

<https://dx.doi.org/10.17488/RMIB.47.SI-TAIH.1521>

E-LOCATION ID: e1521

## Modificación de electrodos-impresos con Azul de Prusia y enzima para el control de diabetes en sudor: Estudio preliminar de viabilidad

**Modification of screen-printed electrodes with Prussian Blue (PB) and enzyme for diabetes control in sweat: Preliminary feasibility study.**

Reyna Gutiérrez-Gutiérrez<sup>1</sup> , Bruno U. Godínez-Dávalos<sup>1</sup> , Moisés I. Salazar-Gastélum<sup>1</sup> , José Ricardo Cárdenas-Valdez<sup>1</sup> , Sergio Pérez-Sicairos<sup>1</sup> , Mara Beltrán-Gastélum<sup>1</sup>  .

<sup>1</sup>Instituto Tecnológico de Tijuana, Baja California - México

### RESUMEN

La prevalencia de diabetes en México ha aumentado considerablemente en los últimos 20 años, aumentando así la necesidad de desarrollar plataformas de monitoreo de glucosa no invasivas y confiables. La presente investigación se enfoca en el desarrollo y la evaluación de una novedosa plataforma de monitoreo no invasiva para la cuantificación de niveles de glucosa en el sudor. Dicha plataforma se basa en el uso de electrodos impresos modificados con un mediador electroquímico de Azul de Prusia (PB) y con una enzima altamente específica, como la glucosa-oxidasa ( $\text{GO}_x$ ). Adicionalmente, presentamos el diseño de un dispositivo electrónico portátil para la generación de la señal de perturbación y el procesamiento de las señales de respuesta del analito. El sistema se evaluó en una solución buffer de fosfato salino (PBS) 0.1 M, suministrada con diferentes concentraciones de glucosa adecuadas fisiológicamente. Los resultados demostraron que el mediador de PB desempeña un papel fundamental en la detección de glucosa, debido a que el electrodo modificado con la enzima, pero sin el mediador PB, no mostró tendencia, mientras que el electrodo modificado con PB y enzima presentó un buen coeficiente de correlación, con una sensibilidad analítica de  $0.0008 \text{ mA } \mu\text{M}^{-1}$ . Este avance podría revolucionar el campo de la monitorización de la glucosa, facilitando tecnologías de salud más accesibles y menos invasivas.

**PALABRAS CLAVE:** azul de prusia, electrodos impresos, glucosa, monitoreo no invasivo, sensor enzimático.

## ABSTRACT

The prevalence of diabetes in Mexico has increased considerably over the past 20 years, thus increasing the need for the development of non-invasive and reliable glucose monitoring platforms. The present research focus on the development and evaluation of a novel non-invasive glucose monitor for the quantification of glucose levels in sweat. This platform is based on the use of screen-printed electrodes modified with a Prussian Blue (PB) electrochemical mediator and the glucose oxidase ( $GO_x$ ) enzyme to provide glucose specificity. Additionally, we present the design of a portable electronic device for generating the input signal and processing the analyte output signals. The system was evaluated in a 0.1 M phosphate buffered saline (PBS) solution supplemented with different physiologically relevant glucose concentrations. The results demonstrated that the PB mediator plays a key role in the detection of glucose, since the control electrode modified with the enzyme but lacking the PB mediator did not show trend, while the electrode modified with PB and enzyme showed a good correlation coefficient with analytical sensitivity of  $0.0008 \text{ mA } \mu\text{M}^{-1}$ . This finding could revolutionize the field of glucose monitoring, facilitating more accessible and less invasive health technologies.

**KEYWORDS:** enzymatic sensor, glucose, non-invasive monitoring, prussian blue, screen-printed electrode.

## Autor de correspondencia

DESTINATARIO: MARA BELTRÁN-GASTÉLUM.

INSTITUCIÓN: INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TIJUANA, BAJA CALIFORNIA - MÉXICO.

DIRECCIÓN: BLVD. ALBERTO LIMÓN PADILLA Y AV. ITR DE TIJUANA S/N, MESA DE OTAY, C.P. 22500, TIJUANA, BAJA CALIFORNIA

CORREO ELECTRONICO: mara.beltran@tectijuana.edu.mx

## Recepción:

13 Febrero 2025

## Aceptación:

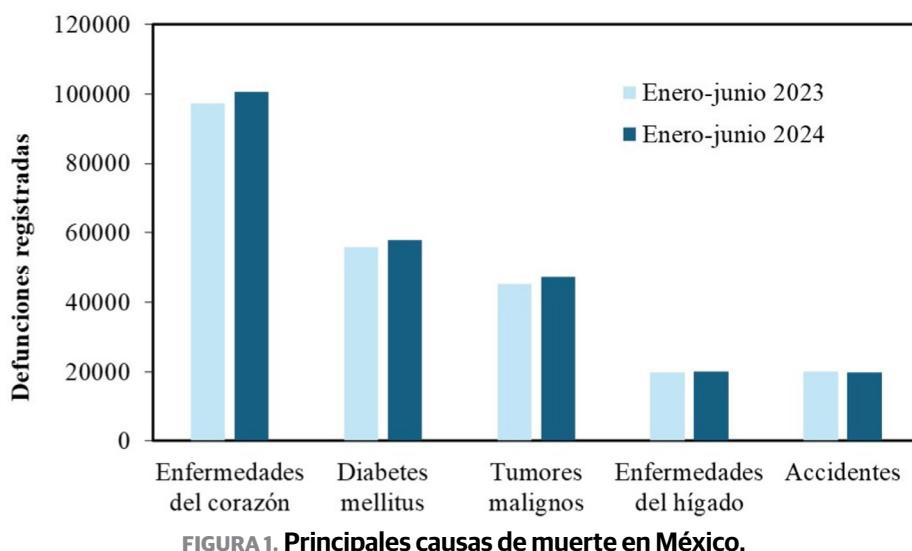
28 Abril 2025

## Publicación:

30 Enero 2026

## INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años, la prevalencia de diabetes *mellitus* ha aumentado de forma considerable entre la población y actualmente se encuentra entre las principales causas de muerte y discapacidad en todo el mundo<sup>[1]</sup>. Según información del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), entre enero y junio de 2024 se registraron 57,986 defunciones a causa de diabetes *mellitus* en México, lo que representa un aumento del 3.79 % con respecto a 2023, como se muestra en la Figura 1<sup>[2]</sup>. Esto posiciona a este padecimiento como la segunda causa de fallecimiento en México, siendo superada únicamente por las enfermedades cardiovasculares.



**FIGURA 1. Principales causas de muerte en México.**

La diabetes *mellitus* es un trastorno metabólico crónico caracterizado por una concentración alta de glucosa en sangre, resultado de alteraciones en la fabricación, secreción o acción de la insulina<sup>[3][4]</sup>. En general, la diabetes *mellitus* se suele clasificar en dos tipos: una forma autoinmune de aparición temprana (diabetes tipo 1, DT1) y una forma no autoinmune de aparición tardía (diabetes tipo 2, DT2)<sup>[5]</sup>. Además, existen otros subtipos de diabetes, como la diabetes gestacional, la diabetes monogénica y otros tipos especiales debido enfermedades o condiciones específicas. Sin embargo, la forma más común de diabetes es la DT2, la cual representa entre el 90 y el 95 % de todos los casos en el mundo<sup>[5][6]</sup>.

En la DT1 el sistema inmunológico destruye las células beta del páncreas encargadas de producir insulina, por lo que los pacientes con esta enfermedad deben administrarse insulina desde su diagnóstico. La DT1 se diagnostica generalmente en niños y adultos jóvenes, aunque puede aparecer a cualquier edad<sup>[4]</sup>. Sus complicaciones se relacionan principalmente con desajustes en el control de la glucosa, lo que puede llevar a cetoacidosis diabética, problemas renales, neuropatía y enfermedades cardiovasculares<sup>[7]</sup>.

Por otra parte, la DT2 se caracteriza por una disminución progresiva de la secreción de insulina y por el desarrollo de resistencia a la insulina. Se presenta con mayor frecuencia en adultos de mediana y tercera edad. No obstante, su incidencia ha aumentado en niños y adultos jóvenes debido a la obesidad, el estilo de vida sedentario y los malos hábitos alimenticios<sup>[3]</sup>. Las complicaciones suelen ser el resultado de un control insuficiente de la glucosa durante muchos años, lo cual puede ocasionar daños irreversibles en los riñones y los ojos, aumentando el riesgo de des-

prendimiento de retina y ceguera<sup>[5][8]</sup>. Además, las personas con DT2 tienen un riesgo de por vida de 15 a 25 % de laceraciones en los pies y un riesgo 15 veces mayor de amputación de las extremidades inferiores, en comparación con las personas sin diabetes, así como un riesgo entre dos y diez veces mayor de sufrir complicaciones cardiovasculares<sup>[5]</sup>.

El monitoreo frecuente de la glucosa en sangre es fundamental para comprender la progresión de la enfermedad y prevenir las complicaciones asociadas a esta<sup>[9]</sup>. El método estándar de monitoreo es la medición de la glucemia capilar empleando un glucómetro con tiras reactivas. La concentración normal de glucosa en sangre de un paciente sano es de entre 4.6 y 5.9 mmol L<sup>-1</sup> (80-99 mg dL<sup>-1</sup>)<sup>[10][11]</sup>; sin embargo, para un paciente diabético esta concentración puede variar desde 2 a 40 mmol L<sup>-1</sup><sup>[12]</sup>. La medición por glucemia capilar es un método rápido y sencillo, no obstante, presenta la desventaja de ser invasivo, doloroso y requerir de múltiples mediciones diarias. Se recomienda un mínimo de cuatro mediciones por día para un paciente diabético adulto y de hasta ocho mediciones en niños y adolescentes en terapia con insulina<sup>[13]</sup>.

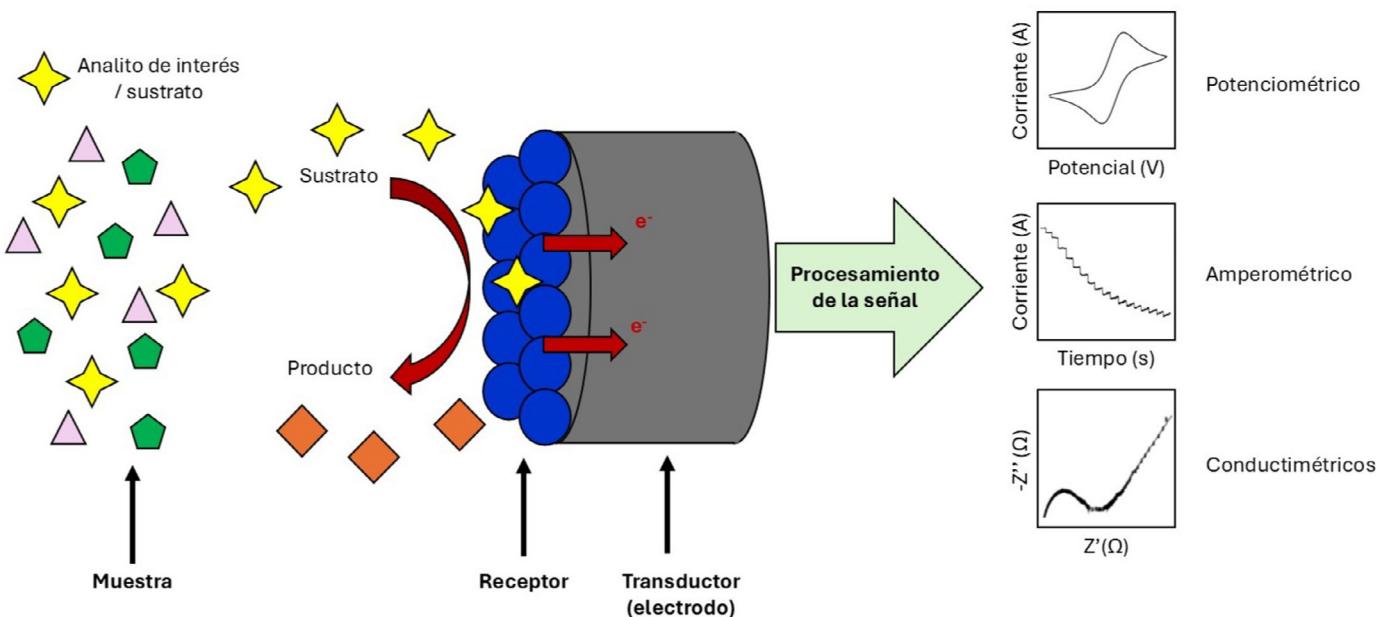
Una alternativa prometedora es el monitoreo no invasivo mediante el sudor y el líquido intersticial dérmico (*ISF*, por sus siglas en inglés)<sup>[14]</sup>. Este enfoque se fundamenta en la sólida correlación entre la glucemia en el *ISF* y en la glucemia en sangre ( $r = 0.95$ ,  $p < 0.0001$ )<sup>[10][15]</sup>. El *ISF* contiene glucosa que ha pasado desde el torrente sanguíneo a través de las membranas celulares por difusión y transporte activo<sup>[9][16]</sup>. Cuando las glándulas sudoríparas secretan sudor, una parte de esta glucosa también es expulsada al exterior, aunque en concentraciones significativamente más bajas que en la sangre (alrededor de 100 veces menor)<sup>[6]</sup>, siendo esta una de las dificultades más significativas a superar para disponer de una plataforma no invasiva y de monitoreo continuo. La concentración de glucosa en el sudor de un paciente diabético puede variar desde 10  $\mu$ M hasta 1.1 mM<sup>[12]</sup>, además, se sabe que el sudor humano contiene algunas especies electroactivas como ácido úrico, ácido láctico y ácido ascórbico, las cuales pueden actuar como interferencias en la detección de glucosa<sup>[17][18]</sup>.

En este contexto, los sensores electroquímicos basados en electrodos impresos modificados con mediadores inorgánicos, como el azul de Prusia (PB), han demostrado un alto rendimiento, gran estabilidad y bajo costo para la detección de glucosa en el sudor<sup>[19]</sup>. En esta investigación se propone el desarrollo de un sensor electroquímico portátil y no invasivo basado en electrodos impresos modificados con PB y glucosa-oxidasa (GOx), destinado a la detección de glucosa en el sudor como una alternativa al método convencional invasivo de monitoreo.

### Biosensores electroquímicos para la detección de glucosa

La Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC, por sus siglas en inglés) define un sensor químico como un dispositivo que transforma información química, que abarca desde la concentración de un componente específico de la muestra hasta el análisis de la composición total, en una señal analíticamente útil<sup>[20]</sup>. Por lo general, los sensores químicos contienen dos componentes básicos: un sistema de reconocimiento químico (receptor) y un transductor fisicoquímico. El receptor transforma la información química de la muestra en una forma de energía y posteriormente, el transductor transforma la energía en alguna señal analítica<sup>[21]</sup>. Los sensores químicos se pueden clasificar en biosensores o quimiosensores, dependiendo del tipo de receptor que emplean. Los biosensores emplean un receptor biológico como enzimas aisladas, sistemas inmunológicos, tejidos, orgánulos o células completas, mientras que los quimiosensores integran un receptor sintético<sup>[20][22]</sup>.

Los sensores químicos también pueden clasificarse según el principio de operación del transductor<sup>[20]</sup>. Dentro de esta clasificación se encuentran los sensores electroquímicos. En los sensores electroquímicos, los electrodos son los elementos transductores que proporcionan la capacidad de reconocimiento del analito de interés, generalmente a través de elementos de reconocimiento inmovilizados en su superficie<sup>[23]</sup>. Este tipo de dispositivos convierten la información asociada con las reacciones electroquímicas (reacciones entre un electrodo y un analito) en una señal eléctrica medible como voltaje (sensores potenciométricos), corriente (sensores amperométricos) o impedancia (sensores conductimétricos), como se muestra en la Figura 2<sup>[24]</sup>.



**FIGURA 2.** Esquema de un sensor electroquímico.

Por lo tanto, un biosensor electroquímico es un dispositivo que emplea un elemento de reconocimiento biológico con un transductor electroquímico. Los biosensores electroquímicos se han vuelto populares a lo largo de los años debido a su sensibilidad, reproducibilidad y facilidad de fabricación y miniaturización<sup>[25]</sup>. Los electrodos de trabajo modificados se utilizan ampliamente en la actualidad para desarrollar biosensores con alta selectividad<sup>[26]</sup>. Un ejemplo de este tipo de dispositivos son los sensores de glucosa basados en electrodos impresos modificados con GOx y PB como el propuesto en esta investigación.

En estos sistemas, la detección de glucosa se realiza de manera indirecta mediante la reducción de peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) en el transductor. La glucosa reacciona con la GOx oxidándose a glucono- $\delta$ -lactona (la cual puede hidrolizarse espontáneamente para formar ácido glucónico) y  $H_2O_2$  como subproducto reducido parcialmente<sup>[27][28]</sup>. El azul de Prusia actúa como mediador redox, catalizando la reducción electroquímica completa del  $H_2O_2$  en el electrodo, tal como lo muestra la Figura 3, lo que genera una respuesta proporcional a la concentración de glucosa<sup>[29]</sup>. Al fabricar los electrodos sobre un sustrato flexible y biocompatible, el sensor puede medir la concentración de glucosa en pequeñas muestras de sudor de forma no invasiva, proporcionando una opción práctica y eficaz frente a los métodos convencionales.

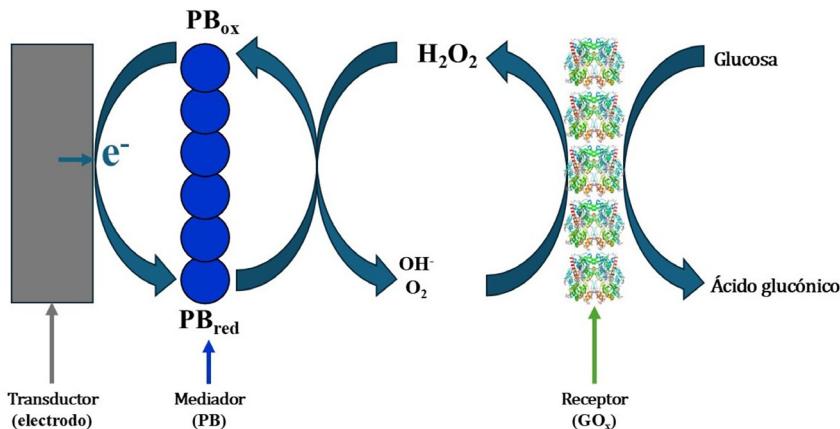


FIGURA 3. Mecanismo de detección de glucosa.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Reactivos

Todos los reactivos se emplearon sin ninguna purificación. Solución buffer de fosfato (PBS, Sigma Aldrich, 1 M), dextrosa anhídrida granular (Sigma Aldrich, 99.5 %), Glucosa oxidasa de *Aspergillus niger* (Sigma Aldrich, 100,000-250,000 unidades/g sólido), quitosano de bajo peso molecular (Chi, Sigma Aldrich, 50,000-190,000 Da), ácido acético (Sigma Aldrich, 99.8 %), albúmina sérica bovina (BSA, por sus siglas en inglés, Sigma Aldrich,  $\geq 96.0\%$ ) y hexacianoferrato de hierro (III) (Sigma Aldrich,  $\geq 30.0\%$ ). Los electrodos impresos se fabricaron utilizando una pantalla de dimensiones de 120 poros por pulgada. Se emplearon tintas comerciales a base de carbono conductor y Ag/AgCl (Creative Materials inc.) y se imprimieron sobre una película de tereftalato de polietileno (PET) de un espesor de 0.023 mm (Sigma Aldrich).

### Diseño del sensor

El sensor de glucosa se constituye por un sistema de tres electrodos; en el cual se tiene un electrodo de trabajo a base de la tinta de carbono (WE, por sus siglas en inglés), un pseudo electrodo de referencia de Ag/AgCl (RE, por sus siglas en inglés) y un contraelectrodo de carbono (CE, por sus siglas en inglés), todos impresos sobre una película de PET. Estos tres electrodos forman dos circuitos: un circuito que sirve para imponer la señal de perturbación (barrido de potencial) entre el RE y el WE; y un circuito para la medición de la señal de respuesta (intensidad de corriente) entre el WE y el CE, tal como se ilustra en la Figura 4.

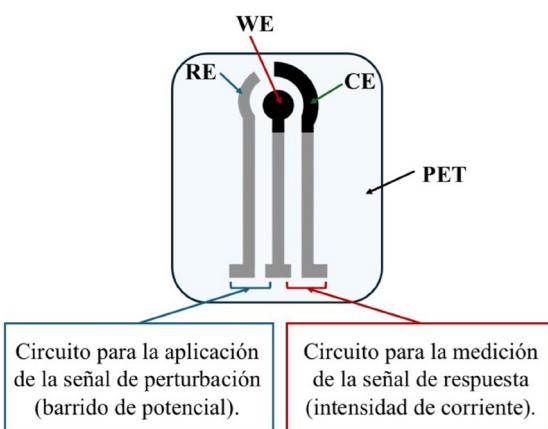
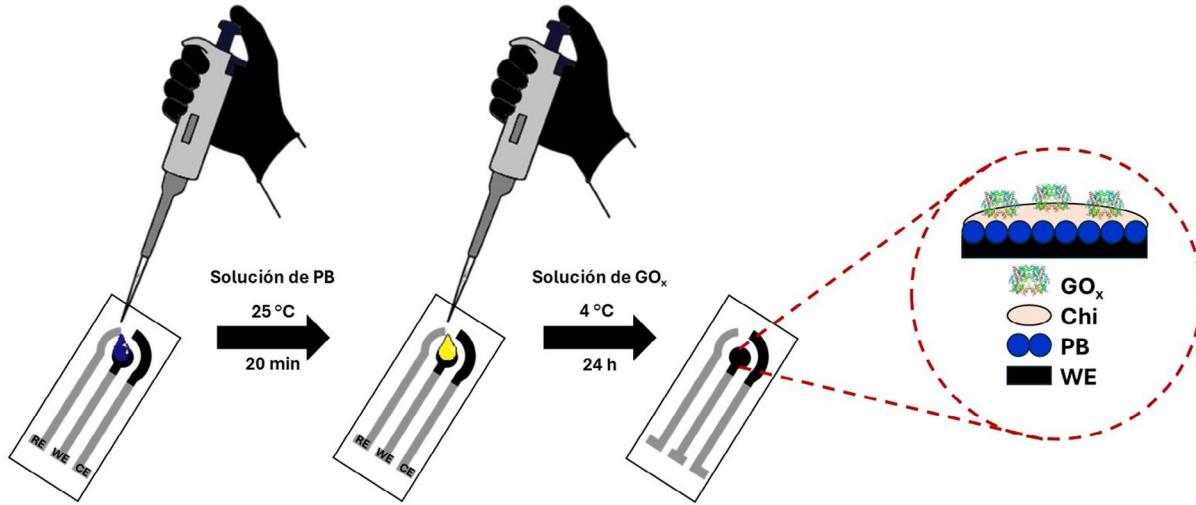


FIGURA 4. Representación esquemática del diseño del sensor.

### Modificación de los electrodos

La superficie del WE se modificó siguiendo la metodología ilustrada en la Figura 5. Inicialmente, se depositó una gota de 5  $\mu\text{L}$  de una solución de PB y se dejó secar a temperatura ambiente durante 1 hora. Luego, se añadió una gota de 2  $\mu\text{L}$  de una solución de la enzima GO<sub>x</sub>, estabilizada en BSA y mezclada en proporción 1:1 v/v con una solución de quitosano en ácido acético. Finalmente, el electrodo se dejó secar y se almacenó a 4 °C durante 24 horas.



**FIGURA 5. Metodología de modificación de los electrodos.**

### Descripción de las pruebas electroquímicas

Para la caracterización morfológica y superficial de los electrodos modificados se empleó la técnica de microscopía electrónica de barrido (SEM) utilizando un equipo TESCAN modelo VEGA3. Las muestras se montaron sobre una cinta de carbón, las imágenes se obtuvieron empleando un voltaje de aceleración de 15 KV.

Los análisis electroquímicos de contenido de glucosa en sudor sintético se realizaron con un potenciómetro/galvanostato *Squidstat Prime* (*Admiral Instruments*). Los electrodos se probaron empleando la técnica de voltamperometría cíclica (CV) en un intervalo de -0.3 V vs Ag/AgCl a 0.8 V vs Ag/AgCl a una velocidad de barrido de 50 mV s<sup>-1</sup>.

El análisis de espectroscopía de impedancia electroquímica en modo potencioscópico, se llevó a cabo en el mismo equipo imponiendo el potencial de circuito abierto (*OCP*, por sus siglas en inglés) con una amplitud de potencial de 10 mV y un barrido de frecuencia de 0.1 Hz a 100,000 Hz.

### Diseño del circuito electrónico

Para la adquisición y procesamiento de la señal, se utilizó un amplificador operacional (OpAmp) LMP7721. Este OpAmp permite una corriente de polarización baja, en el orden de los femtoamperios (fA), lo que se traduce en mediciones precisas, ya que las señales proporcionadas por el biosensor varían desde el orden de los microamperios ( $\mu\text{A}$ ) hasta los miliamperios (mA). Entre otras características destacables de este componente se encuentran, su bajo nivel de ruido durante las mediciones y su compatibilidad con alimentación simple (0-10V) o dual ( $\pm 5\text{v}$ ). La alimentación dual facilita su uso en la etapa de pruebas y mediciones en el laboratorio, mientras que la alimentación simple permitirá su implementación en un entorno más portátil como desarrollo a corto plazo de esta investigación. El ancho de banda de 17 MHz ofrece un amplio rango de trabajo para emigrar a otras mediciones de electrodos bajo diferentes concentraciones de enzimas.

El principio de funcionamiento de este circuito consistirá en adquirir la señal amperométrica del biosensor, convertirla a voltaje, amplificarla y adecuarla a los niveles de voltaje permitidos por el microcontrolador. En función de la magnitud de la señal de entrada, el microcontrolador, junto con el DAC, generará un potencial de respuesta para el biosensor, lo que a su vez modificará la magnitud de la señal de entrada.

El circuito se encuentra dividido en 3 etapas: conversión de corriente a voltaje, procesamiento y discretización, respuesta en voltaje como se observa en la Figura 6.

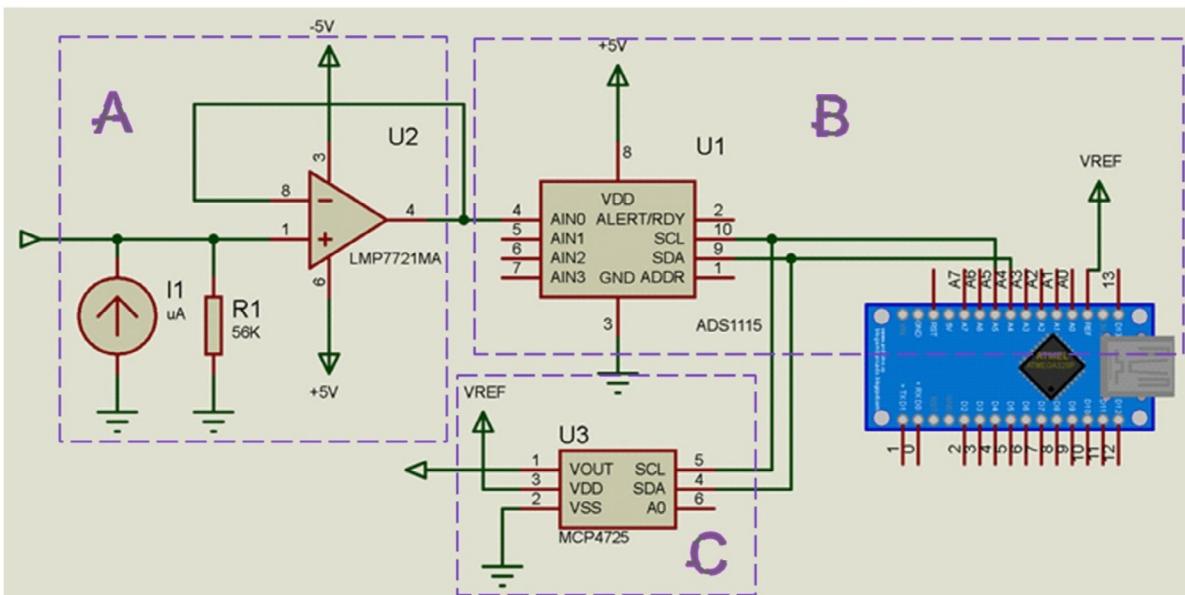


FIGURA 6. Esquemático del circuito electrónico. A) Etapa de conversión de I-V; B) Etapa de procesamiento; C) Etapa de respuesta en voltaje.

Para procesar los datos en etapas posteriores, es necesario convertir la señal de corriente en una señal de voltaje. En esta primera etapa, configuramos el OpAmp en modo de amplificador de transimpedancia, de manera que genere un voltaje de salida proporcional a la corriente de entrada. El amplificador de precisión es un dispositivo en el mercado con la más baja corriente de polarización de entrada lo que permite que se haga un barrido completo de la lectura del electrodo de trabajo WE del sensor diseñado. En la Figura 7 se muestra la etapa de conversión desarrollada.

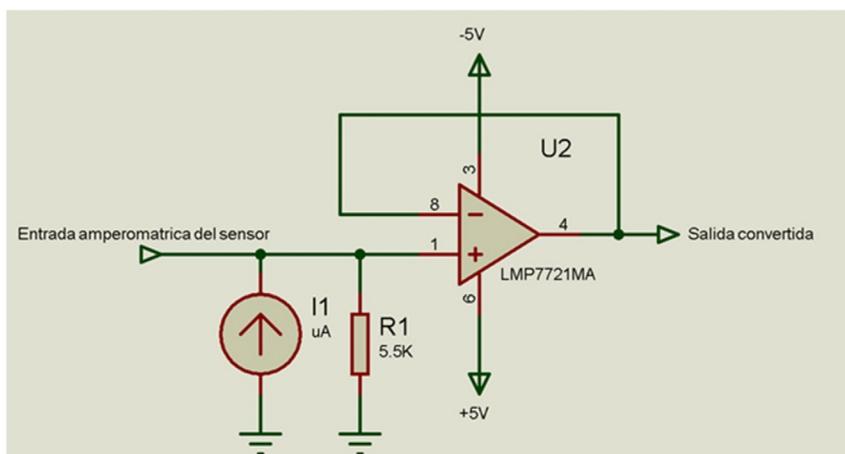


FIGURA 7. Etapa de conversión corriente voltaje.

Dentro del diseño de esta etapa, se consideró el voltaje máximo de entrada permitido por el microcontrolador  $V_{out}=3.3$  V de la siguiente etapa, así como el pico máximo de corriente que podría generar el sensor de  $I_{max}=0.6$  mA. Con esta información, se calculó la resistencia de ganancia para esta etapa, como se representa en la Ecuación (1) y (2).

$$V_{out} = I_{max} \cdot R_f = 3.3 \text{ V} \quad (1)$$

$$R_f = \frac{V_{out}}{I_{max}} = \frac{3.3\text{v}}{0.6 \text{ mA}} = 5.5 \text{ K}\Omega \quad (2)$$

De esta manera, conseguimos normalizar la señal de entrada, utilizando esta resistencia de ganancia, lo que permite que la corriente máxima proporcionada por el biosensor genere una salida de 3.3 V en el OpAmp. Se utiliza una discretización de  $2^{16}$  niveles para determinar la resolución de muestreo. En esta segunda etapa pasamos de una señal analógica a digital y para ello se implementó el módulo ADS1115 el cual es un ADC con resolución de 16 bits, con una alta tasa de transmisión de 860 muestras por segundo que se representa en la Figura 8. La resolución de 16 bits significa que el ADC puede representar una señal analógica utilizando 65,536 niveles diferentes lo que ofrece una alta precisión en la medición de voltaje. Si consideramos que nuestra señal maneja un voltaje máximo de 3.3 volts repartidos en esos 65,536 niveles diferentes, tendríamos que nuestra resolución sería de aproximadamente 50  $\mu$ V en una escala de 0 a 3.3 v, como se describe en la Ecuación (3).

$$\text{Resolución} = \frac{\text{Rango total}}{\text{número de niveles}} = \frac{3.3\text{v}}{65536} = 50.35 \mu\text{V} \quad (3)$$

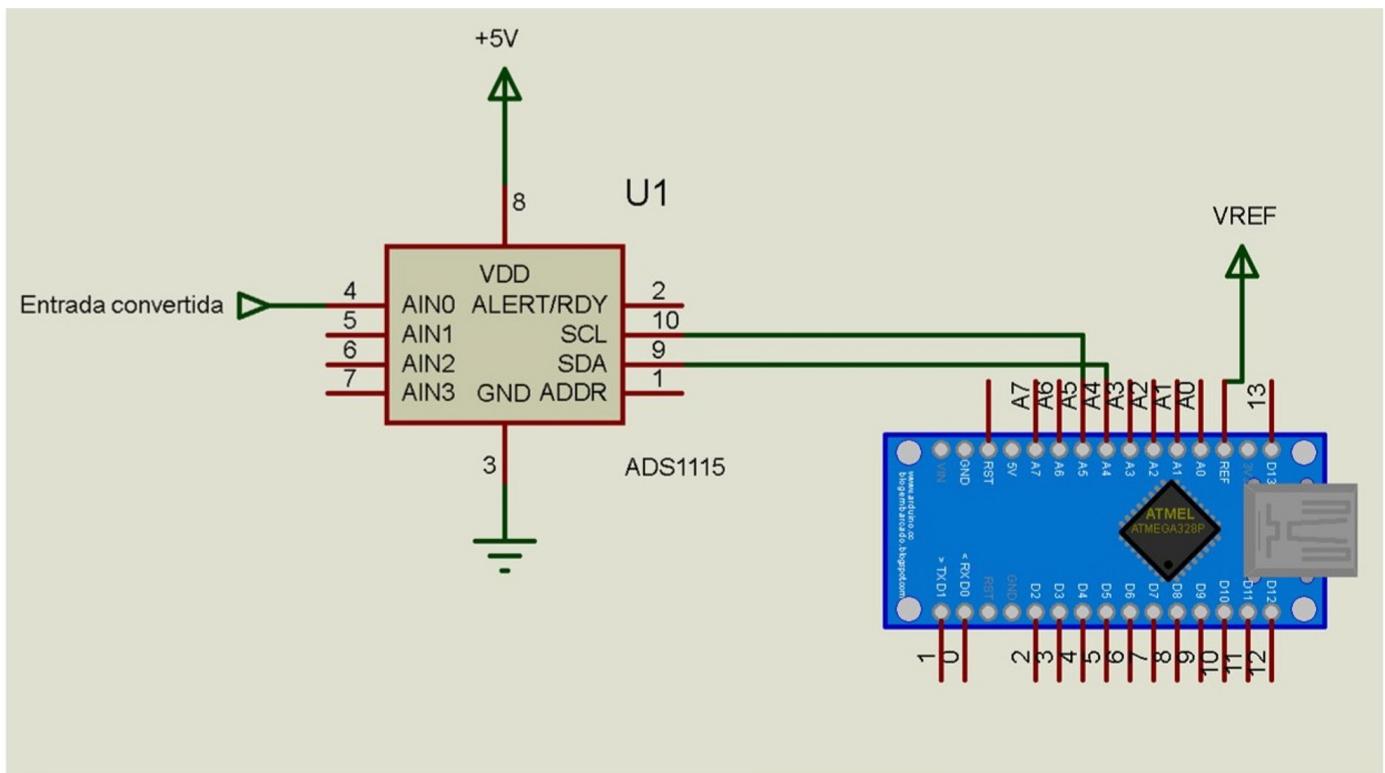
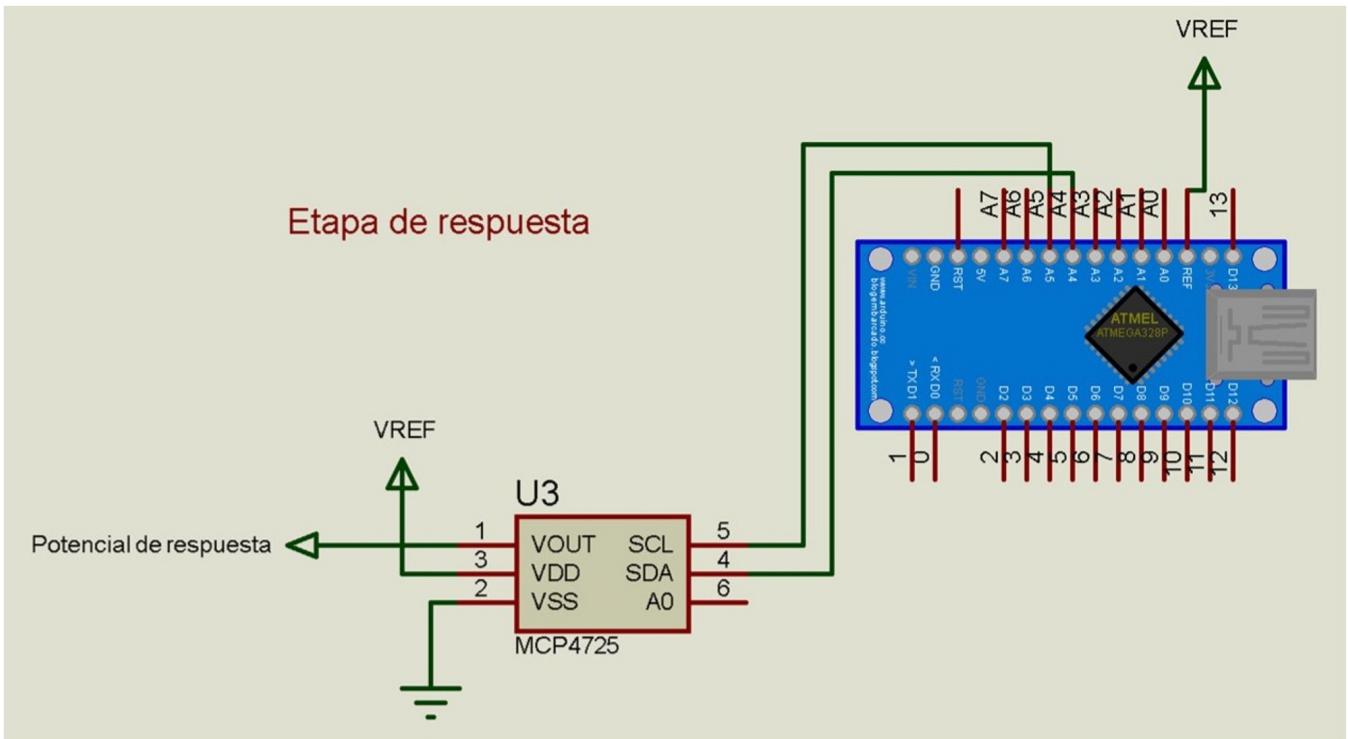


FIGURA 8. Etapa de procesamiento.

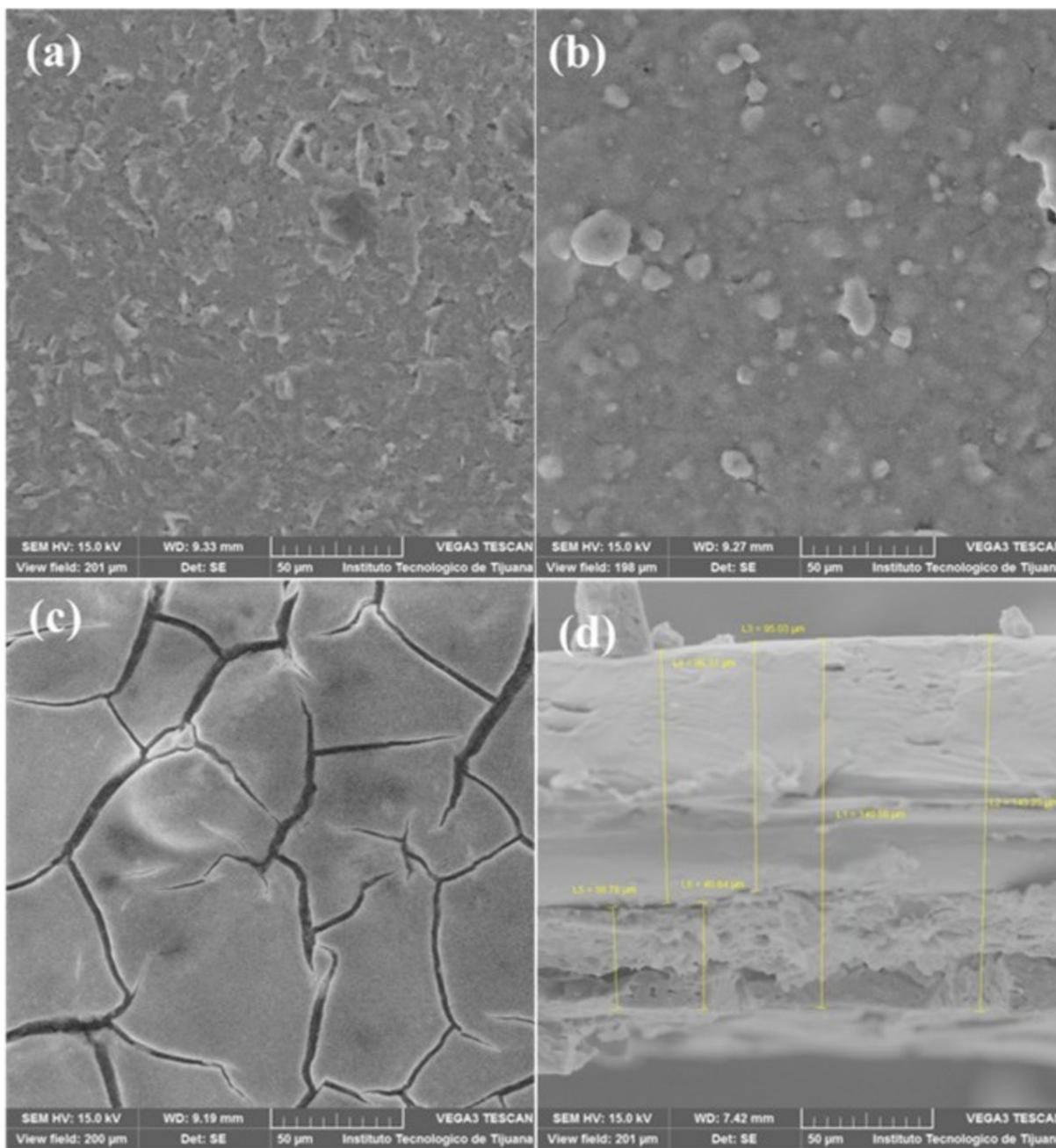
Después de realizar la conversión analógica a digital, mediante comunicación I2C transferimos los datos digitalizados al microcontrolador para que en función de estos se realice un potencial de respuesta. En esta última etapa se genera el potencial de respuesta en función de los datos recibidos en el microcontrolador, esto se consigue mediante la implementación del DAC MCP4725 el cual tiene una resolución de 12 bits. Considerando las pruebas realizadas en el barrido de potencial, nuestro rango de operación será de 0 a 0.8 V en incrementos de 50 mV, adecuado para la estimulación del electrodo diseñado. En la Figura 9 se observa la etapa de potencial de respuesta basada en el circuito Arduino® Nano ESP32.



### **FIGURA 9. Etapa de potencial de respuesta.**

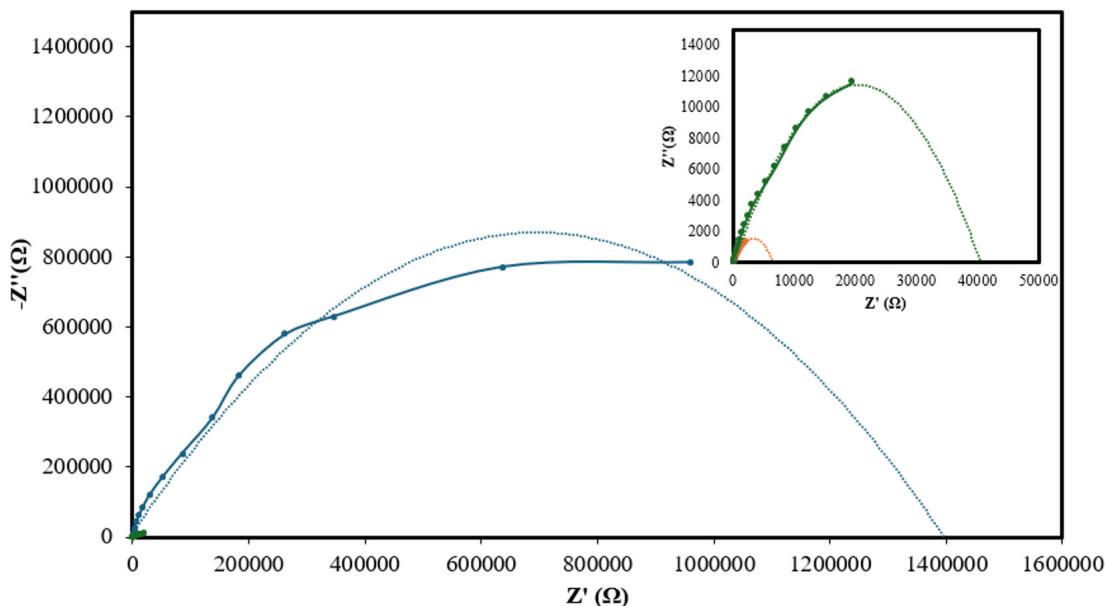
## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En la Figura 10(a) se muestra la imagen SEM de la superficie del WE, donde se puede observar la superficie rugosa de la tinta de carbón, propia del método de preparación del electrodo. En la Figura 10(b) se muestra la superficie del WE modificado con el PB, donde es importante resaltar que la rugosidad de la superficie del WE disminuye, pero aparecen algunos cúmulos. En la Figura 10(c) se muestra cambios en la superficie del WE cuando se incorpora la enzima, atribuido al agente estabilizante de la enzima (quitosano-BSA). Finalmente, en la Figura 10(d) se muestra una imagen SEM de la sección transversal del WE modificado con PB y enzima, en esta imagen se pueden observar que la metodología de funcionalización permite la jerarquización de las capas modificadas, donde es de destacar las dimensiones de cada capa, el sustrato mide alrededor de 20  $\mu\text{m}$ , lo cual coincide con las especificaciones del proveedor. Por otro lado, la capa de PB muestra interpenetración en la capa de la tinta, por lo que no se puede asignar espesores individuales a cada capa, de manera conjunta la capa de tinta de carbono-PB presenta un espesor de 40  $\mu\text{m}$  aproximadamente. Finalmente, la capa de enzima presenta un espesor de 100  $\mu\text{m}$ , aproximadamente.



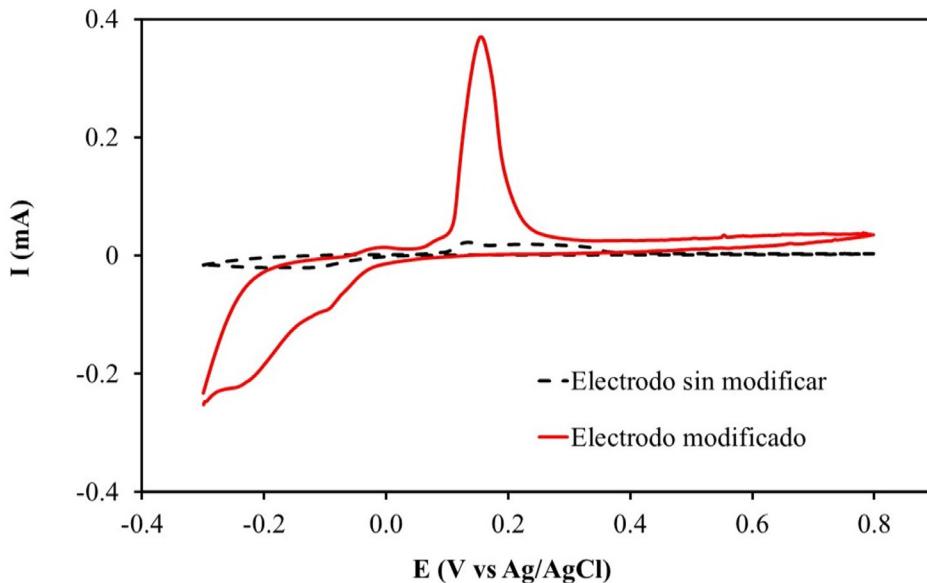
**FIGURA 10.** Imágenes SEM de (a) la superficie de WE sin modificar, (b) superficie de WE modificado con PB, (c) superficie de WE modificado con PB y enzima, (d)Imagen SEM de corte de WE con los espesores de las capas.

En la Figura 11 se muestran los espectros de impedancia del electrodo de trabajo WE sin modificar, WE modificado con PB y WE modificado con PB y enzima. Es importante mencionar que esta técnica de caracterización aporta información relacionada con la resistencia a la transferencia electrónica en los electrodos, dependiendo del radio del semi circulo. De acuerdo con el diagrama de Nyquist, el WE sin modificar (línea azul) presenta una resistencia a la transferencia de carga de  $1.4 \times 10^6 \Omega$ . Cuando el electrodo WE se modifica con PB (línea amarilla), la resistencia a la transferencia de carga disminuye a  $8000 \Omega$ , lo cual se asocia a la naturaleza conductora del PB en la superficie. Cuando el electrodo WE se le incorpora la enzima (línea verde), vuelve a incrementar la resistencia a la transferencia de carga con un valor de  $4000 \Omega$ , lo cual se explica en términos de la naturaleza no conductora de la enzima.



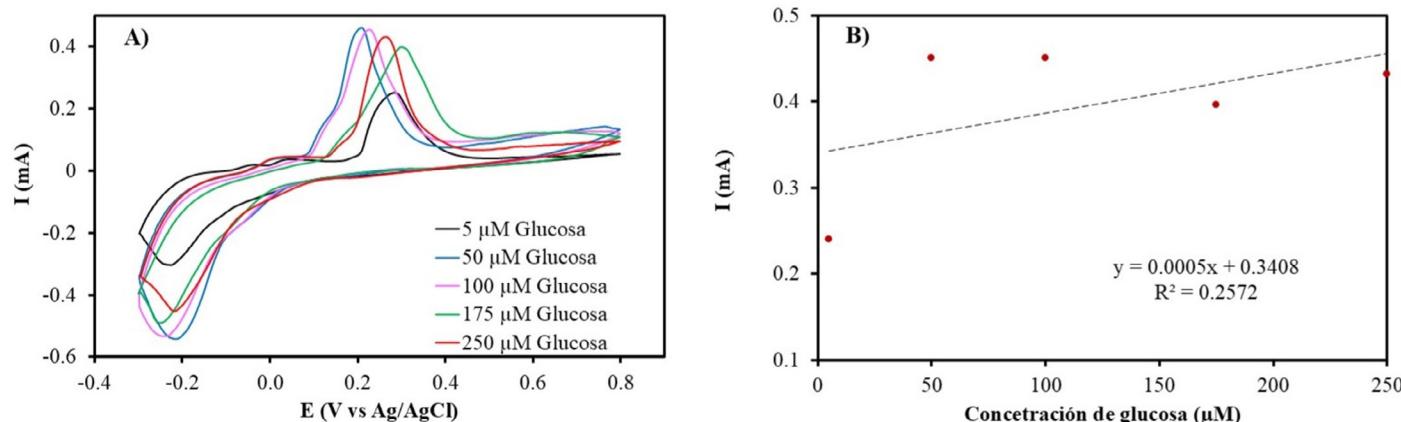
**FIGURA 11.** Espectros de impedancia electroquímica de WE sin modificar (azul), WE modificado con PB (amarillo) y WE modificado con PB y enzima (verde).

Se evaluó el desempeño electroquímico del sensor en la detección de glucosa mediante CV en una solución de PBS 0.1 M (pH 7.4). Las mediciones se realizaron a una velocidad de barrido de  $50 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ , en una ventana de potencial de 0.4 a 0.8 V vs. Ag/AgCl, mientras se variaba la concentración de glucosa entre  $5 \mu\text{M}$  y  $250 \mu\text{M}$ . La Figura 12 presenta los voltamperogramas registrados para el electrodo impreso sin modificación (línea negra), y el electrodo modificado con el mediador PB y la enzima  $\text{GO}_x$  (línea roja) en una solución de PBS 0.1 M con una concentración de glucosa de  $100 \mu\text{M}$ . Se puede observar que el electrodo impreso sin modificación no se presentan procesos redox, por lo que no hay detección del analito. Sin embargo, después de la modificación con PB y  $\text{GO}_x$ , aparece un pico alrededor de 1.5 V vs Ag/AgCl, el cual podría corresponder a la forma oxidada de PB ( $\text{PB}_{\text{ox}}$ ) generada al reducir el  $\text{H}_2\text{O}_2$  producto de la reacción enzimática entre el  $\text{GO}_x$  y la glucosa.



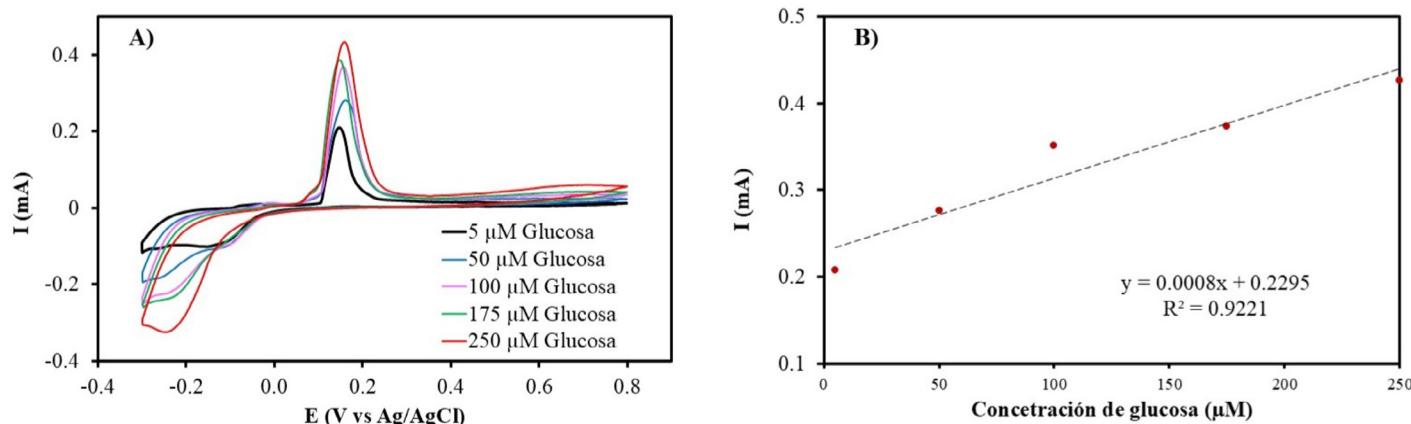
**FIGURA 12.** Voltamperogramas cíclicos del sensor de glucosa empleando un electrodo impreso sin modificar y un electrodo impreso modificado con PB y  $\text{GO}_x$  en una solución de PBS 0.1 M con  $100 \mu\text{M}$  de glucosa a una velocidad de barrido de  $50 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ .

Posteriormente, se evaluó el efecto del mediador de PB comparando los voltamperogramas cíclicos del electrodo impreso modificado con  $\text{GO}_x$  sin PB y con PB. En la Figura 13(a) se muestran los voltamperogramas del electrodo impreso/ $\text{GO}_x$  (sensor sin mediador de PB), donde se aprecia un pico anódico derivado del proceso de oxidación de glucosa. No obstante, estas señales presentan variaciones en el potencial y no exhiben una tendencia clara en la intensidad de corriente en función de la concentración del analito. A partir de estos voltamperogramas, se generó la curva de calibración de la concentración de glucosa frente a la corriente registrada, Figura 13(b), donde se observa que no existe una buena correlación lineal entre estas variables, por lo que si bien el electrodo impreso/ $\text{GO}_x$ , puede detectar glucosa, este no puede cuantificar en el intervalo esperado.



**FIGURA 13.** (a) Voltamperogramas cíclicos (b) Curva de calibración en el electrodo impreso/ $\text{GO}_x$  en soluciones de PBS 0.1 M con concentraciones de glucosa en el intervalo de 5 a 250  $\mu\text{M}$ .

Por otra parte, en la Figura 14(a) se muestran los voltamperogramas obtenidos con el electrodo impreso/PB/ $\text{GO}_x$  (sensor con mediador de PB). Se observan los picos correspondientes al proceso anódico a 0.15 V, destacando que en este electrodo la señal se mantiene estable sin desplazamientos. Además, se nota un incremento proporcional en la intensidad de los picos conforme aumenta la concentración de glucosa en el intervalo de 5  $\mu\text{M}$  a 250  $\mu\text{M}$ . En la Figura 14(b) se puede distinguir una relación lineal entre la corriente de pico de oxidación (alrededor de 0.15 V vs Ag/AgCl) y la concentración de glucosa con un valor  $R^2$  de 0.92. Esto sugiere una elevada sensibilidad y una eficaz capacidad de detección dentro del rango analizado.



**FIGURA 14.** (a) Voltamperogramas cíclicos (b) Curva de calibración en el electrodo impreso/PB/ $\text{GO}_x$  en soluciones de PBS 0.1 M con concentraciones de glucosa en el intervalo de 5 a 250  $\mu\text{M}$ .

La Tabla 1 presenta una comparación entre el biosensor de glucosa basado en electrodos impresos modificados con PB y  $\text{GO}_x$  desarrollado en este trabajo y otros sensores de glucosa basados en electrodos impresos reportados en la literatura. Como se puede observar, el electrodo propuesto muestra una mayor sensibilidad para la detección de glucosa en comparación con los demás electrodos reportados, a excepción de los electrodos basados en  $\text{CuO}$  y  $\text{Cu}_2\text{O}$ . Sin embargo, estos sensores miden la oxidación de glucosa en un medio alcalino, condición que favorece considerablemente la oxidación de glucosa y acelera las capacidades catalíticas del  $\text{CuO}$ <sup>[30]</sup>. En cambio, el sudor humano tiene un pH promedio de 5.3<sup>[17]</sup>, lo que hace que estos sensores no sean adecuados para la medición de glucosa a través del sudor, y por lo tanto, no son compatibles para un análisis *in vivo*.

Por otra parte, aunque el sensor propuesto no presenta un intervalo lineal tan amplio, este sigue siendo adecuado para la aplicación en cuestión, ya que la concentración de glucosa en el sudor es muy baja. Además, el sensor desarrollado presenta ventajas como su diseño compacto y su fácil preparación. Esto supone una mejora significativa en comparación con otros sistemas que requieren de reacciones complejas como polimerización química oxidativa<sup>[31]</sup>, recocido a altas temperaturas<sup>[32]</sup> o electrodeposición<sup>[30][33]</sup>.

**TABLA 1. Comparación de las características de rendimiento analítico del biosensor de glucosa basado en electrodo impreso modificado con PB y  $\text{GO}_x$  y otros electrodos impresos reportados.**

Sistema	Solvente	Sensibilidad	Intervalo lineal mM	Referencia
SPE/PB/ $\text{GO}_x$	PBS 0.1 M (pH 7.0)	$800 \mu\text{A} \cdot \text{mM}^{-1}$	0.005 - 0.25	Este trabajo
SPE/CuOG	NaOH 0.1 M	$2367 \mu\text{A} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{mM}^{-1}$	0.0001 - 0.5	[32]
SPE/ $\text{Cu}_2\text{O}$ -NC	KOH 0.1 M	$1040 \mu\text{A} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{mM}^{-1}$	0.007 - 4.5	[34]
SPE/Chi- $\text{GO}_x$ /APTES/1.5 %MWCNT-dPIn	PBS 0.1 M (pH 7.4)	$182 \mu\text{A} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{mM}^{-1}$	0.01 - 100	[31]
SPE/ $\text{GO}_x$ /Pt	PBS 0.25 M (pH 7.0)	$105 \mu\text{A} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{mM}^{-1}$	0.9-33	[27]
SPE/MNDP-Au	PBS 0.1 M (pH 7.4)	$48.4 \mu\text{A} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{mM}^{-1}$	1.5 - 16	[30]
SPE/PB/ $\text{GO}_x$	PBS 0.1 M (pH 7.0)	$23.0 \mu\text{A} \cdot \text{mM}^{-1}$	0.003 - 0.1	[35]
SPE/PB/GO-Chi/ $\text{GO}_x$	Sudor artificial (pH 4.7)	$8.2 \mu\text{A} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{mM}^{-1}$	0.02- 3.8	[33]
SPE/GOx/Ferri-COs	PBS 0.1 M (pH 7.0)	$0.677 \mu\text{A} \cdot \text{mM}^{-1}$	1.38 - 33.3	[36]

SPE: electrodo impreso; CuOG: óxido cúprico con grafeno;  $\text{Cu}_2\text{O}$ -NC: nanocubos de óxido cuproso; Chi: quitosano; APTES: (3-amino-propil) trietoxisilano; MWCNT: nanotubos de carbono multipared; dPIn: poliindol dopado; MNDP-Au: oro micronano dualporoso; Ferri-COs: hexacianoferrato (III) mezclado con oligómeros de quitosano

Finalmente, el sistema planteado tiene el potencial para ser una alternativa no invasiva y de menor costo para la detección de glucosa en sudor, en comparación con los dispositivos comerciales como el *Abbott FreeStyle Libre* o el *Dexcom G6*, los cuales requieren la inserción de un pequeño filamento bajo la piel para medir la glucosa en el *ISF*<sup>[37]</sup>. No obstante, para lograr su implementación, es necesario continuar investigando cómo la tasa de sudoración, el pH y otros componentes del sudor pueden afectar la precisión de las mediciones.

## CONCLUSIONES

La modificación del WE con PB y  $\text{GO}_x$  mejoró significativamente la capacidad de detección de glucosa. Se observó un pico alrededor de 0.15 V vs Ag/AgCl, asociado a la oxidación del  $\text{H}_2\text{O}_2$  generado por la reacción enzimática de la glucosa en presencia de  $\text{GO}_x$ . La comparación entre el electrodo impreso sin PB y el electrodo impreso con PB

demostró que el mediador de PB es esencial para mejorar la linealidad de los resultados. Se obtuvo un coeficiente de correlación lineal de 0.92 para el electrodo impreso PB/GO<sub>x</sub>. Esto refleja una alta sensibilidad y precisión en el intervalo de concentración analizado (5 a 250 μM), donde se espera que un paciente con condiciones anormales de glucosa esté dentro del intervalo de concentraciones de 75 a 200 μM. Como trabajo a corto plazo se tiene la integración del desarrollo de la placa de circuito impreso (PCB, por sus siglas en inglés) y acoplamiento mediante *blue-tooth* con una aplicación móvil de código abierto para monitoreo mediante sistema operativo Android®, así como un sistema de alarma vía GSM para notificación del especialista de la salud del usuario, en esta etapa posterior se realizará la integración física del circuito diseñado. El trabajo desarrollado es una alternativa precisa y portátil del tradicional y costoso potenciómetro, el sistema sustituye los 10 pA de corriente de barrido para muestreo de sensores basados en enzimas. Mientras que en el mediano plazo se pretende llevar a cabo las pruebas de detección de glucosa en humanos de diferente edad, género, etc., con la finalidad de validar el desempeño de la plataforma de detección de glucosa en pruebas *in vivo*, adicionalmente, se realizarán las pruebas de estabilidad del sensor.

### Agradecimientos

Los autores agradecen al Tecnológico Nacional de México (TECNM), por el apoyo brindado en la Convocatoria de Proyectos de Investigación Científica, Desarrollo Tecnológico e Innovación 2023 (proyecto 17836.23-P) y 2025 (proyecto TIJU-PYR-2025-22735). De igual forma, se agradece al Instituto Tecnológico de Tijuana y al Centro de Graduados e Investigación Química por las facilidades brindadas para la realización de esta investigación. Reyna Gutiérrez-Gutiérrez agradece a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por la beca de manutención otorgada para realizar los estudios de maestría (CVU 2033141).

### Conflictos de interés

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses para la publicación de este trabajo.

### REFERENCIAS

- [1] A. Basto-Abreu et al., “Prevalencia de prediabetes y diabetes en México: Ensanut 2022,” Salud Publica Mex, vol. 65, pp. s163-s168, Jun. 2023, doi: <https://doi.org/10.21149/14832>.
- [2] Instituto Nacional de Estadística y Geografía, “Estadísticas de Defunciones Registradas (EDR), enero-junio de 2024.,” Ciudad de México, Jan. 2025.
- [3] M. Ortiz-Martínez, M. González-González, A. J. Martagón, V. Hlavinka, R. C. Willson, and M. Rito-Palomares, “Recent Developments in Biomarkers for Diagnosis and Screening of Type 2 Diabetes Mellitus,” Curr Diab Rep, vol. 22, no. 3, pp. 95-115, Mar. 2022, doi: <https://doi.org/10.1007/s11892-022-01453-4>.
- [4] National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, “¿Qué es la diabetes?” Accessed: Jan. 03, 2025. [Online]. Available: <https://www.niddk.nih.gov/health-information/informacion-de-la-salud/diabetes/informacion-general>.
- [5] J. B. Cole and J. C. Florez, “Genetics of diabetes mellitus and diabetes complications,” Nat Rev Nephrol, vol. 16, no. 7, pp. 377-390, Jul. 2020, doi: <https://doi.org/10.1038/s41581-020-0278-5>.
- [6] T. Kuzuya et al., “Report of the Committee on the classification and diagnostic criteria of diabetes mellitus,” Diabetes Res Clin Pract, vol. 55, no. 1, pp. 65-85, Jan. 2002, doi: [https://doi.org/10.1016/s0168-8227\(01\)00365-5](https://doi.org/10.1016/s0168-8227(01)00365-5).
- [7] G. E. Umpierrez, M. B. Murphy, and A. E. Kitabchi, “Diabetic Ketoacidosis and Hyperglycemic Hyperosmolar Syndrome,” Diabetes Spectrum, vol. 15, no. 1, pp. 28-36, Jan. 2002, doi: <https://doi.org/10.2337/diaspect.15.1.28>.
- [8] Secretaría de Salud, “547. En México, 12.4 millones de personas viven con diabetes,” Ciudad de México, 2022. Accessed: Feb. 06, 2025. [Online]. Available: <https://www.gob.mx/salud/prensa/547-en-mexico-12-4-millones-de-personas-viven-con-diabetes?idiom=es>.
- [9] J. Kim, A. S. Campbell, and J. Wang, “Wearable non-invasive epidermal glucose sensors: A review,” Talanta, vol. 177, pp. 163-170, Jan. 2018, doi: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.08.077>.
- [10] J. P. Bantle and W. Thomas, “Glucose measurement in patients with diabetes mellitus with dermal interstitial fluid,” Journal of Laboratory and Clinical Medicine, vol. 130, no. 4, pp. 436-441, Oct. 1997, doi: [https://doi.org/10.1016/S0022-2143\(97\)90044-5](https://doi.org/10.1016/S0022-2143(97)90044-5).

- [11] A. Glasper, G. McEwing, and J. Richardson, *Foundation Skills for Caring: Using Student-Centred Learning*. Bloomsbury Publishing, 2018.
- [12] S. M. Khor, J. Choi, P. Won, and S. H. Ko, "Challenges and Strategies in Developing an Enzymatic Wearable Sweat Glucose Biosensor as a Practical Point-Of-Care Monitoring Tool for Type II Diabetes," *Nanomaterials*, vol. 12, no. 2, p. 221, Jan. 2022, doi: <https://doi.org/10.3390/nano12020221>.
- [13] K. H. Cha, G. C. Jensen, A. S. Balijepalli, B. E. Cohan, and M. E. Meyerhoff, "Evaluation of Commercial Glucometer Test Strips for Potential Measurement of Glucose in Tears," *Anal Chem*, vol. 86, no. 3, pp. 1902-1908, Feb. 2014, doi: <https://doi.org/10.1021/ac4040168>.
- [14] J. R. Sempionatto, J.-M. Moon, and J. Wang, "Touch-Based Fingertip Blood-Free Reliable Glucose Monitoring: Personalized Data Processing for Predicting Blood Glucose Concentrations," *ACS Sens*, vol. 6, no. 5, pp. 1875-1883, May 2021, doi: <https://doi.org/10.1021/acssensors.1c00139>.
- [15] J. Moyer, D. Wilson, I. Finkelstein, B. Wong, and R. Potts, "Correlation Between Sweat Glucose and Blood Glucose in Subjects with Diabetes," *Diabetes Technol Ther*, vol. 14, no. 5, pp. 398-402, May 2012, doi: <https://doi.org/10.1089/dia.2011.0262>.
- [16] M. Bariya, H. Y. Y. Nyein, and A. Javey, "Wearable sweat sensors," *Nat Electron*, vol. 1, no. 3, pp. 160-171, Mar. 2018, doi: <https://doi.org/10.1038/s41928-018-0043-y>.
- [17] C. J. Harvey, R. F. LeBouf, and A. B. Stefaniak, "Formulation and stability of a novel artificial human sweat under conditions of storage and use," *Toxicology in Vitro*, vol. 24, no. 6, pp. 1790-1796, Sep. 2010, doi: <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2010.06.016>.
- [18] J. R. Sempionatto, J.-M. Moon, and J. Wang, "Touch-Based Fingertip Blood-Free Reliable Glucose Monitoring: Personalized Data Processing for Predicting Blood Glucose Concentrations," *ACS Sens*, vol. 6, no. 5, pp. 1875-1883, May 2021, doi: <https://doi.org/10.1021/acssensors.1c00139>.
- [19] S. Husmann, E. Nossol, and A. J. G. Zarbin, "Carbon nanotube/Prussian blue paste electrodes: Characterization and study of key parameters for application as sensors for determination of low concentration of hydrogen peroxide," *Sens Actuators B Chem*, vol. 192, pp. 782-790, Mar. 2014, doi: <https://doi.org/10.1016/j.snb.2013.10.074>.
- [20] A. Hulanicki, S. Glab, and F. Ingman, "Chemical sensors: definitions and classification," *Pure and Applied Chemistry*, vol. 63, no. 9, pp. 1247-1250, Jan. 1991, doi: <https://doi.org/10.1351/pac199163091247>.
- [21] K. A. Lamkin-Kennard and M. B. Popovic, "Sensors: Natural and Synthetic Sensors," in *Biomechatronics*, Elsevier, 2019, pp. 81-107. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812939-5.00004-5>.
- [22] D. Citterio, "Chemical Sensor," in *Encyclopedia of Polymeric Nanomaterials*, Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2015, pp. 378-386. doi: [https://doi.org/10.1007/978-3-642-29648-2\\_114](https://doi.org/10.1007/978-3-642-29648-2_114).
- [23] L. Díaz de León-Martínez, J. Glöckler, B. Mizaikoff, R. Flores-Ramírez, and F. Díaz-Barriga, "Volatile Organic Compound Exhaled Breath Sensing," in *Encyclopedia of Sensors and Biosensors*, Elsevier, 2023, pp. 421-440. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822548-6.00154-0>.
- [24] N. P. Shetti, D. S. Nayak, K. R. Reddy, and T. M. Aminabhavi, "Graphene-Clay-Based Hybrid Nanostructures for Electrochemical Sensors and Biosensors," in *Graphene-Based Electrochemical Sensors for Biomolecules*, Elsevier, 2019, pp. 235-274. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815394-9.00010-8>.
- [25] I. L. de Mattos, L. Gorton, and T. Ruzgas, "Sensor and biosensor based on Prussian Blue modified gold and platinum screen printed electrodes," *Biosens Bioelectron*, vol. 18, no. 2-3, pp. 193-200, Mar. 2003, doi: [https://doi.org/10.1016/S0956-5663\(02\)00185-9](https://doi.org/10.1016/S0956-5663(02)00185-9).
- [26] S. Kumar, S. Tripathy, A. Jyoti, and S. G. Singh, "Recent advances in biosensors for diagnosis and detection of sepsis: A comprehensive review," *Biosens Bioelectron*, vol. 124-125, pp. 205-215, Jan. 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.10.034>.
- [27] A. Abellán-Llobregat et al., "A stretchable and screen-printed electrochemical sensor for glucose determination in human perspiration," *Biosens Bioelectron*, vol. 91, pp. 885-891, May 2017, doi: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.01.058>.
- [28] R. Wilson and A. P. F. Turner, "Glucose oxidase: an ideal enzyme," *Biosens Bioelectron*, vol. 7, no. 3, pp. 165-185, Jan. 1992, doi: [https://doi.org/10.1016/0956-5663\(92\)87013-F](https://doi.org/10.1016/0956-5663(92)87013-F).
- [29] R. V. Blasques, J. S. Stefano, J. R. Camargo, L. R. Guterres e Silva, L. C. Brazaca, and B. C. Janegitz, "Disposable Prussian blue-anchored electrochemical sensor for enzymatic and non-enzymatic multi-analyte detection," *Sensors and Actuators Reports*, vol. 4, p. 100118, Nov. 2022, doi: <https://doi.org/10.1016/j.snr.2022.100118>.
- [30] N. X. Viet, M. Chikae, Y. Ukita, and Y. Takamura, "Enzyme-Free Glucose Sensor Based on Micro-nano Dualporous Gold-Modified Screen-Printed Carbon Electrode," *Int J Electrochem Sci*, vol. 13, no. 9, pp. 8633-8644, Sep. 2018, doi: <https://doi.org/10.20964/2018.09.08>.
- [31] K. Phasuksom and A. Sirivat, "Chronoamperometric detection of enzymatic glucose sensor based on doped polyindole/MWCNT composites modified onto screen-printed carbon electrode as portable sensing device for diabetes," *RSC Adv*, vol. 12, no. 44, pp. 28505-28518, 2022, doi: <https://doi.org/10.1039/D2RA04947C>.
- [32] C.-L. Sun, W.-L. Cheng, T.-K. Hsu, C.-W. Chang, J.-L. Chang, and J.-M. Zen, "Ultrasensitive and highly stable nonenzymatic glucose sensor by a CuO/graphene-modified screen-printed carbon electrode integrated with flow-injection analysis," *Electrochim commun*, vol. 30, pp. 91-94, May 2013, doi: <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2013.02.015>.
- [33] F. Poletti et al., "Continuous capillary-flow sensing of glucose and lactate in sweat with an electrochemical sensor based on functionalized graphene oxide," *Sens Actuators B Chem*, vol. 344, p. 130253, Oct. 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.130253>.
- [34] C. Espero, S. Marini, D. Giusi, C. Ampelli, and G. Neri, "Non-enzymatic screen printed sensor based on Cu<sub>2</sub>O nanocubes for glucose determination in bio-fermentation processes," *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 873, p. 114354, Sep. 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2020.114354>.
- [35] A. J. Bandodkar, W. Jia, C. Yardımcı, X. Wang, J. Ramirez, and J. Wang, "Tattoo-Based Noninvasive Glucose Monitoring: A Proof-of-Concept Study," *Anal Chem*, vol. 87, no. 1, pp. 394-398, Jan. 2015, doi: <https://doi.org/10.1021/ac504300n>.

- [36] S.-H. Lee, H.-Y. Fang, and W.-C. Chen, “Amperometric glucose biosensor based on screen-printed carbon electrodes mediated with hexacyanoferrate-chitosan oligomers mixture,” *Sens Actuators B Chem*, vol. 117, no. 1, pp. 236–243, Sep. 2006, doi: <https://doi.org/10.1016/j.snb.2005.11.028>.
- [37] R. Harud, N. Most, veronica Preda, and N. Nasiri, “Advances in electrochemical sensors for real-time glucose monitoring,” *Sensors & Diagnostics*, vol. 3, pp. 893–913, 2024, doi: <https://doi.org/10.1039/D4SD00086B>.