

DESARROLLO DE UN ELECTRODO PARA LA DETECCIÓN DE LACTATO ANTES Y DURANTE EL ESFUERZO FÍSICO

ELECTRODE FOR THE DETECTION OF LACTATE BEFORE AND DURING PHYSICAL EFFORT

Gabriel Gallardo (1)
Anahí Garrido (2)
Ximena Hernández (3)
Fernanda Martínez (4)
Liliana Martínez (5)
Yolanda Mirón (6)
Raúl Morgan (7)
Gabriel Ramos (8)
Dr. Joaquín Alvarado (9)

Licenciatura en biotecnología FCB BUAP

Correos:

gabriel.gallardoa@alumno.buap.mx
gz202335959@alm.buap.mx
hm202336692@alm.buap.mx
mm202347166@alm.buap.mx
liliana.martinezt@alumno.buap.mx
ml202348074@alm.buap.mx
mh202348758@alm.buap.mx
rm202352541@alm.buap.mx
joaquin.alvarado@correo.buap.mx

<https://orcid.org/0009-0004-0152-1737>
<https://orcid.org/0009-0005-8352-1614>
<https://orcid.org/0009-0008-2896-7551>
<https://orcid.org/0009-0000-5393-8455>
<https://orcid.org/0009-0004-6159-2844>
<https://orcid.org/0009-0009-1634-6878>
<https://orcid.org/0009-0003-6476-5969>
<https://orcid.org/0009-0000-7841-6717>

Folio: A11N115.29/1023

Resumen

Basado en un proyecto de investigación en biofísica en la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP), se realizó un estudio con el objetivo de desarrollar una técnica electroquímica simple y de bajo costo para la detección de lactato en saliva. El lactato es un metabolito clave producido durante el metabolismo anaerobio de la glucosa, y su acumulación es un indicador ampliamente reconocido de la fatiga muscular durante el esfuerzo físico. La metodología propuesta consiste en inmovilizar la enzima Lactato Deshidrogenasa (LDH) sobre un electrodo, utilizando materiales como nanopartículas y sílice mesoporoosa. La reacción enzimática se mide electroquímicamente mediante un Analizador de Parámetros de Dispositivos Semiconductores, que detecta la corriente generada a partir de la oxidación del lactato. Este enfoque busca proporcionar una alternativa accesible y eficiente frente a métodos más complejos y costosos como la RMN para el monitoreo de umbrales de lactato.

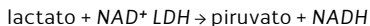
Palabras clave: Lactato; Electrodo; Esfuerzo físico; NADH.

Abstract

Lactate is a byproduct of glucose metabolism, generated when cells produce energy in the absence of sufficient oxygen. It is also key in physical activity, as its accumulation is linked to muscle fatigue. There are several methods for measuring lactate, one of which is in the presence of saliva. Therefore, in this project, we will develop a technique to detect it using enzyme immobilization and electrochemical measurements, following a procedure from attaching an electrode to obtaining the results of salivary lactate measurements.

Lactato y su relación con el esfuerzo físico

El metabolismo energético humano depende principalmente de la vía aeróbica; sin embargo, durante actividad física intensa y sostenida se activa la vía anaeróbica, en la cual la lactato deshidrogenasa (LDH) cataliza la conversión reversible de lactato a piruvato.



Este proceso ocurre principalmente en glóbulos rojos, médula espinal, cerebro y músculo esquelético. En condiciones normales, la concentración de lactato en sangre oscila entre 0.5-1.5 mmol/L, manteniéndose estable gracias a la depuración realizada por hígado y riñones. No obstante, durante esfuerzos elevados se alcanza el umbral de lactato, punto en el que la producción supera la capacidad de eliminación, lo que provoca su acumulación y se asocia con la aparición de fatiga muscular.

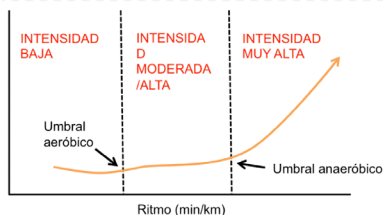


Figura 1. Relación de la concentración de lactato con la intensidad del ejercicio realizado.
<https://franruiz.neocities.org/OCR/tips>

La detección de lactato es fundamental en medicina y deporte, por lo que proponemos un biosensor basado en lactato deshidrogenasa (LDH) y nanopartículas metálicas con sílice mesoporosa, que permite cuantificarlo mediante la conversión de lactato a piruvato y la generación proporcional de NADH. Este sistema ofrece ventajas frente a métodos tradicionales como quimioluminiscencia o pruebas colorimétricas, al ser más económico, portátil, rápido y con alta selectividad en matrices complejas como la saliva.

Diseño del biosensor

Un biosensor funciona como un “detector biológico” que reconoce una sustancia específica y transforma esa reacción en una señal eléctrica medible. Está formado por:

- Biorreceptor: identifica la molécula de interés (en este caso, lactato)
- Transductor: convierte la reacción biológica en una señal eléctrica.

En este trabajo se desarrolló un biosensor electroquímico, que mide cambios en corriente o voltaje generados por reacciones enzimáticas. Para ello se emplea un sistema de tres electrodos:

- Electrodo de trabajo (WE): contiene el biorreceptor.
- Electrodo de referencia (RE): mantiene estable y confiable la medición.
- Contraelectrodo (CE): permite que circule la corriente.

La enzima usada fue LDH seleccionada por su alta especificidad y porque convierte lactato en piruvato sin requerir oxígeno. En cuanto a materiales, se utilizó PET-ITO (plástico flexible recubierto con una capa conductora de óxido de indio y estaño), ideal para sensores portátiles y de bajo costo. Los electrodos se imprimieron con tinta de plata, que ofrece buena conductividad y bajo precio. Para mejorar el desempeño, el electrodo de trabajo se modificó con nanomateriales:

- Óxido de zinc (ZnO), que facilita la transferencia de electrones.
- Sílice mesoporosa (mSiO_2), que proporciona una superficie porosa para fijar mejor las enzimas.

Gracias a estas optimizaciones, el sensor logra mayor sensibilidad.

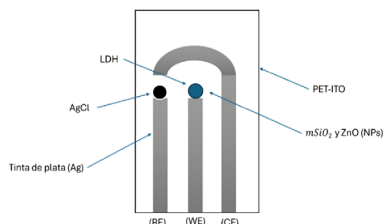


Figura 2. Diagrama representativo del biosensor de lactato y el sistema de 3 electrodos. Diagrama elaborado por el autor.

Elaboración del biosensor

1. El biosensor se construyó utilizando pequeñas placas de PET-ITO, un material plástico flexible recubierto con una capa conductora. Tras limpiarlas, se diseñó y recortó la forma de los electrodos con ayuda de plantillas y cinta especial. Posteriormente, se aplicó pintura de plata para formar las pistas conductoras y se fijó mediante calentamiento.
2. Para los electrodos de referencia se añadieron compuestos de plata y cloro, y se prepararon distintas variantes del electrodo de trabajo: algunos con nanopartículas de ZnO y sílice mesoporosa ($mSiO_2$), y otros solo con $mSiO_2$. Sobre el electrodo de trabajo se inmovilizó la enzima LDH capaz de reaccionar específicamente con el lactato.
3. Enseguida se incorporó una solución con el cofactor NADH y, finalmente, los electrodos se conectaron a un potenciostato, un instrumento que mide corrientes eléctricas muy pequeñas. Primero se probaron con NADH puro y después con muestras de saliva, comprobando así la capacidad del biosensor para detectar lactato en condiciones reales.



Figura 3. Conexión de los electrodos analizador. Imagen elaborada por el autor.

Se obtuvieron muestras de saliva de una mujer de 20 años (1.60 m, 70 kg) en condiciones controladas (27 °C, hidratación normal). La participante enjuagó su boca 15 minutos antes de la recolección. Se tomaron dos muestras de 1.5 mL en microtubos de polipropileno, una en reposo y otra tras el esfuerzo físico, junto con el registro de la frecuencia cardíaca.

La prueba de esfuerzo consistió en caminar 1 km a ~5 m/s sobre una pendiente de 40°. La muestra en reposo se tomó con una frecuencia cardíaca de 107 lpm, y la muestra post-esfuerzo se recolectó inmediatamente después, con una frecuencia de 182 lpm.

Reducción de NADH a NAD⁺

Para evaluar la presencia de lactato en muestras saliva, se implementaron ambos tipos de electrodos fabricados (con $mSiO_2$ -ZnO en los electrodos #1 y #2 y con solo $mSiO_2$ en los electrodos #3 y #4) para reducir el NADH depositado en cada electrodo a NAD⁺. Esto se realizó en una medición inicial con el Analizador de Parámetros de Dispositivos Semiconductores Keysight B1500A, aplicando una medición A-V (corriente-voltaje) a 1 V hasta observar una trayectoria satisfactoria de aumento de corriente en el gráfico de salida del sistema (Figura 4). Este proceso se repite con el resto de los electrodos.

Una vez realizada la oxidación de NADH en cada electrodo, fue colocada una muestra salival previa al esfuerzo físico en el electrodo de $\text{mSiO}_2\text{-ZnO}$. En este se realizaron 3 ciclos de medición con el KEYSIGHT B1500A (Figura 5), donde se observa cómo durante la primera medición se presenta un aumento en la corriente hasta 42 mA en comparación con su previa oxidación (Figura 4); en las mediciones 2 y 3, la trayectoria se muestra diferente, esto al transformar más lactato presente en la muestra. Por otro lado, la muestra salival recolectada durante el esfuerzo físico debería mostrar niveles más altos en la corriente durante las mediciones

(Figura 6); sin embargo, una vez completada la ruta, la corriente es menor en cada uno de los ciclos.

Con la muestra salival previa al esfuerzo en el electrodo de mSiO_2 , se muestra una corriente máxima de 25 mA (Figura 7). En el caso del electrodo con mSiO_2 y la muestra salival durante el ejercicio (Figura 8), muestra una vaga diferencia al comportamiento del gráfico anterior (Figura 7); debido a un aumento similar a una línea recta, debido a esto fue difícil determinar con claridad el punto donde ocurre la oxidación.

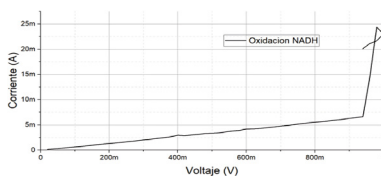


Figura 4. Oxidación de NADH a NAD^+ en el electrodo #1 de $\text{mSiO}_2\text{-ZnO}$ sin saliva en medición de A-V. Gráfico de elaboración propia.

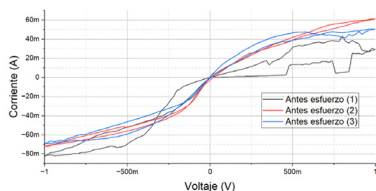


Figura 5. Actividad del electrodo #1 de $\text{mSiO}_2\text{-ZnO}$, incorporado con muestra salival previo al esfuerzo físico. Gráfico de elaboración propia.

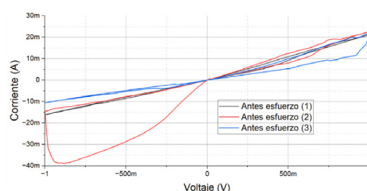


Figura 7. Actividad del electrodo #3 de mSiO_2 , incorporado con muestra salival previa al esfuerzo físico. Gráfico de elaboración propia.

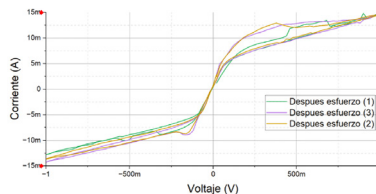


Figura 6. Actividad del electrodo #2 de $\text{mSiO}_2\text{-ZnO}$, incorporado con muestra salival durante el esfuerzo físico. Gráfico de elaboración propia.

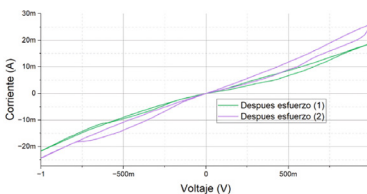


Figura 8. Actividad del electrodo #4 de mSiO_2 , incorporado con muestra salival durante el esfuerzo físico. Gráfico de elaboración propia.

Conclusiones

El conocimiento de los niveles de lactato salival durante o después del esfuerzo físico nos permite saber que estos son proporcionales a la corriente medida. Por lo tanto, una medición más baja indica una menor presencia de lactato, como se observa en las gráficas.

La incorporación de nanopartículas de ZnO junto con mSiO₂ incrementa la señal frente al uso exclusivo de mSiO₂, lo que nos permite diseñar electrodos más selectivos y fáciles de construir, útiles tanto en el monitoreo durante ejercicio como talvez en el diagnóstico clínico.

Declaración de privacidad

Los datos de este artículo, así como los detalles técnicos para la realización del experimento, se pueden compartir a solicitud directa con el autor de correspondencia.

Los datos personales facilitados por los autores a rd-icuap se usarán exclusivamente para los fines declarados por la misma, no estando disponibles para ningún otro propósito ni proporcionados a terceros.

Conflicto de interés

Los autores de este manuscrito declaran no tener ningún tipo de conflicto de interés.

Agradecimientos

Al docente y asesores por el apoyo brindado durante la formación académica de este curso.

Castro-Ortiz LP, Luna Pabello VM, Villalobos Pietrini R. State of the art and perspectives of the use of environmental biosensors in Mexico. *Int J Environ Pollut*. 2007;23(1):35-45.

Cocuzza C, Antoniono E, Ottone C, Cauda V, Fino D, Piumetti M. Preparation of a mesoporous biosensor for human lactate dehydrogenase for potential anticancer inhibitor screening. *ACS Biomater Sci Eng*. 2023;9(11):6045-57. Doi:10.1021/acsbmaterials.3c00582.

Daniel B. What is lactate and how does it affect our athletic performance? Onalabs. 2021 Sep 17 [cited 2025 Sep 8]. Available from: <https://onalabs.com/2021/09/17/what-is-lactate-and-how-does-it-influence-our-sports-performance/>

Ding Y, Yang L, Wen J, Ma Y, Dai G, Mo F, Wang J. A comprehensive review of advanced lactate biosensor materials, methods, and applications in modern healthcare. *Sensors (Basel)*. 2025;25(4):1045. Doi:10.3390/s25041045.

García-Guzmán JJ, Sierra-Padilla A, Palacios-Santander JM, Fernández-Alba JJ, Macías CG, Cubillana-Aguilera L. What is left for real-life lactate monitoring? Current advances in electrochemical lactate (bio)sensors for agri-food and biomedical applications. *Biosensors (Basel)*. 2022;12(11):919. Doi:10.3390/bios12110919.

Higgins C. Lactate and lactic acidosis. *Acutecaretesting*. 2007 Oct [cited 2025 Sep 8]. Available from: <https://acutecaretesting.org/en/articles/lactate-and-lactic-acidosis/>

İnce B, Sezgintürk MK. A high sensitive and cost-effective disposable biosensor for adiponectin determination in real human serum samples. *Sens Actuators B Chem*. 2020;328:129051. Doi:10.1016/j.snb.2020.129051.

Istrate O-M, Rotariu L, Bala C. Amperometric L-lactate biosensor based upon a gold nanoparticles/reduced graphene oxide/poly(allylamine hydrochloride) modified screen-printed graphite electrode. *Chemosensors*. 2021;9(4):74. Doi:10.3390/chemosensors9040074.

- Kumar S, Kumar S, Ali MA, Anand P, Agrawal VV, John R, Malhotra BD. Lactose biosensor based on lactate oxidase immobilized onto graphene oxide nanoparticles. *J Biotechnol.* 2018;281:49-56.
- Lanzalaco S, Molina BG. Polymers and plastics modified electrodes for biosensors: a review. *Molecules.* 2020;25(10):2446. Doi:10.3390/molecules25102446.
- Li H, Liu X, Li L, Mu X, Genov R, Mason AJ. CMOS electrochemical instrumentation for biosensor microsystems: a review. *Sensors (Basel).* 2017;17(1):74. Doi:10.3390/s17010074.
- Maafa IM. Potential of zinc oxide nanostructures in biosensor applications. *Biosensors (Basel).* 2025;15(1):61. Doi:10.3390/bios15010061.
- Martínez DL, Borsani JMC, Carrasco CR. Oxygen saturation and lactate testing in cyclists. *MLS Sport Res.* 2021;1(2). Doi:10.54716/mlssr.v1i2.673.
- Nesakumar N, Thandavan K, Sethuraman S, Krishnan UM, Rayappan JBB. An electrochemical biosensor with nanointerface for lactate detection based on lactate dehydrogenase immobilized on zinc oxide nanorods. *J Colloid Interface Sci.* 2013;414:90-6. Doi:10.1016/j.jcis.2013.09.052.
- Pathiyil V, D'Cruz AM. Salivary lactate dehydrogenase as a prognostic marker in oral squamous cell carcinoma patients following surgical therapy. *J Exp Oncol.* 2017;11(2):133-7.
- Pietricola G, Tommasi T, Dosa M, Camelin E, Berruto E, Ottone C, et al. Synthesis and characterization of ordered mesoporous silicas for the immobilization of formate dehydrogenase (FDH). *Int J Biol Macromol.* 2021;177:261-70. Doi:10.1016/j.ijbiomac.2021.02.114.
- Renedo OD, Alonso-Lomillo M, Martínez MA. Recent developments in the field of screen-printed electrodes and their related applications. *Talanta.* 2007;73(2):202-19. Doi:10.1016/j.talanta.2007.03.050.

- Santamaria J, Caicedo C. Determination of the lactate threshold during training. National University of Chimborazo. Riobamba, Ecuador; 2023 [cited 2025 Sep 8]. Available from: <http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/11377/1/UNACH-EC-FCEHT-PAFD-0028-2023.pdf>
- Shen Y, Liu C, He H, Zhang M, Wang H, Ji K, et al. Recent advances in wearable biosensors for non-invasive detection of human lactate. *Biosensors (Basel)*. 2022;12(12):1164. Doi:10.3390/bios12121164.
- Srinivasan B, Muthukumar S, Prasad S. Smartphone-based portable biosensor for salivary lactate detection. *Sens Actuators B Chem*. 2017;246:894-900. Doi:10.1016/j.snb.2016.12.086.
- Veracruz University. High-performance liquid chromatography (HPLC). [cited 2025 Sep 8]. Available from: <https://www.ultravioleta.mx/sara/equipamiento/hplc/3>
- Velasco-Garcia MN, Mottram T. Biosensor technology addressing agricultural problems. *Biosyst Eng*. 2003;84(1):1-12. Doi:10.1016/s1537-5110(02)00236-2.