completamente cierta, experimental y clínicamente se ha observado que hay una reducción de la incidencia de los efectos gastrointestinales severos lo que es de importancia clínica para su indicación (De Campos, 2019).

Dentro de estos AINEs, se encuentra uno de los miembros de los oxicames; meloxicam (MLC), 4 - hidroxí - 2 - metil - N - (5 - metil - 2 tiazolil) - 2 H - 1, 2 - benzotiazina - 3 - carboxamida - 1,1 - dioxida (Figura 2) el cual no es selectivo a una de las isoformas de la COX, sin embargo, presenta una actividad inhibitoria enzimática preferencial por COX-2 debido a su alta afinidad por esta isoforma (De Campos, 2019; Lemke y Williams, 2013). Al ser un AINE COX-2 preferencial, genera la inhibición de la síntesis de prostaglandinas, resultando en la inhibición del proceso inflamatorio (Mahood y Najm, 2019). Este fármaco está aprobado para su venta en más de 80 países incluyendo México, siendo principalmente indicado para el tratamiento de la artritis reumatoide, osteoartritis y la espondilitis anquilosante más no se limita solo a estas, ya que de acuerdo al Diccionario de Especialidades Farmacéuticas el meloxicam también es indicado en el tratamiento de periartrosis de las articulaciones escapulohumeral y coxofemoral, dolor, inflamación por traumatismos o gota, distensiones musculares, dismenorrea primaria y en los

procesos inflamatorios en tejidos blandos de las vías respiratorias (De Campos, 2019; PLM, 2016).

La eficacia del meloxicam como antiinflamatorio ha sido probada en diversos estudios, en donde se ha observado que su eficacia es equiparable a otros AINEs no selectivos como; diclofenaco, meloxicam, naproxeno, celecoxib, rofecoxib, en la reducción de la inflamación y el dolor debidos a enfermedades como la artrosis, artritis reumatoide, así como las de origen músculo esquelético (Clària, 2001; De Campos, 2019). Respecto a su tolerancia gastrointestinal se ha encontrado que este presenta una menor incidencia respecto a diversos AINEs no selectivos como; diclofenaco, piroxicam, meloxicam, naproxeno, celecoxib, rofecoxib, lo que implica una mayor tolerancia gastrointestinal considerando la dispepsia, náuseas y vómitos, dolor abdominal y diarrea como parámetros evaluados, igualmente en otros estudios se ha demostrado que el meloxicam presenta mayor seguridad gastrointestinal, debido a que presenta un margen terapéutico superior sobre los demás AINEs de acuerdo a los resultados de las dosis efectivas ulcero génicas y antiinflamatorias determinadas en modelos experimentales en ratas con artritis (PLM, 2016).

Para finalizar con las ventajas terapéuticas y farmacológicas del meloxicam sobre otros antiinflamatorios no esteroideos, es importante mencionar que este fármaco presenta un efecto no significativo en la agregación plaquetaria en sujetos sanos y pacientes artríticos, además de presentar una mayor tolerancia en pacientes con intolerancia (manifestada como hipersensibilidad de tipo cutánea y/o respiratorio) a AINEs (Clària, 2001; De Campos, 2019). De acuerdo con lo anterior, el meloxicam es un AINE con un equilibrio entre la eficacia y seguridad asociada a su consumo.

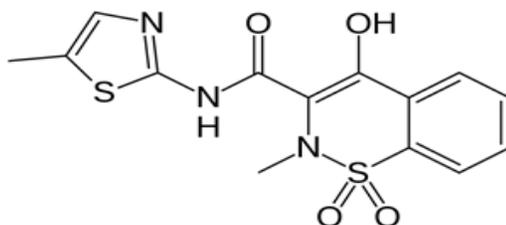


Figura 2. Estructura química del Meloxicam (MLC) (Gris y col., 2009).

1.3.1 Toxicidad

La farmacocinética ha demostrado que el meloxicam tiene una buena biodisponibilidad cuando se administra una vez al día. La concentración en estado de equilibrio de 7.5 y 15 mg/día después de la administración se alcanza después de 3 a 5 días, y la vida media de eliminación es de 20 horas. El meloxicam se une ampliamente a las proteínas séricas (99%) y se metaboliza en el hígado (Velázquez de Campos, 2017).

La dosis recomendada de meloxicam es de 7.5 a 15 mg al día. Si se excede la dosis recomendada, al igual que otros antiinflamatorios no esteroideos, aumenta el riesgo de eventos tromboticos cardiovasculares graves, infarto de miocardio e ictus, así como aumenta la disposición del paciente a sufrir reacciones adversas al medicamento que incluyen: indigestión, vómitos, náuseas, dolor abdominal; además, se ha informado en la literatura que la aparición de perforación gastrointestinal superior, úlceras y sangrado es un evento dependiente de la dosis del fármaco (PLM, 2016).

1.4 Métodos tradicionales para la cuantificación de meloxicam

Los métodos tradicionales de análisis, dentro de los cuales se consideran aquellas técnicas de carácter cuantitativo como la volumetría, cromatografía, espectrofotometría, etc. son métodos que, pese a ser altamente utilizados para su aplicación requieren de costosa instrumentación, así como un extenso tiempo de procesamiento de la muestra, puesto que para la realización de algunas de estas técnicas se requiere una extracción previa del analito (Ağın y Atal, 2019).

Dentro de las metodologías que resultan catalogadas como tradicionales, se encuentra la propuesta por la undécima edición de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos Tomo I, la cual consiste en un análisis de cromatografía líquida que precisa del uso de diversos solventes y reactivos, como dihidrógeno fosfato, metanol, solución de hidróxido de sodio, así como 4 compuestos de referencia estructuralmente relacionados al meloxicam. Lo anterior, hace que este método

resulte de costo elevado tanto por reactivos como por el equipo instrumental requerido, además, del impacto ecológico que puede presentar debido a que genera residuos (FEUM, 2014).

Dada la amplia indicación del meloxicam en el área clínica, así como las ventajas farmacológicas y terapéuticas que presenta respecto a otros antiinflamatorios no esteroideos, se han reportado múltiples técnicas analíticas para su determinación tanto en preparaciones farmacéuticas, principalmente tabletas, y en fluidos corporales, principalmente orina y sangre, como cromatografía líquida de alta resolución (Ji y col., 2005), cromatografía en capa fina, análisis espectrofotométricos por inyección de flujo (Al-Momani, 2006), métodos fluorométricos y espectrofotométricos (Ağın y Atal, 2019), dentro de este último se destaca el trabajo de Hasan y colaboradores, quienes desarrollaron un método para la determinación de meloxicam utilizando la técnica de espectrofotometría UV (Hasan y col., 2015).

Con la finalidad de evitar inconvenientes en el análisis de diversos analitos, en los últimos años diversos autores han optado por el desarrollo de nuevos métodos fundamentados en técnicas electroquímicas (Ağın y Atal, 2019; Mahood y Najm 2019). Al día de hoy, se han reportado técnicas electroanalíticas selectivas para la familia de los oxicames, siendo su alta sensibilidad, bajo costo, fácil manejo y rápido tiempo de respuesta grandes ventajas frente a los métodos mencionados, además de ser métodos que no requieren el pretratamiento de la muestra sin afectar el amplio rango de linealidad que las caracteriza (Ağın y Atal, 2019; Leniart y col., 2016).

1.5 Voltamperometría

Las técnicas electroanalíticas son consideradas como una eficiente alternativa dado que estas técnicas proporcionan ventajas relacionadas al análisis de trazas, así mismo, tiene simplicidad operativa, bajo costo de instrumentación, sensibilidad eficaz, tiempo de análisis más corto comparado con otros métodos, amplio rango de concentración lineal y además es adecuado para la detección en tiempo real, dentro

de las técnicas electroanalíticas comúnmente utilizadas se encuentran las técnicas voltamperométricas (Leniart y col., 2016).

La voltamperometría es conocida como el estudio de la corriente que se encuentra en función del potencial aplicado y a su vez, es una categoría de métodos electroanalíticos utilizados en química analítica, así como en diversos procesos industriales (Saito, 2014). En esta técnica, el potencial es escaneado desde un potencial menor hasta llegar a un potencial mayor, posteriormente se realiza la inversión de la dirección del escaneo de potencial y este, generalmente, vuelve al potencial de inicio. La repetición de este ciclo proporciona información bastante útil con respecto a la estabilidad de los compuestos orgánicos que se analizan, pues el escaneo va a depender del nivel “redox” del material que ha sido sometido a análisis (Forster y Cumba, 2019). Estas técnicas voltamétricas se han realizado con éxito para el análisis voltamétrico de diferentes compuestos y metales que son biológicamente activos (Leniart y col., 2016).

En esta técnica se tiene como herramienta principal el uso de electrodos. Los electrodos tienen como papel principal recolectar los electrones que se encuentran en la cámara del ánodo para posteriormente reducirse en los electrodos ubicados en la cámara del cátodo. El área superficial, la estabilidad química y la conductividad eléctrica de diversos materiales que son utilizados como electrodos tienen un impacto determinante en la resistencia a los electrodos, la fijación microbiana, la transferencia de electrones y la tasa de reacción de la superficie del electrodo, por lo tanto, influyen directamente en el rendimiento del sistema (Velvizhi y col., 2019).

Para poder ejecutar el análisis sobre qué sucede con la corriente que está circulando en el sistema a medida que se realizan modificaciones al potencial del electrodo, es necesario ejecutar un sistema de tres electrodos, los cuales son: uno de trabajo, uno de referencia y uno auxiliar. El electrodo de trabajo es aquel que hace contacto directo con el analito, en este se debe aplicar el potencial deseado de una forma controlada para de esta manera facilitar la transferencia de electrones desde o hacia el analito. Por otra parte, el electrodo de referencia es aquel que tiene un potencial

constante. Y finalmente, el electrodo auxiliar o también conocido como "contraelectrodo", es un espiral de hilo de platino o un depósito de mercurio que funciona como conductor de la electricidad desde la fuente a través de la disolución al electrodo de trabajo (Gómez-Biedma y col., 2002).

1.5.1 Voltamperometría cíclica

La voltamperometría cíclica es una técnica electroquímica que se ha utilizado para llevar a cabo diversos estudios a nivel científico en diversas áreas. Esta técnica muestra una serie de picos catódicos y anódicos, que representan las respectivas reacciones de reducción y oxidación, mismas que ocurren durante el ciclo de potencial (Arzaee y col., 2021).

En este tipo de técnica se aplica al electrodo de trabajo una forma de onda triangular como se muestra en la Figura 3. Después de haberse aplicado una rampa de voltaje lineal entre el tiempo t_0 y t_1 (generalmente es durante pocos segundos) se invierte la rampa y de esta manera volver a llevar el potencial a su valor inicial en un tiempo t_2 (Harris, 2007).

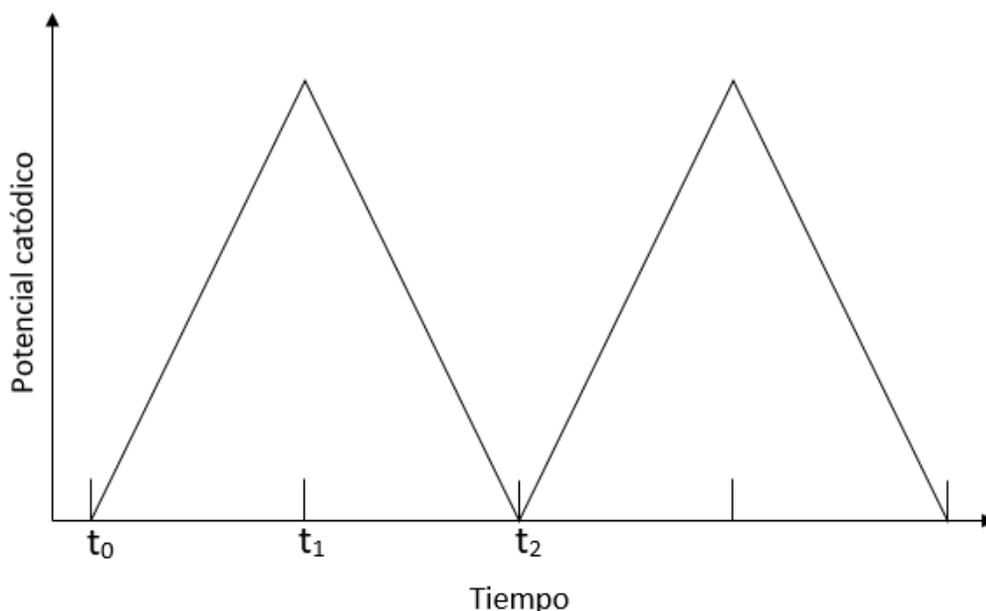


Figura 3. Forma de la onda para voltamperometría cíclica (Harris, 2007).

El voltamperograma obtenido en esta técnica se puede presentar con una onda catódica y/o una onda anódica. En la onda catódica, en lugar de estabilizarse el valor máximo de la onda (respecto a t_0), disminuye la corriente a medida que incrementa el potencial. Este decremento se debe a que el analito desaparece en las proximidades del electrodo con motivo de la poca difusión presente. Cuando el pico de voltaje (t_1) ha alcanzado la corriente catódica se provoca una disminución hasta un valor inferior, posteriormente se invierte el potencial y finalmente, se oxida el producto reducido que se encuentra cerca del electrodo, dando lugar a la onda anódica. En el caso de reacciones reversibles, ambas ondas presentan la misma magnitud (Harris, 2007). Los parámetros importantes de un voltamperograma cíclico son las magnitudes de los picos de corriente intensidad de pico anódico (I_{pa}) e intensidad de pico catódico (I_{pc}) y los potenciales de pico anódico (E_{pa}) y el potencial de pico catódico (E_{pc}) (Mayanna, 1987).

La voltamperometría cíclica, se realiza principalmente para poder caracterizar el comportamiento óxido-reducción de diversos compuestos y, así mismo, para esclarecer la cinética de las reacciones presentes en el electrodo (Harris, 2007). De igual manera, se ha dedicado un trabajo extenso para investigar la electroquímica del óxido de hierro, incluido el análisis del comportamiento óxido-reducción, la caracterización de materiales y la fabricación de película delgada (Arzaee y col., 2021). En los últimos años y gracias a las ventajas de análisis que esta técnica proporciona ha sido posible utilizarla para el desarrollo de métodos analíticos que tienen como objetivo cuantificar una gran variedad de fármacos, entre ellos se encuentra el piroxicam (Ağın y Atal, 2019).

1.5.2 Electrodo de trabajo

El electrodo de trabajo es un factor clave porque guía el proceso de la reacción electroquímica acorde a sus características: material, superficie adsorbente, entre otras. El electrodo de trabajo debe ser estable a la corrosión y puede mejorarse mediante aditivos o tratamientos superficiales. Para la electrólisis en masa, se selecciona una alta relación área superficial/volumen para reducir el tiempo de

electrólisis. Los electrodos pueden estar hechos de malla, espuma, metal expandido, mercurio líquido, materiales porosos, lana, etc. Un electrodo bien diseñado puede tener un área efectiva miles de veces más grande que el área geométrica, esta es una medida conocida como factor de rugosidad en la que la corriente se mide cuando el voltaje del electrodo se recorre en "bicicleta" en un rango pequeño (típicamente 100 mV) alrededor del potencial de circuito abierto, esta medición se basa en el principio generalmente aceptado de que el coeficiente de rugosidad es proporcional al área de la carga electroquímica del electrodo, que a su vez es proporcional a la capacitancia de doble capa. Una porosidad alta es clave para el rendimiento de muchos dispositivos electroquímicos comunes (Gannon y Dunnill, 2020).

La creciente demanda de electrodos desechables flexibles en sistemas analíticos está impulsando el crecimiento del uso de dispositivos pequeños que son confiables, económicos y fáciles de fabricar. Estos dispositivos se aplican a una amplia gama de sensores en muchos campos y están atrayendo gran atención en los sistemas portátiles de prueba. Los electrodos desechables generalmente se fabrican recubriendo el material conductor con un medio plano como cerámica, vidrio, alúmina o acrílico. Sin embargo, la mayoría de estos tipos de medios tienen ciertas limitaciones debido a que puede resultar engorroso y caro (Kongkaew y col., 2021).

Regularmente se emplean materiales como acero inoxidable, tantalio, molibdeno, tungsteno, platino e iridio como materiales potenciales de electrodo de trabajo debido a que están basados en su inercia química, resistencia a la corrosión y sensibilidad (Williams y col., 2021).

Hay materiales adicionales de electrodo más populares para la reducción: mercurio, plomo, titanio y platino. La elección del ánodo es limitada porque la mayoría de los metales se corroen anódicamente. En el laboratorio, la mayoría de los electrodos están hechos de platino, oro o carbono. Los ánodos exóticos como el dióxido de plomo o DSA (Ánodo Dimensionalmente Estable como Ti/RuO) se han desarrollado para la electroquímica orgánica o de cloro (Cassoux y col., 2003).

1.5.3 Electrodo de carbón vítreo

Es imperativo elegir un material de electrodo conveniente con características como por ejemplo biocompatibilidad, naturaleza no fósil, características eficientes de descarga de electrones, alta porosidad y sostenibilidad a lo largo de un periodo de tiempo para el manejo (Velvizhi y col., 2019).

Varios tipos de electrodos a base de carbono se usan en sistemas de electroanálisis. Integran carbono negro, pasta de carbono, electrodos de grafeno y carbón vítreo (Kongkaew y col., 2021). Este último se crea por medio de la degradación térmica de resinas poliméricas seleccionadas. La resina precursora se cura, se carboniza demasiado lento y después se calienta a temperaturas altas. Las características físicas del carbón vítreo, un carbono no grafitizante, principalmente están sujetas a la temperatura máxima de procedimiento térmico, que puede variar de 873 a 3273 K. Además de una seguridad térmica bastante alta, sus características distintivas integran su extrema resistencia al ataque químico: se demostró que las tasas de oxidación del carbono vidrioso en oxígeno, dióxido de carbono o vapor de agua son menos que las de algún otro carbono. Los carbonos vítreos poseen escasa área accesible y una densidad subjetivamente baja (aproximadamente 1.5 g/cm). Esto se atribuye a la existencia de un volumen relevante de poros aislados “cerrados” (alrededor de 30% v/v). Dichos poros son típicamente de 1 a 5 nm de tamaño y se forman por las cavidades creadas por hojas de grafeno orientadas al azar y entrelazadas (Serp, 2013); por lo cual se indica hacer modificaciones para aumentar el área de trabajo. La composición resultante es bastante tiesa y otorga carbonos vidriosos con resistencias a la tracción y la compresión que acostumbran a ser más altas que las del grafito (Serp, 2013).

El electrodo de carbón vítreo pertenece a los electrodos de uso más recurrente en la química electroanalítica gracias a sus características únicas. Este electrodo está elaborado de electrodo de bajo precio, exhibe estupenda electricidad y características mecánicas, como alta seguridad química, extenso rango de potencial,

extrema inercia química, alta resistencia al ataque de ácido, impermeabilidad a gases y rendimiento subjetivamente reproducible (Duan y col., 2013; Leniart y col., 2016).

1.5.3.1 Nanotubos de carbono de pared múltiple

Recientemente se han desarrollado novedosas modificaciones de electrodos, convirtiéndolos en materiales más sensibles, en su mayoría estas modificaciones se realizan utilizando nanopartículas, por lo que, esto ha atraído un gran interés en el campo de las determinaciones de fármacos. Esto se debe a sus propiedades con buenas actividades catalíticas y aplicaciones potenciales en varios análisis. Las nanopartículas poseen características distintas a las que presentan los materiales a granel y por tanto, estas nanopartículas como modificadores, tienen propiedades extraordinarias en el análisis, como buenas conductividades, destacadas actividades electrocatalíticas, propiedades ópticas y magnéticas, etc. Considerando lo anterior, se ha establecido que el desarrollo de electrodos modificados con nanopartículas tiene una gran variedad de posibilidades y a su vez, entre las más importantes ventajas, se encuentra su fácil fabricación, bajo costo, alta sensibilidad, mejor reproducibilidad, e incluso relacionarse en cuestiones ecológicas, entre otras. Por este motivo, se ha tomado mayor importancia a lo largo de los años al desarrollo de la modificación de electrodos con nanomateriales. (Manjunatha y col., 2018).

Dentro de la clasificación de nanomateriales existe un material denominado nanotubos de carbono (CNT) o “tubos Bucky”, el cual fue descubierto a principio de la década de 1990 por Iijima, desde entonces se ha considerado como uno de los nanomateriales de los más atractivos y de alto interés científico (Moosavi y col., 2011).

Los nanotubos de carbono son alótropos del carbono, como también es el caso del diamante, el grafito o los fulerenos. La estructura que posee puede ser originada a partir de una lámina de grafeno que se encuentra enrollada sobre sí misma. Dependiendo cómo esté enrollado este material, así como también, la manera en

cómo está estructurada la lámina, serán las propiedades determinantes para que se establezca el diámetro y la geometría del nanomaterial (Andrade-Guel y col., 2012).

De acuerdo a las capas de grafito formadas, existirán distintos tipos de CNT, los cuales pueden ser de dos tipos: 1) nanotubos de carbono de pared sencilla (SWCNT por sus siglas en inglés) y 2) nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT), estos se pueden considerar como capas de láminas de grafito enrolladas de forma concéntrica, donde cada átomo de carbono está directamente unido con otros tres átomos de carbonos mediante hibridación tipo sp^2 , como se muestra en la Figura 4 (Andrade-Guel y col., 2012).

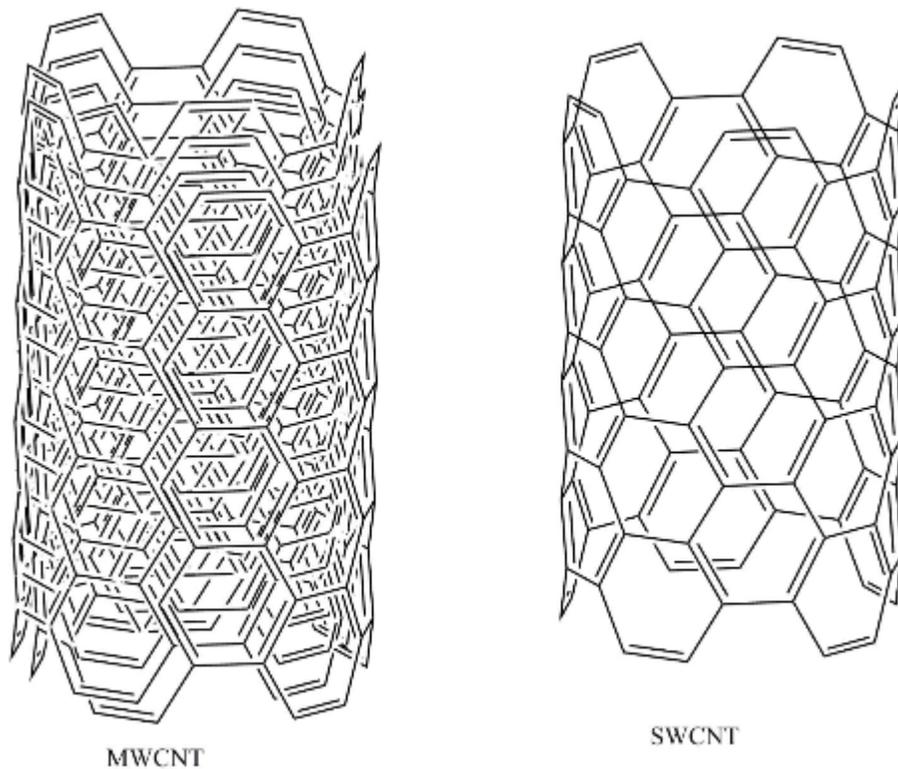


Figura 4. Nanotubos de pared simple (SWCNT) y de pared múltiple (MWCNT) (Andrade-Guel y col., 2012).

Estos nanomateriales han presentado interesantes propiedades físicas como son su densidad, resistencia y conductividad térmica, las cuales cautivan la atención de los investigadores para la creación de novedosos nanomateriales, por ejemplo, se han

desarrollado materiales a base de MWCNT y algunos otros polímeros con múltiples aplicaciones (Andrade-Guel y col., 2012).

Los CNT tienen importantes aplicaciones, estos pueden ser utilizados como biosensores, transportadores de fármacos e incluso poseen características para actuar como agentes con propiedad antimicrobiana (Andrade-Guel y col., 2012).

Como consecuencia de las propiedades que poseen los MWCNT se ha logrado utilizar este nanomaterial en sensores electroquímicos para determinaciones de diversos compuestos. Los MWCNT representan un grupo importante de materiales a nanoescala con propiedades singulares, como alta electricidad conductividad, alta estabilidad química, alta conductividad eléctrica, alta relación superficie-volumen, y alta capacidad de adsorción, que, gracias a esto ha resultado en mayor sensibilidad de los sensores, por lo tanto, se encuentran cada vez más aplicaciones en la investigación y, además, genera resultados impresionantes en procesos de química electroanalítica. En los últimos años, se han llevado a cabo estrategias para diseñar, preparar y desarrollar sensores electroquímicos modificados con MWCNT con motivo de que los CNT pueden enriquecer las propiedades eléctricas y mecánicas de los compuestos desarrollados en corrientes pico más altas y un sobrepotencial más bajo (Leniart y col., 2016; Abdul-Rahim y col., 2018).

Además, los electrodos modificados por MWCNT han demostrado poseer características electrocatalíticas y una mayor sensibilidad en la detección de analitos. Las características mejoradas surgen de la gran superficie y la buena conductividad de los MWCNT (Leniart y col., 2016; Beitollahi y col., 2018; Samiul y col., 2018; Kamran y col., 2019).

1.6 Normas Mexicanas relacionadas a la industria farmacéutica.

La Norma Oficial Mexicana tiene por objetivo establecer reglas, lineamientos, especificaciones y características de un producto, servicio o proceso. Es de carácter obligatorio el cumplimiento de las Normas Oficiales Mexicanas (NOM) para todos aquellos productores, fabricantes, importadores y prestadores de servicios, debido a

que con el cumplimiento de esta normatividad otorgan al consumidor seguridad y confianza en los productos que adquieren (Secretaría de Salud, 2015).

Para el caso de la industria farmacéutica también se tienen normas que rigen los procesos, como la fabricación de medicamentos, requisitos de sanidad, buenas prácticas de laboratorio, estabilidad de los medicamentos, (Secretaría de Salud, 2015) entre otras, estas pueden ser encontradas dentro de la Norma Oficial Mexicana, como NOM-176-SSA1-1998, NOM-059-SSA1-1993, NOM-073-SSA1-2005, NOM-177-SSA1-1998 y NOM-164-SSA1-2015, sin embargo, estas normas no indican un método específico por el cual se puedan cuantificar los fármacos y por tanto, carecen de parámetros de validación establecidos como límite de cuantificación, límite de detección, sensibilidad, etc., dado que únicamente muestran un porcentaje que no debe ser sobrepasado, limitando a conocer las cantidades a las cuales se debe manejar correctamente el fármaco, pero estos parámetros dependen del método e instrumento a utilizar. La única guía para conocer el método correcto a utilizar en la determinación de un fármaco es la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, en la cual se encuentra el método farmacopéico descrito anteriormente que, como se ha mencionado, posee múltiples complicaciones respecto a tiempo, costo y accesibilidad.

1.7 Validación de un método analítico

Existen diversas pautas de validación de métodos analíticos para la correcta ejecución del proceso, estos documentos están estrechamente relacionados según el lugar de residencia, por lo que pueden tener diferentes parámetros de validación. En este trabajo se utilizó la segunda edición de la "Guía de Laboratorio para la Validación de Métodos y Temas Relacionados" publicada por el Centro Nacional de Metrología (Centro Nacional de Metrología, 2005) en su segunda edición.

La validación del método es el procedimiento en el que se definen los requisitos de análisis y se ratifica que el método en cuestión tiene un desempeño congruente con el desempeño requerido por la aplicación. Para ello, se establecen parámetros según

el grado de verificación requerido por el método. Los parámetros para realizar la validación completa de un método analítico consisten generalmente en la determinación de confirmación de la identidad, selectividad, límite de detección, límite de cuantificación, recuperaciones, intervalo de trabajo, intervalo lineal, exactitud, veracidad, precisión de repetibilidad, precisión y robustez. Está implícito que los estudios para determinar los parámetros de rendimiento se realizan con equipos que cumplen con las especificaciones, funcionan correctamente y están debidamente calibrados. Asimismo, el operador que realiza la investigación debe tener capacidades técnicas en el campo de trabajo en estudio, y debe tener un conocimiento suficiente del trabajo a realizar para poder tomar decisiones adecuadas basadas en observaciones durante el proceso de investigación. (Centro Nacional de Metrología, 2005).

Por tal motivo es necesario llevar a cabo, bajo condiciones óptimas, el proceso de validación, pues los parámetros establecidos ayudarán a que el método propuesto pueda llevarse a cabo por diferentes personas y obtener resultados similares o iguales al método validado.

Como se ha mencionado, actualmente existen otros métodos alternativos al establecido por la farmacopea, denominados “no farmacopéicos” para la cuantificación de fármacos, sin embargo, estos métodos no han sido totalmente validados e incluso algunos han resultado no ser convenientes hablando experimentalmente, de manera que en este trabajo se busca desarrollar y validar un método que ayude a la cuantificación del fármaco Meloxicam de manera práctica y rápida siguiendo una guía de validación mexicana establecida por el Centro Nacional de Metrología.

2. HIPÓTESIS

El uso de un electrodo de trabajo modificado con nanotubos de carbono de pared múltiple permite la cuantificación de meloxicam en una solución acuosa a concentración 5×10^{-4} M por un método voltamperométrico de manera selectiva.

3. OBJETIVOS

3.1 General

Desarrollar y validar un método voltamperométrico para la determinación de Meloxicam utilizando un electrodo de carbón vítreo modificado con nanotubos de carbono de pared múltiple.

3.2 Específicos

- Realizar y evaluar la modificación superficial del electrodo de trabajo con nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT) con el fin de determinar las condiciones ideales del barrido de potencial para el desarrollo del método.
- Evaluar la identidad y selectividad del método para la determinación de meloxicam en presencia de un AINE estructuralmente diferente (Ibuprofeno).
- Establecer el intervalo de trabajo y linealidad, puntualizando a su vez el límite de detección y cuantificación del método en la determinación de meloxicam.
- Evaluar la exactitud y la veracidad del método, así como determinar la precisión evaluando la repetibilidad y reproducibilidad del método en la cuantificación del meloxicam.
- Evaluar la robustez del método a partir de la modificación de la variable pH, así mismo, determinar el porcentaje de recuperación del analito en diferentes concentraciones.
- Aplicar el método propuesto para la cuantificación de meloxicam en la presentación farmacéutica de tableta.

4. METODOLOGÍA

4.1 Materiales

4.1.1 Reactivos

Estándar analítico secundario de meloxicam certificado como material de referencia por Sigma-Aldrich, metanol, solución buffer de acetatos 1 M a pH 5.5, nanotubos de carbono de pared múltiple (proveniente de la empresa MERCK) N, N-dimetilformamida (DMF), agua destilada, y ácido clorhídrico.

4.1.2 Materiales de laboratorio

Se usó material de vidrio común de laboratorio (vasos de precipitado, matraces, probetas, etc.), una celda de cuarzo (1 x 1 x 4.5 cm) y tres electrodos: electrodo de Ag/AgCl (saturado KCl) como electrodo de referencia, alambre de platino como contraelectrodo y un electrodo de GC/MWCNT como electrodo de trabajo.

4.1.3 Equipo

Se utilizó una balanza analítica para asegurar la cantidad de principio activo utilizado, un potenciostato (Biologic modelo VSP-300) y un espectrofotómetro UV-Vis (HEWLETT PACKARD 8453).

4.2 Métodos

4.2.1 Preparación de la solución estándar

Se preparó una solución estándar de Meloxicam (3×10^{-3} M), disolviendo 0.1054 g de un estándar analítico secundario de meloxicam certificado como material de referencia por Sigma-Aldrich en metanol al 95% en un matraz volumétrico de 100 mL (Ağın y Atal, 2019).

4.2.2 Modificación superficial del electrodo de trabajo

Se prepararon dos soluciones de nanotubos de carbono (MWCNT), para ello se dispersaron 15 y 20 mg de MWCNT sólidos en 15 mL de N, N-dimetilformamida (DMF) en su respectivo matraz Erlenmeyer, después se sonicaron las soluciones durante 5 minutos hasta obtener una suspensión homogénea. Se pulieron manualmente dos electrodos de carbón vítreo utilizando una solución 0.3 μM de óxido de aluminio y después se lavaron con agua destilada. Posteriormente, se sumergieron los electrodos de trabajo en agua y se sonicaron por 5 minutos, se dejaron secar los electrodos de trabajo a temperatura ambiente. Finalmente, se prepararon los electrodos de trabajo GC/MWCNT dejando caer 8 μL de la suspensión homogeneizada de MWCNT sobre los electrodos de carbón vítreo utilizando una micropipeta. Después, se dejaron secar los electrodos modificados a temperatura ambiente por 24 horas, para evaporar el disolvente (Ağın y Atal, 2019). Una vez establecida la concentración de MWCNT óptima, se realizó la modificación del electrodo de trabajo cada día de experimentación con la finalidad de evitar pérdida de MWCNT o acumulación del analito de interés en el electrodo.

4.2.3 Desarrollo del método

Se realizó la determinación de 5 soluciones de referencia de Meloxicam de concentración conocida dentro del intervalo de $1 \times 10^{-8} \text{ M} - 1 \times 10^{-3} \text{ M}$ mediante la técnica voltamétrica utilizando un potenciostato, con una celda electroquímica de tres electrodos: Ag/AgCl (saturado KCl) como electrodo de referencia, alambre de platino como contraelectrodo y un electrodo de GC/MWCNT como electrodo de trabajo. Para la medición de la solución estándar del medicamento, las mediciones electroquímicas se llevaron a cabo de acuerdo con lo indicado en el Cuadro 2, hasta encontrar las condiciones óptimas de barrido de potencial para los electrodos de trabajo modificados anteriormente (Beltagi y col., 2002).

Cuadro 2. Condiciones de las mediciones voltamperométricas (Ağın y Atal, 2019).

Parámetro	Valores
Temperatura	24°C
Ventana de potencial	-0.4 V a 1.0 V
Electrolito soporte	Buffer de acetatos 1 M, pH 5.5.

4.3 Diseño experimental

4.3.1 Validación del método

4.3.1.1 Confirmación de la identidad y selectividad

Se analizó un punto de la curva de calibración la cual se midió por triplicado mediante el método a desarrollar y el método propuesto por la undécima edición de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos Tomo I que consiste en la preparación de la muestra (10 µg/mL en metanol) correspondiente con el de la preparación de una solución de referencia de meloxicam, midiéndose en un intervalo de 240 y 450 nm en el espectro UV (FEUM, 2014).

Posterior a ello se evaluó la selectividad del método en desarrollo mediante el análisis de una muestra problema que contenga interferencias sospechadas en presencia del analito de interés (Centro Nacional de Metrología, 2005). En este trabajo, se hizo uso de otro antiinflamatorio no esteroideo no relacionado estructuralmente con el analito de interés: El Ibuprofeno (IBP), a concentración de 3×10^{-3} M.

4.3.1.2 Determinación de intervalo de trabajo y linealidad

Se midió la corriente generada durante el barrido de potencial del blanco más 10 soluciones de muestra (solución estándar de Meloxicam) de concentración conocida en el intervalo 1×10^{-6} - 5×10^{-3} M, una vez cada uno, mezclándose a su vez con el electrolito soporte (Solución buffer de acetato 1M, pH de 5.5). Se graficó la respuesta

de medición (intensidad de corriente) en el eje Y contra la concentración del mensurando en el eje X y se observó el punto donde la respuesta no fue directamente proporcional a la intensidad de corriente para identificar el intervalo lineal aproximado y los límites superior e inferior del intervalo de trabajo (Centro Nacional de Metrología, 2005).

Después, se midieron los materiales de referencia o blancos de muestra fortificados a 6 concentraciones dentro del intervalo lineal diluyéndose con el electrolito soporte (solución buffer de acetato 1 M, pH de 5.5). Se graficaron la intensidad (eje y) contra la concentración del mensurando (eje x), se examinaron visualmente para identificar valores aberrantes (“outliers”) y se calculó el coeficiente apropiado de regresión, así como también los valores residuales (Centro Nacional de Metrología, 2005).

4.3.1.3 Determinación del límite de detección

Se midieron 10 blancos fortificados independientes los cuales son materiales o soluciones en los que el analito fue adicionado a valores conocidos a la menor concentración aceptable establecido en el intervalo de trabajo, medidos una vez cada uno mezclándose con el electrolito de soporte bajo condiciones de repetibilidad, es decir: mismo analista, equipo y laboratorio en un periodo de tiempo corto (Centro Nacional de Metrología, 2005).

Se expresó el límite de detección (LoD) de acuerdo con la siguiente expresión matemática (Centro Nacional de Metrología, 2005).

$$LoD = \bar{X} + 3S$$

Donde:

\bar{X} = Valor promedio de las concentraciones de los blancos fortificados.

S = Desviación estándar.

4.3.1.4 Determinación del límite de cuantificación

Se midieron 10 blancos fortificados independientes a la menor concentración aceptable establecido en el intervalo de trabajo, medidos una vez cada uno mezclándose a un volumen de 10 mL con el electrolito soporte bajo condiciones de repetibilidad, es decir: mismo analista, equipo y laboratorio en un periodo de tiempo corto (Centro Nacional de Metrología, 2005).

Se expresó el límite de cuantificación (LoQ) de acuerdo con la siguiente expresión matemática (Centro Nacional de Metrología, 2005).

$$LoQ = \bar{X} + 5S$$

Donde:

\bar{X} = Valor promedio de las concentraciones de los blancos fortificados.

S = Desviación estándar.

4.3.1.5 Determinación de la exactitud y veracidad

Utilizando una solución de referencia de concentración conocida, se determinó la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación realizando el barrido de potencial de una serie de 10 réplicas de la muestra y se comparó contra el valor caracterizado del material de referencia mediante el análisis con el método propuesto y un método primario (Centro Nacional de Metrología, 2005) siendo en este caso, el desarrollado y validado por Hasan y colaboradores que se describe a continuación:

4.3.1.5.1 Método espectrofotométrico UV

Se preparó una solución stock (500 µg/mL) disolviendo 50 mg de meloxicam utilizando un matraz volumétrico de 100 mL y se llevó a la línea de aforo con metanol-ácido clorhídrico 0.1 M.

Se realizó una dilución (120 µg/mL) tomando 2.4 mL de la solución stock (500 µg/mL) utilizando un matraz volumétrico de 10 mL y se llevó a la línea de aforo con una solución de metanol-ácido clorhídrico 0.1 M. A esta dilución se le realizó un barrido espectrofotométrico UV en el rango de 200-450 nm, se empleó una celda de cuarzo (1 x 1 x 4.5 cm) y se calibró el equipo utilizando metanol-ácido clorhídrico 0.1 M como blanco. Siguiendo las especificaciones de este método se obtuvo una longitud de onda de máxima absorción a 346 nm. Una vez realizado el barrido espectrofotométrico UV se llevó a cabo una curva de calibración diluyendo la solución stock a las siguientes concentraciones: 5×10^{-6} M, 8×10^{-6} M, 1×10^{-5} M, 5×10^{-5} M y 1×10^{-4} M. Se midió la absorbancia de estas diluciones utilizando una celda de cuarzo (1 x 1 x 4.5 cm) a una longitud de onda de 346 nm (Hasan y col., 2015).

4.3.1.6 Precisión: Repetibilidad y Reproducibilidad

Se analizó un blanco de muestra fortificada a diversas concentraciones dentro del intervalo de trabajo. Se realizaron 10 repeticiones bajo las siguientes condiciones:

- a) Mismo analista, equipo y laboratorio, en un período de tiempo corto. Se determinó la desviación estándar y coeficiente de variación a cada concentración.
- b) Diferente analista y equipo, mismo laboratorio, período de tiempo prolongado. Se determinó la desviación estándar y coeficiente de variación a cada concentración.

(Centro Nacional de Metrología, 2005)

4.3.1.7 Recuperaciones

Se midió un blanco de matriz (muestra no fortificada) y 5 muestras fortificadas con el analito de interés (Meloxicam) en una gama de concentraciones conocida en el intervalo 5×10^{-5} - 2×10^{-3} M por sextuplicado. Se determinó la recuperación del analito en las diferentes concentraciones establecidas (Centro Nacional de Metrología, 2005).

$$\text{Recuperación (\%)} = (100) \left(\frac{C1 - C2}{C3} \right)$$

Donde

C1 = concentración determinada en la muestra fortificada

C2 = concentración determinada en la muestra no fortificada

C3 = concentración de fortificación.

4.3.1.8 Pruebas de robustez

Se evaluó el efecto de la variable de pH a valores de 4.5 y 6.5 mediante el análisis de la corriente generada durante el barrido de potencial del blanco más 10 soluciones de muestra (solución estándar de Meloxicam) de concentración conocida en el intervalo 1×10^{-6} - 5×10^{-3} M para observar el efecto sobre la linealidad, intervalo de trabajo, límite de detección y cuantificación, exactitud, precisión (repetibilidad y reproducibilidad) y porcentaje de recuperaciones. (Centro Nacional de Metrología, 2005).

4.3.1.9 Evaluación del método para la cuantificación de meloxicam en formas farmacéuticas

Para la evaluación del método en la cuantificación del fármaco MLC en formas farmacéuticas se trituraron las tabletas comerciales y se tomaron 0.1299 g, posteriormente se disolvieron en metanol hasta tener un volumen de 100 mL, la solución preparada se sonicó por 3 minutos, una vez obtenida la solución se tomó una alícuota de 10 mL del sobrenadante claro y se mezcló con el electrolito soporte para su posterior cuantificación voltamperométrica (Ağın y Atal, 2019).

4.3.1.10 Análisis estadístico

Se realizó un análisis estadístico de tipo descriptivo con los resultados obtenidos en la voltamperometría, incluyendo media, desviación estándar y coeficiente de variación para observar la distribución de los datos, utilizando el software Origin Lab.

5. RESULTADOS

Los resultados iniciales para el desarrollo del método implicaron la determinación de la concentración ideal de MWCNT de acuerdo con la respuesta de potencial de pico anódico (i_{pa}) obtenida bajo las condiciones voltamperométricas establecidas anteriormente, el recubrimiento del electrodo de trabajo se realizó bajo condiciones de temperatura ambiente y tomando dos concentraciones de MWCNT, dichos resultados se muestran en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Modificación al electrodo de trabajo a diferentes concentraciones de MWCNT.

Concentración (M)	i_{pa} (nA)	
	2 mg	3 mg
1.00×10^{-3}	14,141.00	21,976.00
1.00×10^{-4}	3,782.00	7,164.00
1.00×10^{-5}	1,656.00	753.00
1.00×10^{-6}	163.10	64.12
1.00×10^{-7}	30.07	0
1.00×10^{-8}	0	0
Ecuación	$y = 0.671x + 6.2826$	$y = 0.8583x + 7.0827$
R^2	0.9673	0.9631

A partir de los resultados obtenidos en el Cuadro 3 se realizaron las representaciones gráficas del comportamiento de los nanotubos de carbono de pared múltiple pertenecientes al recubrimiento en el electrodo de trabajo, representadas en la Figura 5.

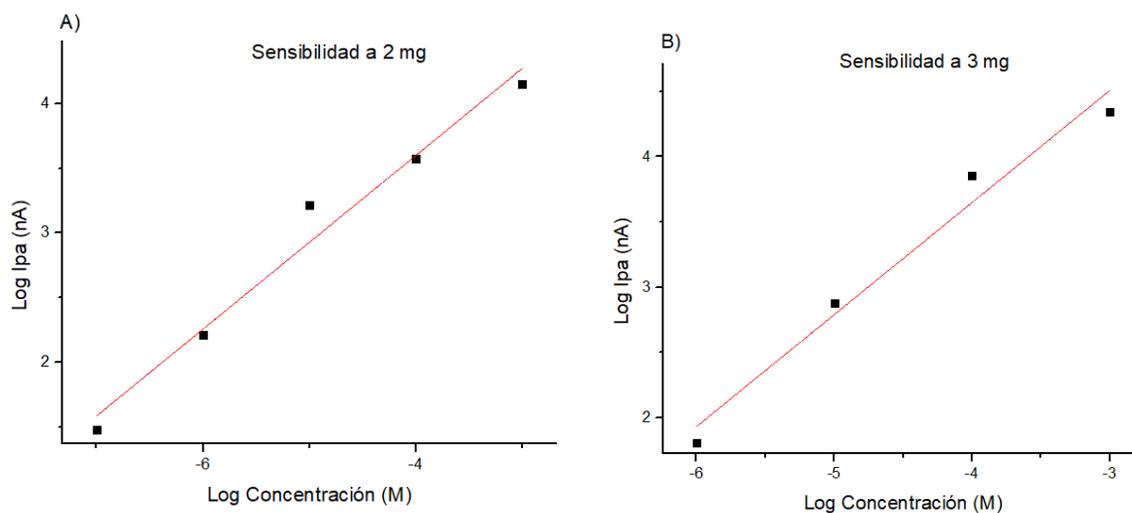


Figura 5. Sensibilidad MWCNT a diferentes concentraciones. A) Sensibilidad a 2 mg. B) Sensibilidad a 3 mg.

Para realizar la confirmación de la identidad del Meloxicam se realizó la medición del analito de interés bajo el método propuesto y un método primario establecido por la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, para cada uno de ellos se llevaron a cabo tres repeticiones, analizando el Potencial de Pico Anódico (Epa) y la absorbancia, presentadas en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Confirmación de la identidad.

Repeticiones	Concentración 5×10^{-5} M	
	Método desarrollado	Método FEUM
	Epa (V)	Absorbancia
1	0.601	0.26
2	0.605	0.26
3	0.599	0.26

Las condiciones del método propuesto obtenidas durante el desarrollo se muestran en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Condiciones del método desarrollado.

Parámetros	Valores
Temperatura	25°C
Ventana de potencial	-0.4 V a 1.0 V
Velocidad de barrido	200 mV/s
Electrolito soporte	Buffer de acetatos 1 M, pH 5.5

Una vez determinadas las condiciones del método propuesto para el Meloxicam (MLC), se establecieron las condiciones voltamperométricas para el analito secundario: Ibuprofeno (IBP), presentadas en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Condiciones de las mediciones voltamperométricas para Ibuprofeno (IBP).

Parámetros	Valores
Temperatura	25°C
Ventana de potencial	-1.0 V a 2.0 V
Velocidad de barrido	200 mV/s
Electrolito soporte	Buffer de acetatos 1 M, pH 5.5
Concentración	3×10^{-3} M

Se realizó la identidad del Ibuprofeno a partir del barrido voltamperométrico bajo las condiciones establecidas en el Cuadro 6, obteniéndose Potencial de pico anódico (Epa) y su correspondiente Intensidad de pico anódico (Ipa) para demostrar la

presencia del Ibuprofeno en la celda electroquímica, estos resultados se muestran en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Identidad de Ibuprofeno (IBP).

Epa (V)	Ipa (nA)
0.87	646.00

A continuación, en la Figura 6 se presenta el comportamiento gráfico del Ibuprofeno bajo condiciones de ventana de potencial de IBP.

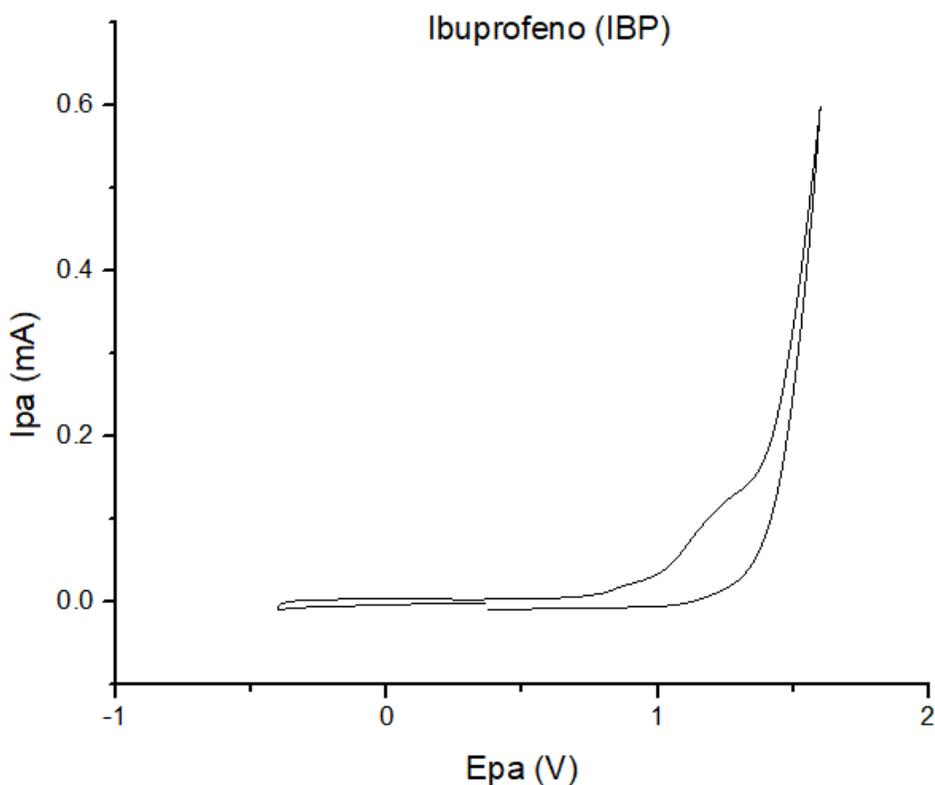


Figura 6. Voltamperograma de Ibuprofeno (IBP).

Se llevo a cabo la identidad del Meloxicam a partir del barrido voltamperométrico bajo las condiciones establecidas en el Cuadro 5, obteniendo el Potencial de pico anódico (Epa) y su correspondiente Intensidad de pico anódico (Ipa) para demostrar la

presencia del Meloxicam en la celda electroquímica, estos resultados se muestran en el Cuadro 8.

Cuadro 8. Identidad de Meloxicam (MLC).

Epa (V)	Ipa (nA)
0.65	46812.00

A continuación, en la Figura 7 se presenta el comportamiento gráfico del Meloxicam bajo condiciones de ventana de potencial de MLC.

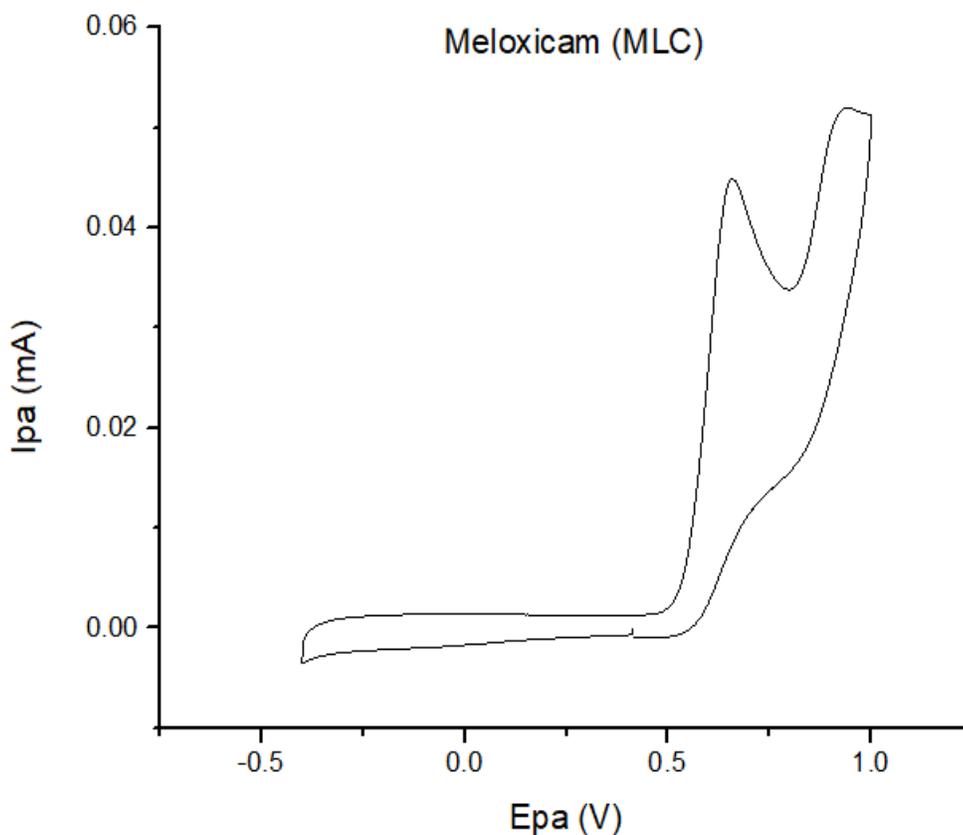


Figura 7. Voltamperograma de Meloxicam (MLC).

Una vez obtenidos individualmente los barridos voltamperométricos para el Meloxicam (MLC) y el Ibuprofeno (IBP) se llevaron a cabo las mediciones de los

analitos en conjunto para evaluar el comportamiento de cada uno al estar en presencia del otro, dichos resultados se muestran en el Cuadro 9.

Cuadro 9. Confirmación de la selectividad.

	Ventana de potencial MLC		Ventana de potencial IBP	
	Epa (V)	Ipa (nA)	Epa (V)	Ipa (nA)
Meloxicam	0.57	4263.00	0.573	2615.00
Ibuprofeno	0.87	3179.00	0.869	1676.00

A continuación, en la Figura 8 se presenta el comportamiento gráfico del Meloxicam bajo condiciones de ventana de potencial de MLC en presencia de IBP.

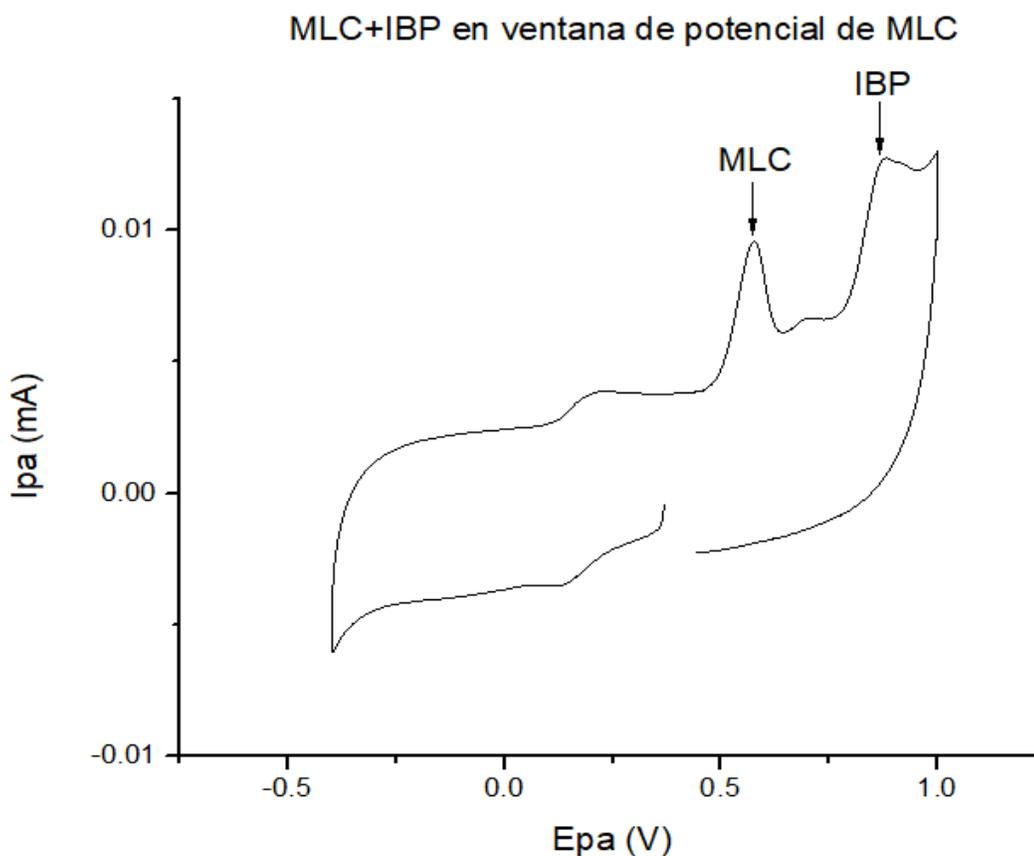


Figura 8. Voltamperograma con condiciones de MLC.

A continuación, en la Figura 9 se presenta el comportamiento gráfico del Ibuprofeno bajo condiciones de ventana de potencial de IBP en presencia de MLC.

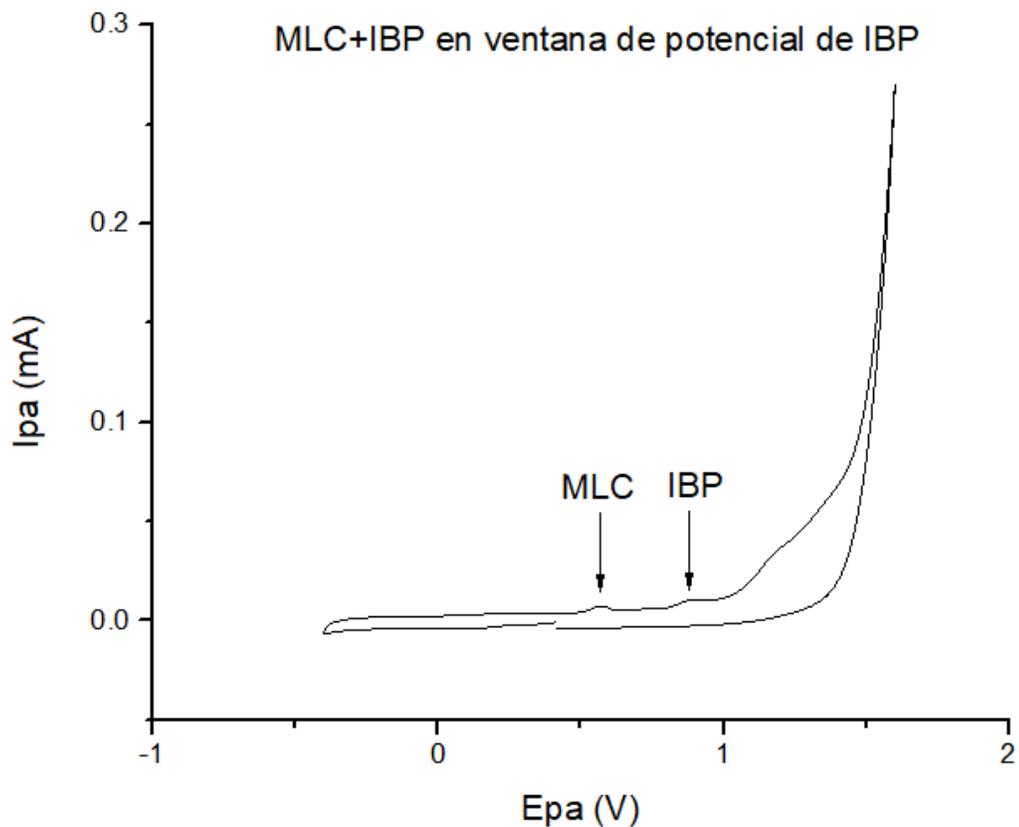


Figura 9. Voltamperograma con condiciones de IBP.

A partir de la determinación de la selectividad del método propuesto, se realizó la linealidad a partir de la medición voltamperométrica de un rango de concentraciones de 1×10^{-6} hasta 5×10^{-3} M, en el Cuadro 10 se presentan los resultados obtenidos.

Cuadro 10. Linealidad del método.

Concentración (M)	Intensidad (nA)
0	0
1.00×10^{-6}	77.70
4.00×10^{-6}	136.50
1.00×10^{-5}	397.60
5.00×10^{-5}	991.40
1.00×10^{-4}	3682.00
5.00×10^{-4}	6944.00
1.00×10^{-3}	11607.00
2.00×10^{-3}	19764.00
3.00×10^{-3}	26673.00
5.00×10^{-3}	42398.00

La linealidad del método desarrollado se llevó a cabo considerando las condiciones establecidas en el Cuadro 11.

Cuadro 11. Parámetros de linealidad.

Parámetro	Valor
Linealidad	$1 \times 10^{-6} - 5 \times 10^{-3} \text{ M}$
Ecuación	$y = 8 \times 10^{+6}x + 1269.60$
R ²	0.9909

En la Figura 10 se muestra la representación gráfica del comportamiento lineal del método desarrollado en rango de concentración de 1×10^{-6} hasta 5×10^{-3} M.

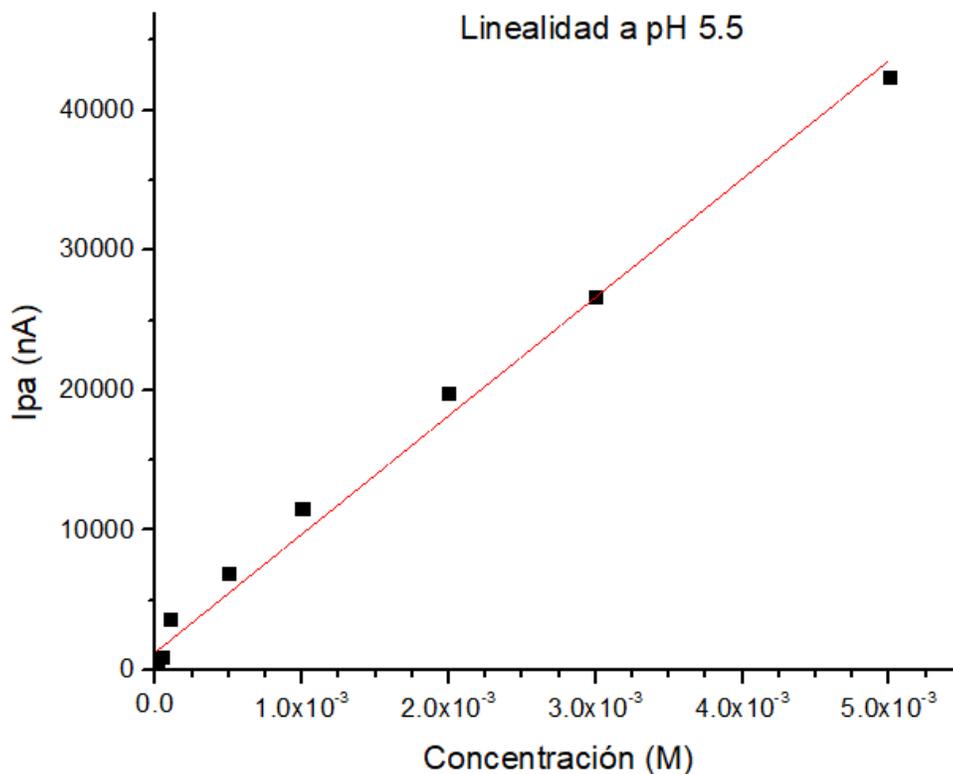


Figura 10. Linealidad del método

A partir de la determinación de la linealidad del método propuesto, se realizó el intervalo de trabajo a partir de la medición voltamperométrica de un rango de concentraciones de 1×10^{-5} hasta 2×10^{-3} M, en el Cuadro 12 se presentan los resultados obtenidos.

Cuadro 12. Intervalo de trabajo.

Concentración (M)	Ipa (nA)
1.00×10^{-5}	479.10
5.00×10^{-5}	781.50
1.00×10^{-4}	1793.30
5.00×10^{-4}	5023.00
1.00×10^{-3}	8485.00
2.00×10^{-3}	15691.00

El intervalo de trabajo del método desarrollado se llevó a cabo considerando las condiciones establecidas en el Cuadro 13.

Cuadro 13. Parámetro de intervalo de trabajo.

Parámetro	Valor
Intervalo de trabajo	$1 \times 10^{-5} - 2 \times 10^{-3}$
Ecuación	$y = 8 \times 10^{+6}x + 759.73$
R ²	0.9964

En la Figura 11 se muestra el comportamiento gráfico del intervalo de trabajo para el método desarrollado en rango de concentración de 1×10^{-5} M hasta 2×10^{-3} M.

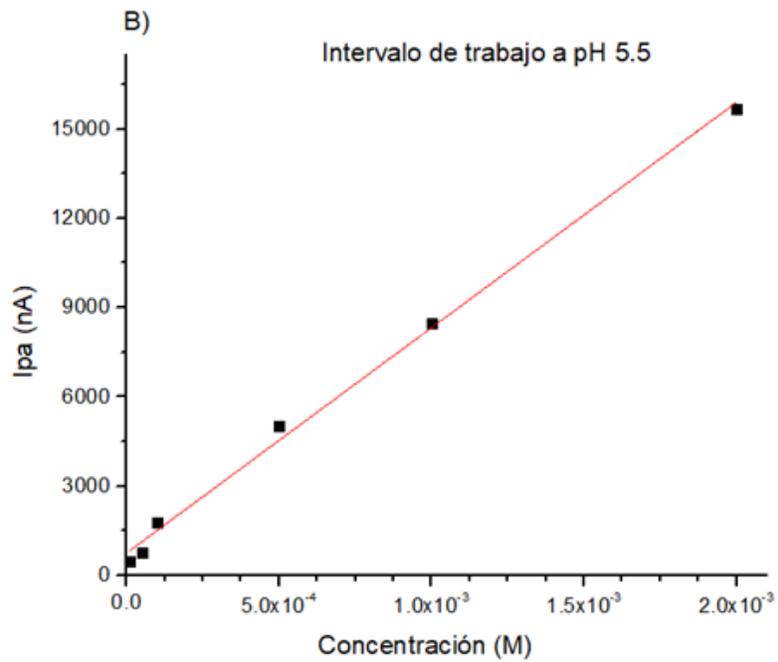


Figura 11. Intervalo de trabajo.

A continuación, se realizó el gráfico de residuales, mismo que se obtuvo a partir de la diferencia de concentración de los resultados obtenidos en el intervalo de trabajo.

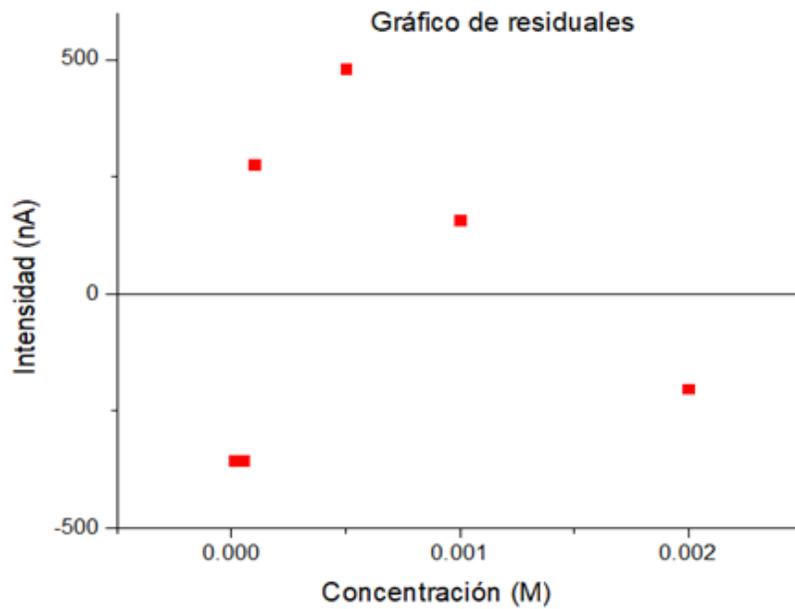


Figura 12. Gráfico de residuales

Para llevar a cabo la validación completa del método propuesto, se determinaron parámetros como: el Límite de Detección (LoD) y el Límite de Cuantificación (LoQ), mostrados en el Cuadro 14.

Cuadro 14. Parámetros de validación.

Límite de detección (LoD)	Límite de cuantificación (LoQ)
$6.67 \times 10^{-6} \text{ M}$	$8.70 \times 10^{-6} \text{ M}$

Se determinó la exactitud del método realizando diez repeticiones a una misma concentración de $2 \times 10^{-5} \text{ M}$ y se obtuvo media, desviación estándar y coeficiente de variación para su respectiva evaluación, como se muestra en el Cuadro 15.

Cuadro 15. Exactitud del método.

Repetición	Ipa (nA)
1	403.30
2	443.10
3	440.70
4	445.90
5	427.60
6	413.20
7	438.10
8	426.40
9	407.40
10	429.10
Media	427.48
Desviación estándar	15.15
Coefficiente de variación (%)	3.54

La veracidad del método se calculó comparando las medias de cinco concentraciones de 1×10^{-4} M hasta 5×10^{-6} M, entre el método propuesto y uno estandarizado, mostradas en el Cuadro 16.

Cuadro 16. Veracidad del método.

Método utilizado	Método espectrofotométrico	Método electroquímico
Concentración teórica (M)	Concentración experimental (M)	Concentración experimental (M)
0	0	0
5.00×10^{-6}	5.33×10^{-6}	5.53×10^{-6}
8.00×10^{-6}	9.72×10^{-6}	8.24×10^{-6}
1.00×10^{-5}	1.44×10^{-5}	1.32×10^{-5}
5.00×10^{-5}	3.25×10^{-5}	3.30×10^{-5}
1.00×10^{-4}	1.08×10^{-4}	1.22×10^{-4}

Se determinó la precisión del método a partir de la medición de la repetibilidad para cuatro concentraciones conocidas desde 1×10^{-3} M hasta 5×10^{-5} M, estas mediciones se realizaron bajo mismas condiciones de analista, equipo y laboratorio, estos resultados se presentan en el Cuadro 17.

Cuadro 17. Parámetros de repetibilidad.

Parámetros	Valores			
Concentración (M)	1×10^{-3}	5×10^{-4}	1×10^{-4}	5×10^{-5}
Media (\bar{x})	14448.30	6508.60	3276.29	957.16
Desviación estándar	251.99	299.53	113.55	32.72
Coefficiente de variación (%)	1.74	4.60	3.46	3.42

A su vez, para la completa evaluación de la precisión del método, se realizó la medición de la reproducibilidad para las mismas cuatro concentraciones conocidas, sin embargo, estas mediciones se realizaron bajo mismas condiciones de equipo y laboratorio, pero con diferente analista, estos resultados se presentan en el Cuadro 18.

Cuadro 18. Parámetros de reproducibilidad.

Parámetros	Valores					
	Analista 1			Analista 2		
Concentración (M)	Media (\bar{x})	Desviación	CV* (%)	Media (\bar{x})	Desviación	CV* (%)
1×10^{-3}	14448.30	251.98	1.74	14448.10	300.05	2.08
5×10^{-4}	6508.60	299.53	4.60	6565.10	327.48	4.99
1×10^{-4}	3416.29	282.18	8.25	3600.70	249.63	6.93
5×10^{-5}	957.16	32.72	3.41	972.20	57.94	5.96

*Coeficiente de Variación.

Una vez establecida la precisión del método, se determinó el porcentaje de recuperación del MLC en el método desarrollado, mismo que se llevó a cabo para cinco concentraciones desde 2×10^{-3} M hasta 5×10^{-5} M, dichos resultados se visualizan en el Cuadro 19.

Cuadro 19. Porcentaje de recuperaciones

Concentración	% de Recuperación
2×10^{-3}	99.01
1×10^{-3}	84.01
5×10^{-4}	96.04
1×10^{-4}	88.16
5×10^{-5}	89.33

Se evaluó la robustez del método desarrollado para dos pH's: 4.5 y 6.5, diferentes al establecido inicialmente. Para ello, se realizó la linealidad a partir de la medición voltamperométrica de un rango de concentraciones de 1×10^{-6} M hasta 5×10^{-3} M, en el Cuadro 20 se presentan los resultados obtenidos.

Cuadro 20. Linealidad a pH 4.5, 5.5 y 6.5.

Concentración (M)	pH 4.5	pH 5.5	pH 6.5
	Ipa (nA)	Ipa (nA)	Ipa (nA)
0	0	0	0
1.00×10^{-6}	0	77.70	0
4.00×10^{-6}	590.40	136.50	0
1.00×10^{-5}	104.01	397.60	94.50
5.00×10^{-5}	311.43	991.40	321.10
1.00×10^{-4}	1366.33	3682.00	1762.66
5.00×10^{-4}	7639.33	6944.00	7491.66
1.00×10^{-3}	15896.66	11607.00	17549.66
2.00×10^{-3}	21313.00	19764.00	21385.00
3.00×10^{-3}	26673.00	26673.00	24207.00
5.00×10^{-3}	31955.00	42398.00	37577.00

La linealidad del método desarrollado se llevó a cabo considerando las condiciones establecidas en el Cuadro 21.

Cuadro 21. Parámetros de linealidad en pH 4.5, 5.5 y 6.5.

Parámetros	pH 4.5	pH 5.5	pH 6.5
	Valores		
Intervalo lineal	$4 \times 10^{-6} - 3 \times 10^{-3} \text{ M}$	$1 \times 10^{-6} - 5 \times 10^{-3} \text{ M}$	$1 \times 10^{-5} - 5 \times 10^{-3} \text{ M}$
Ecuación	$y = 7 \times 10^{+6}x + 2128.60$	$y = 8 \times 10^{+6}x + 1269.60$	$y = 8 \times 10^{+6}x + 1844.90$
R ²	0.9064	0.9909	0.9355

En la Figura 13 se muestra la representación gráfica del comportamiento lineal del método desarrollado en rango de concentración respectivo para los pH's 4.5, 5.5 y 6.5.

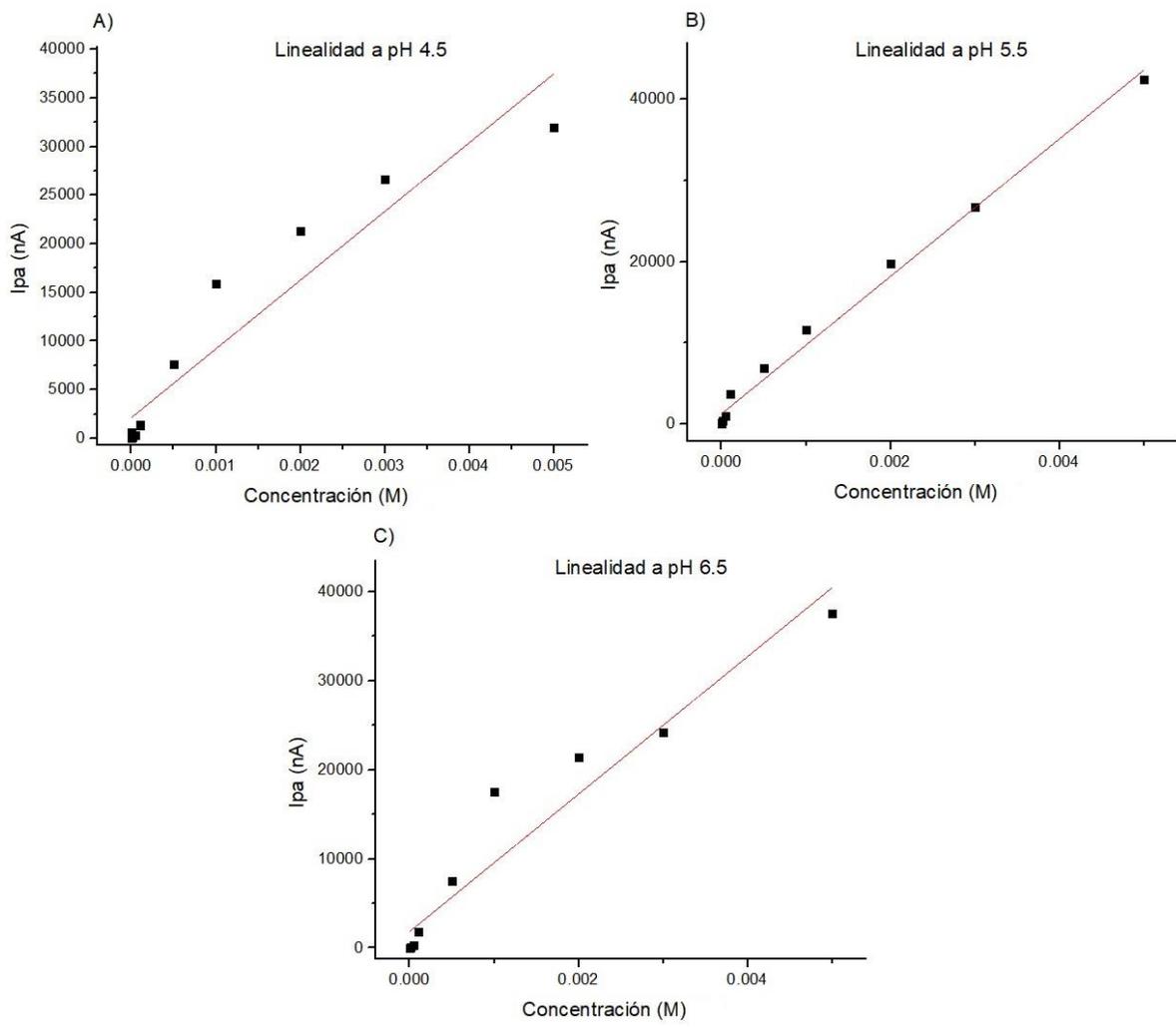


Figura 13. Linealidad a pH 4.5, 5.5 y 6.5

A partir de la determinación de la linealidad del método propuesto, se realizó el intervalo de trabajo a partir de la medición voltamperométrica de un rango de concentraciones de 1×10^{-5} hasta 2×10^{-3} M, en el Cuadro 22 se presentan los resultados obtenidos.

Cuadro 22. Intervalo de trabajo para pH 4.5, 5.5 y 6.5.

Concentración (M)	pH 4.5	pH 5.5	pH 6.5
	lpa (nA)	lpa (nA)	lpa (nA)
1.00×10^{-5}	104.01	479.10	94.50
5.00×10^{-5}	311.43	781.50	321.10
1.00×10^{-4}	1366.33	1793.30	1762.66
5.00×10^{-4}	7639.33	5023.00	7491.66
1.00×10^{-3}	15896.66	8485.00	17549.66
2.00×10^{-3}	21313.00	15691.00	21385.00

El intervalo de trabajo del método desarrollado se llevó a cabo considerando las condiciones establecidas en el Cuadro 23 para cada uno de los pH's.

Cuadro 23. Parámetro de intervalo de trabajo a pH 4.5, 5.5 y 6.5.

Parámetro	Valor		
Intervalo de trabajo	$1 \times 10^{-5} - 2 \times 10^{-3} \text{ M}$		
pH	pH 4.5	pH 5.5	pH 6.5
Ecuación	$y = 1 \times 10^{+7}x + 916.68$	$y = 8 \times 10^{+6}x + 759.73$	$y = 1 \times 10^{+7}x + 1133.10$
R ²	0.9391	0.9964	0.9074

En la Figura 14 se muestra el comportamiento gráfico del intervalo de trabajo para el método desarrollado en rango de concentración de 1×10^{-5} hasta 2×10^{-3} M.

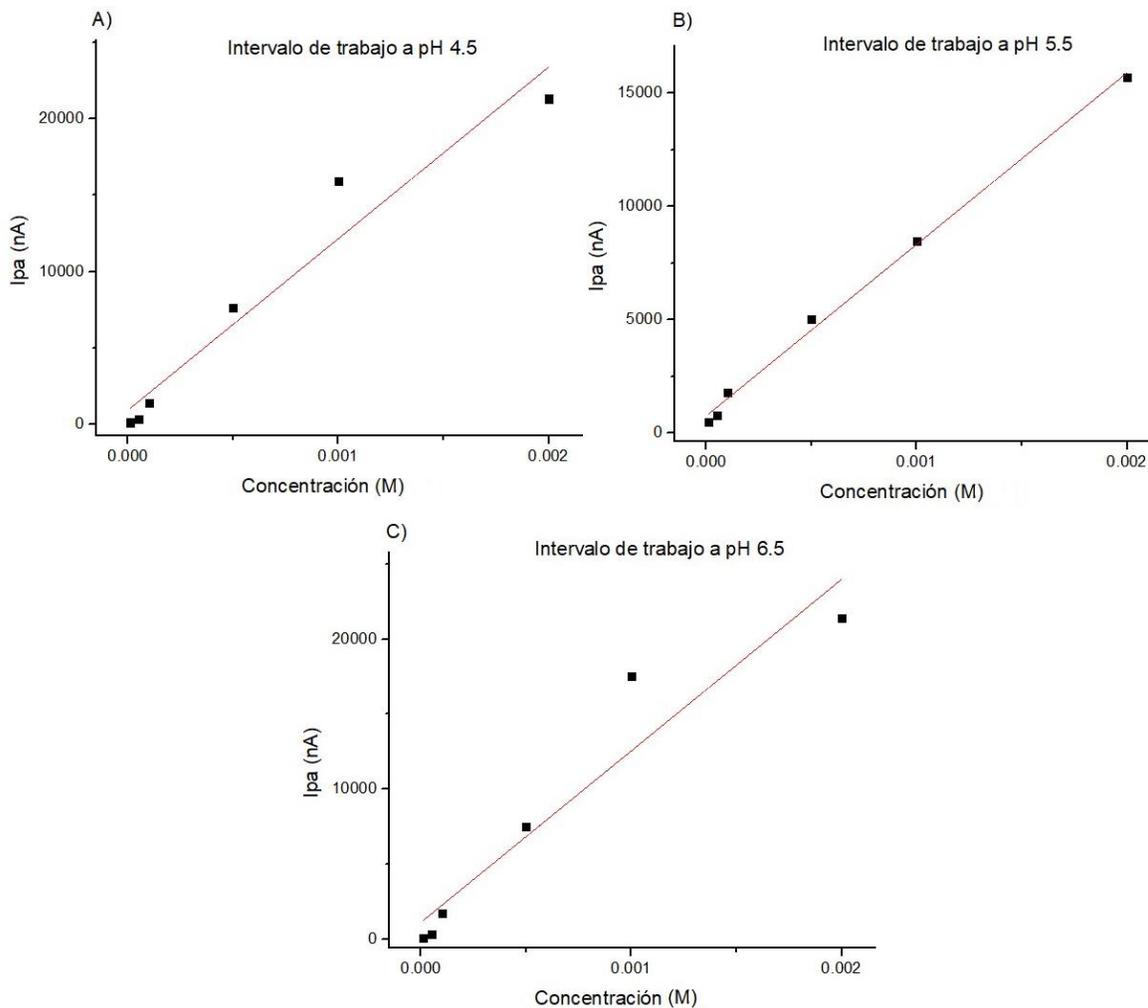


Figura 14. Intervalo de trabajo a pH 4.5, 5.5 y 6.5

A continuación, se realizó el gráfico de residuales, mismo que se obtuvo a partir de la diferencia de concentración de los resultados obtenidos en el intervalo de trabajo para cada pH evaluado, presentados en la Figura 15.

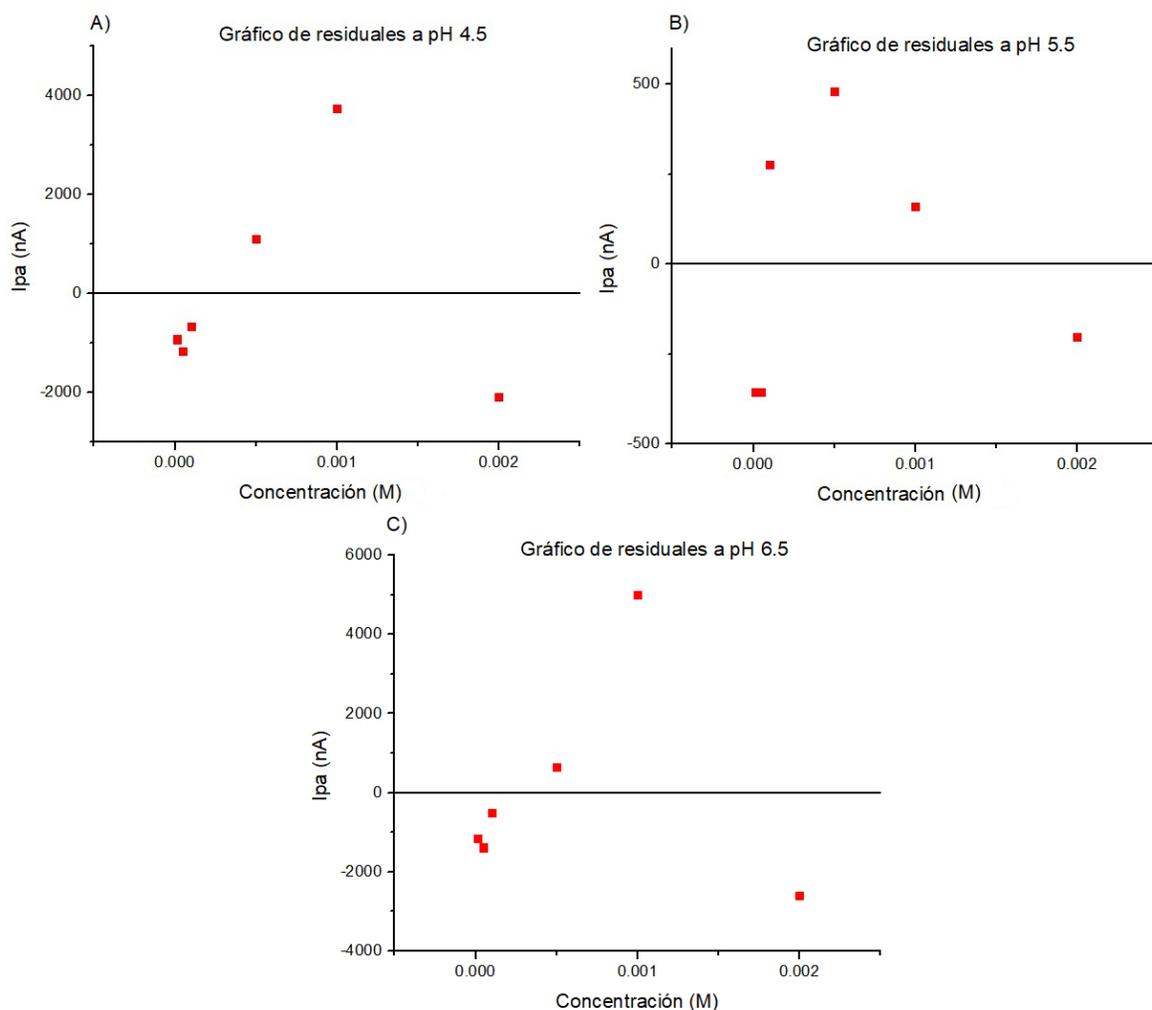


Figura 15. Gráficos de residuales a pH 4.5, 5.5 y 6.5.

Para comparar los resultados de los tres pH's evaluados, se determinaron parámetros como: el Límite de Detección (LoD) y el Límite de Cuantificación (LoQ), mostrados en el Cuadro 24.

Cuadro 24. Límites de detección y cuantificación a pH 4.5, 5.5 y 6.5.

pH	Límite de detección (LoD)	Límite de cuantificación (LoQ)
4.5	1.19×10^{-5} M	1.36×10^{-5} M
5.5	6.67×10^{-6} M	8.70×10^{-6} M
6.5	3.38×10^{-5} M	3.60×10^{-5} M

Se determinó la exactitud del método realizando diez repeticiones a una misma concentración de 2×10^{-5} M y se obtuvo media, desviación estándar y coeficiente de variación para su respectiva evaluación, como se muestra en el Cuadro 25.

Cuadro 25. Exactitud del método en pH 4.5, 5.5 y 6.5.

	pH 4.5	pH 5.5	pH 6.5
Repetición	Ipa (nA)		
1	216.4	403.3	368.3
2	223.7	443.1	364.4
3	259	440.70	313.7
4	231.1	445.90	335.6
5	244.4	427.6	341.8
6	217.5	413.2	349.3
7	245.5	438.1	314.9
8	231.8	426.4	320.8
9	219.9	407.4	391.6
10	255.2	429.1	389.9
Media	234.45	427.48	349.03
Desviación estándar	15.68	15.15	28.93
CV	6.69	3.54	8.29

La veracidad del método se calculó comparando las medias de cinco concentraciones de 1×10^{-4} M hasta 5×10^{-6} M, entre el método propuesto y uno estandarizado, mostradas en el Cuadro 26.

Cuadro 26. Veracidad del método a pH 4.5, 5.5 y 6.5.

pH	4.5		5.5		6.5	
Método utilizado	Método UV-Vis	Método EQ*	Método UV-Vis	Método EQ*	Método UV-Vis	Método EQ*
Concentración teórica (M)	Concentración experimental (M)					
5.00×10^{-6}	5.41×10^{-6}	4.19×10^{-6}	5.33×10^{-6}	5.53×10^{-6}	5.01×10^{-6}	5.92×10^{-6}
8.00×10^{-6}	9.45×10^{-6}	9.53×10^{-6}	9.72×10^{-6}	8.24×10^{-6}	8.77×10^{-6}	9.39×10^{-6}
1.00×10^{-5}	1.57×10^{-5}	1.02×10^{-5}	1.44×10^{-5}	1.32×10^{-5}	1.62×10^{-5}	1.20×10^{-5}
5.00×10^{-5}	3.11×10^{-5}	3.01×10^{-5}	3.25×10^{-5}	3.30×10^{-5}	3.19×10^{-5}	3.43×10^{-5}
1.00×10^{-4}	1.08×10^{-4}	1.40×10^{-4}	1.08×10^{-4}	1.22×10^{-4}	1.08×10^{-4}	1.02×10^{-4}

*Método electroquímico

Se determinó la precisión del método a partir de la medición de la repetibilidad para cuatro concentraciones conocidas desde 1×10^{-3} M hasta 5×10^{-5} M, estas mediciones se realizaron bajo mismas condiciones de analista, equipo y laboratorio, estos resultados se presentan en el Cuadro 27.

Cuadro 27. Parámetros de repetibilidad a pH 4.5, 5.5 y 6.5.

pH 4.5	Parámetros	Valores			
	Concentración (M)	1×10^{-3}	5×10^{-4}	1×10^{-4}	5×10^{-5}
	Media (\bar{x})	15546.70	7340.80	1109.5	353.77
	Desviación estándar de repetibilidad	241.82	249.68	74.81	30.67
	Coeficiente de variación (%)	1.55	3.40	6.74	8.67
pH 5.5	Parámetros	Valores			
	Concentración (M)	1×10^{-3}	5×10^{-4}	1×10^{-4}	5×10^{-5}
	Media (\bar{x})	14448.30	6508.60	3416.29	957.16
	Desviación estándar de repetibilidad	251.99	299.53	282.18	32.72
	Coeficiente de variación (%)	1.74	4.60	8.26	3.41
pH 6.5	Parámetros	Valores			
	Concentración (M)	1×10^{-3}	5×10^{-4}	1×10^{-4}	5×10^{-5}
	Media (\bar{x})	18316.90	7483.10	1787.6	371.63
	Desviación estándar de repetibilidad	262.47	201.73	158.78	32.54
	Coeficiente de variación (%)	1.43	2.70	8.89	8.76

A su vez, para la completa evaluación de la precisión del método, se realizó la medición de la reproducibilidad para las mismas cuatro concentraciones conocidas, sin embargo, estas mediciones se realizaron bajo mismas condiciones de equipo y laboratorio, pero con diferente analista, estos resultados se presentan en el Cuadro 28.

Cuadro 28. Parámetros de reproducibilidad a pH 4.5, 5.5 y 6.5.

pH 4.5						
Parámetros	Valores					
	Analista 1			Analista 2		
Concentración (M)	Media (\bar{x})	Desviación (σ)	CV* (%)	Media (\bar{x})	Desviación (σ)	CV* (%)
1.00×10^{-3}	15885.70	241.82	1.52	15885.7	270.24	1.70
5.00×10^{-4}	7423.50	249.68	3.36	7423.5	319.92	4.31
1.00×10^{-4}	1109.5	74.81	6.74	1212.3	67.63	5.58
5.00×10^{-5}	353.77	30.67	8.67	313.73	25.87	8.24
pH 5.5						
Parámetros	Valores					
	Analista 1			Analista 2		
Concentración (M)	Media (\bar{x})	Desviación (σ)	CV* (%)	Media (\bar{x})	Desviación (σ)	CV* (%)
1.00×10^{-3}	14448.30	251.98	1.74	14448.10	300.05	2.08
5.00×10^{-4}	6508.60	299.53	4.60	6565.10	327.48	4.99
1.00×10^{-4}	3416.29	282.18	8.25	3600.70	249.63	6.93

5.00x10 ⁻⁵	957.16	32.72	3.42	972.20	57.94	5.96
pH 6.5						
Parámetros	Valores					
	Analista 1			Analista 2		
Concentración (M)	Media (\bar{x})	Desviación (σ)	CV* (%)	Media (\bar{x})	Desviación (σ)	CV* (%)
1.00x10 ⁻³	18316.90	262.46	1.43	17506.40	320.11	1.83
5.00x10 ⁻⁴	7483.10	201.72	2.70	7507.90	353.92	4.71
1.00x10 ⁻⁴	1787.6	158.78	8.89	1764.2	125.62	7.12
5.00x10 ⁻⁵	371.63	32.54	8.76	197.1	15.53	7.78

Una vez establecida la precisión del método, se determinó el porcentaje de recuperación del MLC en el método desarrollado, mismo que se llevó a cabo para cinco concentraciones desde 2x10⁻³ M hasta 5x10⁻⁵ M, dichos resultados se visualizan en el Cuadro 29.

Cuadro 29. Porcentaje de recuperaciones a pH 4.5, 5.5 y 6.5.

Concentración (M)	pH 4.5	pH 5.5	pH 6.5
	% Recuperación	% Recuperación	% Recuperación
2.00×10^{-3}	78.43	99.01	77.35
1.00×10^{-3}	65.64	84.01	63.47
5.00×10^{-4}	73.69	96.04	69.36
1.00×10^{-4}	54.83	88.16	33.19
5.00×10^{-5}	9.44	89.33	33.84

Finalmente, una vez realizada la validación del método, se realizaron tres repeticiones de una solución a concentración de 3×10^{-3} M de una forma farmacéutica comercial para los pH's de 4.5, 5.5 y 6.5, con la finalidad de evaluar el comportamiento del método en la práctica.

Cuadro 30. Cuantificación de meloxicam en formas farmacéuticas a pH 4.5, 5.5 y 6.5.

Repeticiones	pH 4.5	pH 5.5	pH 6.5
	Concentración (M)		
1	4.18×10^{-3}	2.99×10^{-3}	1.95×10^{-3}
2	4.39×10^{-3}	2.91×10^{-3}	1.77×10^{-3}
3	4.69×10^{-3}	3.05×10^{-3}	1.68×10^{-3}
Media	4.42×10^{-3}	2.98×10^{-3}	1.80×10^{-3}
Desviación estándar	2.55×10^{-4}	6.88×10^{-5}	1.40×10^{-4}

6. DISCUSIÓN

En el Cuadro 3 se presentan las intensidades de los picos de oxidación obtenidos en el análisis de sensibilidad del electrodo de carbón vítreo modificado con nanotubos de carbono (GC/MWCNT), a diferentes concentraciones de nanotubos de carbono (2 mg y 3 mg), realizando la adición de nanotubos de carbono de pared múltiple se puede observar que se otorga al electrodo alta sensibilidad y buenas propiedades eléctricas, químicas, mecánicas y de conducción al electrodo para la detección del analito de interés. Por otra parte, se puede observar que a 2 mg se obtiene un coeficiente de determinación (R^2) de 0.9680, que al comparar con 3 mg de MWCNT se obtiene un coeficiente de determinación de 0.9494, por lo tanto, se observa que la concentración óptima es a 2 mg de nanotubos de carbono, siendo este el que contiene el valor más alto de los coeficientes, y, por lo tanto, se acerca más a un modelo lineal.

En la Figura 5 se observan de manera gráfica los comportamientos de las intensidades de pico anódico (I_{pa}) para las diferentes concentraciones utilizadas en la modificación del electrodo de trabajo, donde se puede observar que ambas se ajustan a un modelo lineal, siendo la de mejor ajuste la figura A de acuerdo con su coeficiente de determinación (R^2) por lo que se eligió como concentración final de MWCNT.

En el Cuadro 4 se observan los resultados obtenidos en las pruebas de identidad, mismos que se realizaron a una concentración de 5×10^{-5} M. Para el método electroquímico propuesto, se obtuvo una señal en rango de 0.599 a 0.605, el meloxicam tiene su ventana de potencial entre 0.420 y 0.695 V (Wang y col., 2006; Farhadi y Karimpour, 2007), por lo que se atribuye esa señal al analito de interés, por otra parte, con el método propuesto por la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM, 2014) se obtiene una señal de 0.26, la absorbancia promedio del meloxicam oscila entre una longitud de onda de 240 y 450 nm (FEUM, 2014), de esta manera al producirse una señal en mencionado rango se puede confirmar la

existencia del meloxicam por ambos métodos debido a que estas señales son atribuibles únicamente al analito de interés.

El Cuadro 5 muestra las condiciones consideradas como óptimas, mismas que fueron obtenidas durante el desarrollo del método electroquímico, utilizando estas condiciones se realizaron los barridos de potencial durante toda la experimentación, considerando una ventana de potencial de -0.4 a 1.0 V, de manera que el analito de interés terminara su oxidación correctamente y pudiera ser cuantificable el área bajo la curva.

El Cuadro 6 presenta las condiciones utilizadas para realizar un barrido de potencial a un analito secundario, el cual fue ibuprofeno (IBP), en este caso se consideró una ventana de potencial de -1.0 a 2.0 V debido a que el ibuprofeno presenta su corriente de pico anódico alrededor de 0.9 V. (Tyszczyk-Rotko y col., 2021), por lo que al incrementar el rango es posible correr la reacción hasta terminar su oxidación.

En el Cuadro 7 se pueden observar los resultados obtenidos a partir del barrido con condiciones para el ibuprofeno, mismo que presentó un potencial de pico anódico en 0.87 V que, a su vez, comparando en la literatura entra dentro del rango establecido de alrededor de 0.9 V (Tyszczyk-Rotko y col., 2021), este dato se considera indicativo para la identidad del ibuprofeno dentro del voltamperograma

En la Figura 6, se muestra de manera gráfica el comportamiento del ibuprofeno en condiciones óptimas para este analito secundario, donde se puede observar que la reacción de oxidación se lleva a cabo hasta su término, lo que permite su identificación.

En el Cuadro 8 se observan los resultados obtenidos a partir del barrido voltamperométrico con condiciones para el meloxicam, en este caso, se presentó un potencial de pico anódico en 0.65 V, de acuerdo con la literatura, el meloxicam tiene un potencial de pico anódico en valores entre 0.420 y 0.695 V (Wang y col., 2006; Farhadi y Karimpour, 2007), por lo que corresponde con el obtenido

experimentalmente, de esta manera se puede confirmar la presencia y la identidad del analito de interés en el voltamperograma.

En la Figura 7, se observa dentro del voltamperograma el comportamiento electroquímico del meloxicam en condiciones establecidas para el analito de interés, en este se observa que la reacción se realiza hasta llevar a cabo su oxidación completa, lo que permite su correcta identificación.

El Cuadro 9 presenta los resultados obtenidos durante el barrido voltamperométrico para el analito de interés (MLC) y el analito secundario (IBP), las mediciones se llevaron a cabo juntando ambos analitos en la misma celda y utilizando las condiciones óptimas del meloxicam y el ibuprofeno, respectivamente, de esta manera se pudo confirmar experimentalmente que no existe empalme de potencial de pico anódico, por lo que los analitos no interfieren entre sí para su identificación y cuantificación.

En la Figura 8 se muestra el voltamperograma de las determinaciones del ibuprofeno y el meloxicam en conjunto utilizando las condiciones ideales para el meloxicam, en este gráfico se observa que al realizar las mediciones bajo estas condiciones, el ibuprofeno no se ve afectado ni desplazado de su rango de potencial, por lo que sigue manteniendo su potencial de pico anódico en valores de 0.87 V y se confirma nuevamente su identidad (Tyszczyk-Rotko y col., 2021), por otra parte, el meloxicam conserva su potencial en valores de 0.57 V, por lo que, considerando el potencial establecido en la literatura (Wang y col., 2006; Farhadi y Karimpour, 2007), se confirma su identidad y permite la medición de ambos analitos sin resultar ser interferente un analito con respecto al otro.

En la Figura 9, se observa de manera gráfica el barrido voltamperométrico de las determinaciones del meloxicam y el ibuprofeno realizadas utilizando una misma celda electroquímica, dichas determinaciones se llevaron a cabo utilizando las condiciones óptimas para el ibuprofeno. En este caso, es posible observar que ambas especies llevaron a cabo sus respectivas reacciones de oxidación a los

valores de potencial de pico anódico establecidos en la literatura (Tyszczyk-Rotko y col., 2021; Wang y col., 2006; Farhadi y Karimpour, 2007), por lo que se puede establecer que a pesar de cambiar las condiciones óptimas para uno de los analitos, no se ven afectadas las posiciones de potencial de pico anódico, de esta manera se observa que las especies llevan a cabo sus reacciones de oxidación, permitiendo a su vez, realizar su identificación y cuantificación, sin ser interferentes entre sí.

El Cuadro 10 representa las concentraciones y su respectiva intensidad de pico anódico que fueron utilizadas para llevar a cabo la curva de calibración con el método propuesto y de esta manera establecer la linealidad del método, considerando los valores obtenidos de manera experimental, es posible identificar que existe una linealidad del método desde una concentración de 1×10^{-6} M hasta 5×10^{-3} M, de acuerdo con el CENAM, la linealidad permitió obtener resultados directamente proporcionales a la concentración con el método desarrollado.

Los parámetros que se muestran en el Cuadro 11 se establecieron para obtener la linealidad del método electroquímico propuesto, de acuerdo con el comportamiento de las determinaciones fue posible establecer la linealidad, siendo este de 1×10^{-6} M – 5×10^{-3} M, debido a que fuera de estas concentraciones el comportamiento lineal desaparece y, por lo tanto, los valores para el coeficiente de determinación (R^2) disminuyen. Por otra parte, al utilizar los datos obtenidos en el Cuadro 10, fue posible obtener una ecuación de la recta y un coeficiente de determinación de 0.9909, lo que indica que el método desarrollado tiene un ajuste lineal (Chicco y col., 2021).

En la Figura 10 se representa el comportamiento lineal de las determinaciones realizadas para meloxicam en concentraciones desde 1×10^{-6} M hasta 5×10^{-3} M, incluyendo el 0 como blanco, al obtener una representación gráfica que indique un coeficiente de determinación cercano a 1, indica que el método tiene un ajuste lineal y, por lo tanto, los valores de concentración son directamente proporcionales con los valores de corriente de pico anódico (I_{pa}).

Una vez determinada la linealidad, se estableció el intervalo de trabajo para el método electroquímico propuesto, de tal manera que este intervalo abarca algunas concentraciones que se establecieron en la linealidad y que, a su vez, permiten que las determinaciones conserven un comportamiento de ajuste lineal. En el Cuadro 12 se muestran los valores de corriente de pico anódico (I_{pa}) para cada una de las concentraciones elegidas para el intervalo de trabajo.

En el Cuadro 13 se presentan los parámetros obtenidos a partir del análisis estadístico de las determinaciones realizadas en el cuadro 12, dichas determinaciones permitieron observar el comportamiento del analito de interés y de esta manera se estableció el intervalo de trabajo de 1×10^{-5} M hasta 2×10^{-3} M, una vez establecido lo anterior, se obtuvo la ecuación de la recta y el coeficiente de determinación con un valor de 0.9909, lo que indica nuevamente que el método propuesto sigue manteniendo un comportamiento lineal con respecto a las concentraciones sometidas a experimentación y las corrientes de pico anódico obtenidos durante la misma.

La curva de calibración obtenida (Figura 11) mostró una linealidad en el rango de 1×10^{-5} – 2×10^{-3} para Meloxicam (Cuadro 11), después de realizar el análisis estadístico de regresión se obtuvo un coeficiente de determinación (R^2) de 0.9909. Esto indica que dentro de este intervalo se pueden obtener resultados directamente proporcionales a la concentración manteniendo un comportamiento lineal.

La Figura 12 muestra el gráfico de residuales obtenido a partir de la diferencia de la concentración esperada con la obtenida experimentalmente, esta última se obtuvo a partir del despeje de la variable X en la ecuación de la recta obtenida en el intervalo de trabajo. Esta gráfica muestra el comportamiento de los datos y a su vez permite identificar cuánto se desvían del modelo lineal. En este caso los datos representados están dispersos aleatoriamente alrededor del residual = 0, lo que indica que el método propuesto presenta un modelo lineal (Park y Dereche, 2003).

Una vez determinado el intervalo de trabajo se realizaron los cálculos de límites de detección (LoD) y cuantificación (LoQ) para el método desarrollado. En el Cuadro 14 se muestra que el analito de interés puede ser detectado hasta una concentración de 6.67×10^{-6} M, mientras que, la concentración a la que este puede ser cuantificado es de 8.70×10^{-6} M, considerando dichos valores se puede asumir que el método electroquímico puede ser aplicado a concentraciones similares utilizando las condiciones ideales para el analito de interés, esto permite asumir que la hipótesis planteada inicialmente se cumple, debido a que es posible detectar y cuantificar a concentraciones menores de 5×10^{-4} M.

En el Cuadro 15 se presentan las intensidades de pico anódico (I_{pa}) obtenidas a una serie de repeticiones con concentración de 2×10^{-5} M, como se puede observar en el cuadro, es posible identificar que las intensidades oscilan entre valores cercanos, y por consecuencia, la concentración de cada repetición es proporcional al I_{pa} y similares entre sí, permitiendo tener una desviación estándar de +/- 15.15 con respecto a la media, y un coeficiente de variación de 3.54, que permite identificar que los datos conservar homogeneidad, de esta forma, se puede asumir que el método es exacto.

Para obtener la veracidad del método se realizó la medición de una serie de concentraciones entre 5×10^{-6} M hasta 1×10^{-4} M utilizando un método primario (UV-Vis) y comparando con lo obtenido en el método electroquímico propuesto (Centro Nacional de Metrología, 2005). Como se puede observar en el Cuadro 16, la comparación de las concentraciones entre ambos métodos posee poca diferencia entre la media de las concentraciones, debido a que se encuentran en el mismo rango de concentración.

El Cuadro 17 muestra los parámetros estadísticos obtenidos bajo condiciones de repetibilidad, mismos que se llevaron a cabo realizando mediciones por un solo analista y utilizando el mismo equipo en un plazo de tiempo corto. A partir de los resultados obtenidos se realizó el análisis estadístico correspondiente y se obtuvo un coeficiente de variación para cada concentración examinada, dichos valores indican

que para concentración se tiene una variación disminuida por lo que no se alejan considerablemente entre sí, evidenciando de esta manera que el método es repetible (Centro Nacional de Metrología, 2005).

Para evaluar la reproducibilidad del método desarrollado se llevó a cabo la medición de una serie de concentraciones entre 5×10^{-5} M hasta 1×10^{-3} M, dichas mediciones se realizaron por un analista diferente, en el mismo laboratorio y en un período de tiempo prolongado, estos resultados fueron comparados con los obtenidos para repetibilidad, de esta manera, se puede observar en el Cuadro 18 que los resultados obtenidos para la intensidad de pico anódico (Ipa) en las concentraciones de 1×10^{-3} M y 5×10^{-4} M tienen semejanza entre sí, y considerando que sus coeficientes de variación están dentro del valor aceptable, se asume que cumplen con el criterio de reproducibilidad, sin embargo, para la concentración de 1×10^{-4} M para ambos analistas se obtuvieron coeficientes de variación mayores a 5% lo que nos indica que existe un error analítico, por otra parte, para la concentración de 5×10^{-5} M se obtuvo un coeficiente de variación de 5.96%, mismo que nos indica que existe la presencia de un error atribuido al Analista 2, debido a que el error no está presente en las mediciones realizadas por el Analista 1. (Centro Nacional de Metrología, 2005).

El Cuadro 19 muestra el porcentaje de recuperación obtenido a partir de una serie de mediciones de concentración desde 5×10^{-5} M hasta 2×10^{-3} M, como se puede observar el porcentaje de recuperaciones para las primeras 4 concentraciones son cercanas a 100%, sin embargo, la concentración de 5×10^{-5} M presenta un porcentaje de recuperación del 51.03%, esto puede atribuirse a que el método tiene un comportamiento diferente dependiendo del rango de concentración, por lo que al disminuir las concentraciones, disminuye su exactitud.

Una vez que el método fue desarrollado, se sometió a variaciones de pH con valores de 4.5, 5.5 y 6.5. Como se observa en el Cuadro 20 las experimentaciones realizadas a pH 4.5 tienen valores relevantes de intensidad de pico anódico (Ipa) teniendo su mayor valor de intensidad en 26,673.00 nA, lo que indica que el analito de interés está presente en la celda electroquímica y esa intensidad corresponde a la

concentración evaluada, sin embargo, para este pH se observa que se pierde la linealidad a partir de 1×10^{-6} M debido a que el MLC no presenta una oxidación fuerte, por otra parte, a pH 6.5 sus valores de intensidad de pico anódico (I_{pa}) corresponden a las concentraciones evaluadas, no obstante a este pH se pierde la linealidad y existe un cambio de comportamiento en el MLC, pues deja de presentar señal a partir de 4×10^{-6} M, que, comparando con el método desarrollado a pH 5.5 sí se logra obtener señales de oxidación hasta 1×10^{-6} M, considerando lo anterior, se puede asumir que el pH ideal para trabajar el analito de interés es 5.5, pues si se tiene el MLC en pH alcalinos puede provocar el ensanchamiento de la señal y por tanto, la señal de la intensidad de pico anódico (I_{pa}) puede desplazarse e inclusive desaparecer, esto se debe a que el meloxicam posee dos pK_a 's; el primero de 1.09 y el segundo de 4.18, cuando el MLC se encuentra en valores de pH < 1.09 se encontrará principalmente en forma de catión, en cambio, si está a valores de pH > 4.18 , la forma de anión prevalece y por lo tanto es más difícil de oxidar (Šelešovská y col., 2019).

Tomando en consideración los resultados obtenidos en la linealidad para cada pH presentado en el Cuadro 20, se establecieron los parámetros de linealidad para cada uno, siendo estos mostrados en el Cuadro 21, donde se observa que el intervalo lineal a pH 4.5 es desde 4×10^{-6} M hasta 3×10^{-3} M debido a la ausencia de pico de oxidación a concentraciones menores de 4×10^{-6} M, en este caso se obtuvo un coeficiente de determinación (R^2) de 0.9064, que indica que a este pH se acerca a un modelo lineal, por otra parte, a pH 6.5 se obtuvo un intervalo lineal desde 1×10^{-5} M hasta 5×10^{-3} M, debido nuevamente a la ausencia de señal de oxidación a concentraciones menores de 1×10^{-5} M, obteniendo a su vez un coeficiente de determinación (R^2) de 0.9355, acercándose a su vez a un modelo lineal, sin embargo, comparando con los resultados obtenidos a pH 5.5, donde su coeficiente de determinación (R^2) fue de 0.9909, se identifica que el pH con el modelo lineal más adecuado es el antes mencionado, pues su valor de R^2 está más cercano a 1 y eso indica que de las 3 variables de pH presentadas se tiene una mejor linealidad a pH 5.5 pues la tendencia del MLC es ser más estable a pH ácidos (Šelešovská y col.,

2019), sin embargo para pH 4.5 su R^2 se desplazó considerablemente y esto puede ser atribuible a un error aleatorio dentro de la experimentación.

En la Figura 13 se puede observar de manera gráfica el comportamiento de cada variación de pH aplicados al método desarrollado, de esta manera, se identifica el comportamiento lineal, teniendo las concentraciones del analito de interés en proporción a la intensidad de pico anódico (Ipa), sin embargo, es posible identificar que a pH 4.5 y 6.5 se tiene un ligero acercamiento al modelo lineal debido a que los valores de intensidad de pico anódico (Ipa) se alejan de la línea de tendencia, por tanto, esto provoca la disminución en el valor del coeficiente de determinación (R^2), que, en comparación con el comportamiento a pH 5.5 se ajustan más las intensidades al modelo lineal, entonces se puede confirmar el comportamiento lineal establecido por el coeficiente de determinación cercano a 1.

Una vez desarrollado el método y la linealidad para cada variación de pH, se realizó la identificación del intervalo de trabajo, en este caso, respetando sus intervalos lineales, se utilizó un mismo intervalo de trabajo para las 3 variantes de pH, de manera, que la comparación de señales entre cada uno pudiera hacerse lo más objetivo posible. En el Cuadro 22 se muestra que para valores de pH 4.5 se obtuvieron valores de intensidad de pico anódico (Ipa) para las concentraciones mayores a 5×10^{-4} M, sin embargo, para concentraciones menores a 1×10^{-4} M se presenta una disminución importante de la señal de oxidación del MLC, por lo que la identificación de la señal se vuelve débil y poco observable, por otra parte, en el pH 6.5 se tiene un comportamiento similar a los resultados obtenidos a pH 4.5, debido a que las señales de intensidad de pico anódico (Ipa) para concentraciones mayores a 5×10^{-4} M son significativas, no obstante, se tiene una disminución considerable a partir de 5×10^{-5} M, siendo estas señales poco observables, esto indica que a este pH la reacción de oxidación del MLC se lleva a cabo con dificultad por presentarse en mayor cantidad la forma aniónica (Šelešovská y col., 2019), finalmente, comparando ambos resultados con el pH del método desarrollado, se infiere que a pH 5.5 las señales de oxidación del MLC son importantes, ya que a pesar de tener valores

disminuidos a partir de 5×10^{-5} M, siguen teniendo más intensidad que las obtenidas a 4.5 y 6.5, por tanto, se comprueba nuevamente que el pH ideal bajo estas condiciones para las mediciones es de 5.5.

Una vez obtenidos los resultados mostrados en el Cuadro 22, se determinaron los parámetros de intervalo de trabajo para cada variante de pH presentado en el Cuadro 23, acompañado de la ecuación de la recta y el coeficiente de determinación (R^2). Es posible identificar que a pH 4.5 se tiene un coeficiente de determinación (R^2) de 0.9391 lo que demuestra que a pesar de no tener intensidades significativas a bajas concentraciones sí se mantiene un acercamiento al comportamiento lineal, por otra parte, a pH 6.5 se observa un coeficiente de determinación (R^2) de 0.9074, indicando así que este pH continúa con un comportamiento lineal, sin embargo, en menor medida que a pH 4.5. Comparando los resultados anteriores con los obtenidos a pH 5.5, se puede identificar una variación en el coeficiente de determinación (R^2), este último con valor de 0.9964, eso significa que el modelo lineal se cumple mayormente durante las mediciones realizadas a pH 5.5, siendo un parámetro de confirmación del pH ideal para el MLC durante esta experimentación.

La Figura 14 muestra la curva de calibración obtenida a cada cambio de pH, en esta representación gráfica se puede observar visualmente que a pH 4.5 y 6.5 los puntos están más alejados de la línea de tendencia a comparación del pH 5.5, esto se puede atribuir a que el cambio en las intensidades de pico anódico (I_{pa}) es dependiente del pH en el que se oxida el meloxicam (Farhadi y Karimpour, 2007), por lo que si se trabajan rangos de pH ideales para MLC se obtendrá un modelo lineal más adecuado, lo que evidencia que bajo las condiciones de trabajo desarrolladas y establecidas para este método mantienen un comportamiento de modelo lineal.

Se llevó a cabo la evaluación de residuales para cada intervalo de trabajo obtenido de cada variación de pH, de acuerdo con la Figura 15 se puede observar que para los distintos pH se tiene una dispersión de los datos aleatorizada alrededor del residual = 0 y no presenta un patrón significativo, lo que indica que el método se ajusta correctamente a un modelo lineal (Chicco y col., 2021).

Se determinaron los límites de detección (LoD) y cuantificación (LoQ) para cada una de las variables de pH, como se muestra en el Cuadro 24, los LoD y LoQ para pH 4.5 y 6.5 presentan límites en el mismo orden de concentración, sin embargo, se debe considerar que bajo estos pH's se obtuvo el R^2 de 0.9391 y 0.9074 respectivamente, siendo así los que menos se ajustan al modelo lineal, finalmente comparando lo anterior con el pH 5.5, se puede identificar que se obtuvieron valores de 6.67×10^{-6} M y 8.70×10^{-6} para LoQ y LoD respectivamente, donde se aprecia que es posible obtener datos certeros considerando que a este pH se obtuvo un R^2 de 0.9909, lo cual al ser cercano a 1 permite tener mejor ajuste al modelo lineal (Chicco y col., 2021), lo que convierte a este método en una alternativa para la medición de MLC.

Se llevó a cabo la evaluación de la exactitud a cada una de la variaciones de pH, el Cuadro 25 representa numéricamente las intensidades de pico anódico (Ipa) obtenidas de una serie de 10 repeticiones a una concentración de 2×10^{-5} M, se puede observar en dicho cuadro que los valores de Ipa son cercanos y semejantes unos respecto de otros permitiendo que el coeficiente de variación sea similar entre ellos y tenga valores de 6.69, 6.52 y 8.29 a pH 4.5, 5.5 y 6.5 respectivamente, lo que indica que este método es exacto bajo las tres condiciones de pH y no depende del cambio en esta condición.

En el Cuadro 26 se observa la comparación de los resultados obtenidos de las variaciones de pH a través de un método primario (UV-Vis) y el método electroquímico desarrollado, como se puede observar a un pH de 4.5 los resultados obtenidos de concentración en su respectivo pH se encuentran en mismo rango de concentración para cada método, de igual forma, para un pH de 6.5 los resultados obtenidos para las diferentes concentraciones en ambos métodos mantienen una similitud, que a su vez, comparando lo anterior con lo obtenido a pH 5.5 se observa que se mantienen las concentraciones experimentales dentro del mismo orden de concentración ante las 3 variables de pH, de manera que se infiere que existe veracidad incluso ante la presencia de diferentes pH.

Se realizaron una serie de determinaciones electroquímicas para evaluar la repetibilidad del método ante la variable de pH, los resultados obtenidos se muestran en el Cuadro 27. De acuerdo a lo presentado en el análisis estadístico del Cuadro 27, las variaciones entre las mediciones de las diferentes concentraciones realizadas por el mismo analista, tuvieron a pH 4.5 un coeficiente de variación dentro del límite permitido para concentraciones de 1×10^{-3} y 5×10^{-4} M, sin embargo, se puede observar que para 1×10^{-4} y 5×10^{-5} M existe una variación, esto podría estar relacionado a la inestabilidad del principio activo, así mismo, para valores de pH de 6.5 se encuentra que en concentraciones de 1×10^{-3} M y 5×10^{-4} M la dispersión de los datos no representa un punto de alerta debido a que se encuentran dentro del límite de variación permitido, no obstante, se aprecia nuevamente una variación importante para la concentración 1×10^{-4} y 5×10^{-5} M, al ser las mismas concentraciones que las reportadas para pH 4.5 con los mayores valores de variación, se podría confirmar que el método no tiene el mismo comportamiento bajo este pH, finalmente realizando la comparación de los 3 pH es posible identificar que se tiene una similitud entre coeficiente de variación (CV) de las concentraciones sometidas a experimentación, a excepción de la concentración de 5×10^{-5} M a pH 5.5, donde se obtuvieron valores de CV cercanos a 3, siendo un valor lejano en comparación con los otros pH's, esto puede atribuirse a que las intensidades obtenidas experimentalmente son dependientes del pH ideal del analito, considerando el conjunto de datos se sugiere que sí existe una relación de repetibilidad entre las muestras analizadas para cada uno de los pH sin ser esto último un interferente durante el proceso.

Posteriormente se llevó a cabo la determinación de la reproducibilidad del método desarrollado representado en el Cuadro 28, esta se llevó a cada una de las variaciones de pH y a una serie de concentraciones entre 5×10^{-5} M hasta 1×10^{-3} M, los resultados obtenidos se compararon con los resultados de repetibilidad que son los representados en el Cuadro 27, para pH 4.5 los resultados de intensidad de pico anódico (Ipa) tienen semejanza entre sí al igual que el coeficiente de variación evidenciando el cumplimiento de la reproducibilidad, en el valor de pH 5.5 de igual manera al no haber dispersión entre las Ipa y el coeficiente de variación se concluye

que en estas condiciones el método permanece siendo reproducible (Centro Nacional de Metrología, 2005), de igual manera, para pH 6.5 se mantiene el comportamiento de dispersión entre el coeficiente de variación obtenido de cada analista. Considerando lo anterior, las variaciones conservan una relación con respecto a los otros pH, por lo que se puede decir que el método es reproducible a diferentes pH, pero se deben realizar las experimentaciones cuidando de posibles errores experimentales.

En el Cuadro 29 se pueden observar los porcentajes de recuperación a cada variación de pH para concentraciones de 5×10^{-5} M a 2×10^{-3} M, como se puede observar a pH 5.5 los porcentajes de recuperación obtenidos de las concentraciones son cercanas a 100% esto quiere decir que las recuperaciones se hicieron correctamente y las pérdidas del analito ocuparon un mínimo porcentaje, por otra parte, en pH 6.5 se obtuvieron porcentajes de recuperación inferiores en comparación a los obtenidos para pH 5.5, esto se puede suponer debido a que al incrementar el pH, el MLC se encuentra en mayor proporción la forma aniónica, por lo tanto, la recuperación del analito dependiente de la oxidación puede verse afectada (Šelešovská y col., 2019), en el caso de pH 4.5 nuevamente se obtuvieron valores inferiores a los obtenidos a pH 5.5, esto se puede deber a errores atribuidos a la inestabilidad del analito y a que el método no se comporta adecuadamente bajo pH 4.5 y 6.5, considerando lo anterior se evidencia que se obtienen las mejores recuperaciones son a pH 5.5 y al realizar variaciones del mismo sí afectan considerablemente a las recuperaciones del analito.

En el Cuadro 30 se presentan las concentraciones obtenidas a diferentes pH's de una solución de 3×10^{-3} M de la forma farmacéutica comercial del Meloxicam, como se observa a pH 4.5 se obtuvieron valores de Ipa mayores, esto puede atribuirse a que el Meloxicam trabaja mejor a pH más ácidos, ya que prevalece más la forma catiónica y por tanto, se facilita su oxidación, generando así ensanchamiento de las señales y un aumento considerable en la intensidad de pico anódico, por otra parte, para pH 6.5 las concentraciones se ven disminuidas en comparación con los otros

pH's y esto puede atribuirse a que el Meloxicam a pH más altos se encuentra en su forma aniónica y genera dificultad para oxidarse (Šelešovská y col., 2019). Finalmente, para pH 5.5 se observa que se mantuvieron los valores de concentración de la solución cercanos a la preparada inicialmente (3×10^{-3} M), comprobando así que el pH ideal para el manejo del MLC es 5.5 y a su vez, considerando las mediciones anteriores se puede proponer que el uso de la tableta podría utilizarse para la realización de las pruebas electroquímicas, sin necesidad de un material de referencia, reduciendo a su vez los costos de experimentación y sin tener interferencias con respecto a los excipientes presentes en la forma farmacéutica.

7. CONCLUSIONES

La modificación con nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNT) a una concentración de 2 mg sobre el electro de trabajo (GC) permite una mayor superficie de contacto para la detección del Meloxicam.

El método es capaz de trabajar selectivamente para el Meloxicam (MLC) aún en presencia de otro analito perteneciente al grupo de Antiinflamatorios No Esteroideos (AINEs): Ibuprofeno (IBP).

La linealidad del método permite trabajar en un intervalo de 1×10^{-6} M a 5×10^{-3} M, y a su vez en un intervalo de trabajo de 1×10^{-5} M a 2×10^{-3} M, por lo tanto, fue posible obtener un Límite de Detección de 6.67×10^{-6} M y un Límite de Cuantificación 8.70×10^{-6} M. Considerando lo anterior, el método desarrollado permite detectar y cuantificar a concentraciones menores de 5×10^{-4} M, por tanto, se puede asumir que la hipótesis es correcta.

El método demostró ser veraz debido a que los resultados obtenidos entre el método propuesto y el método primario (UV-Vis) presentaron en el mismo rango de concentración las mediciones, confirmando la existencia del analito.

El método mostró ser preciso al evaluar la reproducibilidad, obteniendo coeficientes de variación (CV) por debajo del 5% en una concentración de 1×10^{-3} M, 5×10^{-4} M y 5×10^{-5} M. Por otra parte, se demostró la precisión con la determinación de la repetibilidad, obteniendo coeficiente de variación dentro del límite permitido para un rango de concentración de 1×10^{-3} M a 5×10^{-5} M.

Se demostró a partir de las pruebas de robustez que la variable del pH es un parámetro directamente relacionado con el comportamiento del analito, por tanto, no es indicativo de la robustez del método.

El método permitió obtener porcentaje de recuperación por arriba del 84.01% en un rango de concentración de 2×10^{-3} M a 5×10^{-5} M, lo que permite identificar en qué proporción esta reaccionando el Meloxicam en el barrido voltamperométrico.

El método fue capaz de llevarse a cabo utilizando una solución a concentración de 3×10^{-3} M de formas farmacéuticas comerciales (tabletas) de Meloxicam, demostrando que los excipientes no interfieren para llevar a cabo correctamente la oxidación del Meloxicam.

8. REFERENCIAS

Abdul-Rahim Z, Yusof N, Mohammad-Haniff M, Mohammad F, Syono M, Daud N. Electrochemical Measurements of Multiwalled Carbon Nanotubes under Different Plasma Treatments. *Materials*. **2018**;11:1902-1913.

Ağın F, Atal S. Electroanalytical Determination of Antiinflammatory Drug Tenoxicam in Pharmaceutical Dosage Forms. *Turk J Pharm Sci*. **2019**;16:184-190.

Al-Momani IF. Indirect flow-injection spectrophotometric determination of meloxicam, tenoxicam and piroxicam in pharmaceutical formulations. *Anal Sci*. **2006**;22:1611-1614.

Andrade-Guel ML, López-López LI, Sáenz-Galindo A. Nanotubos de carbono: funcionalización y aplicaciones biológicas. *Rev Mex Cienc Farm*. **2012**;43:9-18.

Arzaee NA, Mohamad-Noh MF, Halim AA, Faizal-Abdul-Rahim M.A, Haziqah-Mohd-Ita NS, Mohamed NA, Farhana-Mohd-Nasir SN, Fazli-Ismail A, Mat-Teridi MA. Cyclic voltammetry -A promising approach towards improving photoelectrochemical activity of hematite. *J. Alloys Compd*. **2021**;852:156757.

Beitollahi H, Movahedifar F, Tajik S, Jahani S. A Review on the Effects of Introducing CNTs in the Modification Process of Electrochemical Sensors. *Electroanalysis*. **2018**;31:1195–1203.

Beltagi AM, Ghoneim MM, Radi A. Electrochemical reduction of meloxicam at mercury electrode and its determination in tablets. *J Pharm Biomed Anal*. **2002**;27:795-801.

Cassoux P, Valade L, Fabre PL. Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering Comprehensive Coordination Chemistry II: Elsevier, **2003**:761-773.

Centro Nacional de Metrología. Métodos analíticos adecuados a su propósito: guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados. 2a edición. Querétaro: Eurachem, **2005**.

Chicco D., Warrens MJ., Jurman G. The coefficient of determination R-squared is more informative than smape, Mae, MAPE, MSE and RMSE in regression analysis evaluation. PeerJ Comput. Sci. **2021**;7.

Clària J. Los nuevos antiinflamatorios. Med Integral. **2001**;38:175-183.

De Campos O. Meloxicam, un AINE con características especiales. AVFT. 2019;36:151-158

Duan X, Tian L, Liu W, Chang L. Study on electrochemical oxidation of 4-Chlorophenol on a vitreous carbon electrode using cyclic voltammetry. Electrochim. **2013**;94:192–197.

Farhadi K, Karimpour AA. Electrochemical Determination of Meloxicam in Pharmaceutical Preparation and Biological Fluids Using Oxidized Glassy Carbon Chem Pharm Bull. **2007**;55:638–642.

FEUM. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 11 edición. México: Secretaria de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, **2014**.

Farhadi K., Karimpour A. Electrochemical determination of Meloxicam in pharmaceutical preparation and biological fluids using oxidized glassy carbon electrodes. Chem. Pharm. Bull. **2007**;55(4):638–642.

Forster R, Cumba L. Cyclic Voltammetry of Organic Compounds. Chem Eng Sci. **2019**:197-208

Gannon JFW, Dunnill CW. Apparent disagreement between cyclic voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy explained by time-domain simulation of constant phase elements. *Int J Hydrogen Energy*. **2020**;45:22383-22393.

Gómez-Biedma S, Soria E, Vivó M. Análisis electroquímico. *Rev Diagn Biol* **2002**;51:18-27.

Gris JH, Dragonetti MA, Fernández BM, Moglioni AG. Modelado Molecular e Interacción Enzima-Ligando (Docking) de Antiinflamatorios Derivados de 4-Hidroxi 1,2-Benzotiazinas-3-Carboxamidas, 1,1-Dióxido. *Inf. Tecnol.* **2009**;20(4):51-61.

Harris DC. Análisis químico cuantitativo. 3a. edición. Barcelona: Editorial Reverté, **2007**:394-396.

Hasan SH, Othman NS, Surchi KM. Development and Validation of a UV-Spectrophotometric Method for Determination of Meloxicam in Bulk and in Tablet Formulations. *Int J Pharm Sci Res.* **2015**;6:1040-1045.

Ji HY, Lee HW, Kim YH, Jeong DW, Lee HS. Simultaneous determination of piroxicam, meloxicam and tenoxicam in human plasma by liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B Biomed. Appl.* **2005**;826:214-219.

Kamran U, Heo Y-J, Lee J, Park S-J. Functionalized Carbon Materials for Electronic Devices: A Review. *Micromachines.* **2019**;10:234.

Kongkaew S, Kanatharana P, Thavarungkul P, Limbut W. Studying the preparation, electrochemical performance testing, comparison and application of a cost-effective flexible graphene working electrode. *J. Colloid Interface Sci.* **2021**;583:487-498.

Lemke L, Williams A. Foye 's Principles of Medicinal Chemistry. 7a. edición. Philadelphia: Editorial Lippincott Williams & Wilkins, **2013**:1018-1021.

Leniart A, Brycht M, Burnat B, Skrzypek S. Voltammetric determination of the herbicide protham on glassy carbon electrode modified with multi-walled carbon nanotubes. *Sensor Actuat B-Chem.* **2016**;231:54–63.

Mahood AM, Najm NH. Spectrophotometric Estimation of Meloxicam Using Charge Transfer Complex. *lop Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.* **2019**;571:012081.

Manjunatha P, Arthoba Nayaka Y, Chethana BK, Vidyasagar CC, Yathisha RO. Development of multi-walled carbon nanotubes modified pencil graphite electrode for the electrochemical investigation of aceclofenac present in pharmaceutical and biological samples. *Sens Biosensing Res.* **2018**;17:7-17.

Mayanna SM. Metal finishing. 55a edición. Hackensack, N.J: Metals and Plastics Publications, **1987**;85:15.

Moosavi H, Mohammadi M, Farajpour A, Shahidi SH. Vibration analysis of nanorings using nonlocal continuum mechanics and shear deformable ring theory. *Physica E.* **2011**;44:135-140.

Oscanoa-Espinoza T, Lizaraso-Soto F. Antiinflamatorios no esteroideos: seguridad gastrointestinal, cardiovascular y renal. *Rev Gastroenterol Perú.* **2015**;35:63-71.

Park J., Dereche L. How to Interpret a Residual Plot Take Online Courses. Earn College Credit. Research Schools, Degrees & Careers. **2003**. <https://study.com/skill/learn/how-to-interpret-a-residual-plot-explanation.html>

Pérez Ruiz, A.A., López Mantecón, A.M., & Grau León, I. Antiinflamatorios no esteroideos (AINES): Consideraciones para su uso estomatológico. *Rev Cubana Estomatol.* **2002**;39:119-138.

PLM ® MEXICO SA de CV. Diccionario de especialidades farmacéuticas. 62 edición. México: Litografía Magno Graf, **2016**.

Saito Y, Kikuchi T. Voltammetry: Theory, Types and Applications by Chemical engineering methods and technology. Nova Publishers, **2014**:363.

Samiul A, Jaya V, Mashitah M. Recent uses of carbon nanotubes & gold nanoparticles in electrochemistry with application in biosensing: A review. Biosensors and Bioelectronics. **2018**;121:125-136.

Secretaría de Salud. **2015.** Normas Oficiales Mexicanas. <https://www.gob.mx/salud/en/documentos/normas-oficiales-mexicanas-9705>

Šelešovská R., Hlobeňová F., Skopalová J., Cankař P., Janíková L., Chýlková J. Electrochemical oxidation of anti-inflammatory drug meloxicam and its determination using boron doped diamond electrode. J. Electroanal. Chem. **2019**;113758.

Serp P. Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering: Comprehensive Inorganic Chemistry II. 2da edición. Toulouse: Elsevier, **2013**; vol.7:323-369.

Tyszczyk-Rotko K., Kozak J., Węzińska A. Electrochemically activated screen-printed carbon electrode for determination of Ibuprofen. Appl. Sci. **2021**;11(21): 9908.

Vardanyan R, Hruby V. Analgesics. Synthesis of Best-Seller Drugs. Arizona: Academic Press, **2016**:19-21.

Velázquez de Campos, O. Evidencias para el uso combinado de meloxicam -esomeprazol. AVFT. **2017**;36(1):26-32.

Velvizhi G., Venkata-Mohan S., Varjani S., Pandey A. Biomass, Biofuels, Biochemicals: Microbial Electrochemical Technology: Sustainable Platform for Fuels, Chemicals and Remediation. Amsterdam: Elsevier, **2019**:587-612.

Wang C., Wang Z., Guan J., Hu, X. Voltammetric determination of Meloxicam in pharmaceutical formulation and human serum at glassy carbon electrode modified by cysteic acid formed by electrochemical oxidation of L-cysteine. Sensors. **2006**; 6(9), 1139–1152.

Williams A. N., Cao G., Shaltry M. R. Voltammetry measurements in lithium chloride-lithium oxide (LiCl–Li₂O) salt: An evaluation of working electrode materials. *J Nucl Mater.* **2021**;546:152760.

Xu, S., Rouzer, C. A., Marnett, L. J. Oxicams, a class of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and beyond. *IUBMB.* **2014**; 66(12), 803-811.