



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE INGENIERÍA
MAESTRÍA EN CIENCIAS



**Desarrollo de un lab-on-body basado en materiales nanoestructurados
para la cuantificación de
glucosa en sudor acoplado a un dispositivo electrónico**

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestro en ciencias con línea terminal en Nanotecnología

Presenta:

Ing. Ariadna Yaneli Reséndiz Jaramillo

Dirigido por:

Dr. Ricardo Antonio Escalona Villalpando

Dr. Ricardo Antonio Escalona Villalpando
Presidente

Dra. Janet Ledesma García
Secretario

Dr. José Roberto Espinosa Lumbreras
Vocal

Dr. Eugenio Salgado Plasencia
Suplente

Dr. Alejandro Gutiérrez Aguilar
Suplente

Centro universitario, Querétaro, Qro.
Diciembre 2023

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciatario no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciatario.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.

No nos quedaremos al pie del monte
pudiendo ascender hasta la cumbre,
siendo generosos y de corazón gigante

-Sta. Teresa de Jesús

A mis padres: Luz Ma y Olaf

Mis hermanos: Cynthia y Daniel

Mis compañeros Labmyn: Fernando y Carlos

AGRADECIMIENTOS

En primera instancia, quiero agradecer al Dr. Ricardo Escalona por darme la oportunidad de seguir trabajando y aprendiendo de él; A mis compañeros de laboratorio Fernando, Carlos, América, Paulina, Alejandra, Yael, Yonathan y Dulce, por los momentos y conocimientos compartidos y por colaborar para que esta etapa fuera divertida y de gran crecimiento personal; A la Dra. Janet Ledesma por su apoyo en este proyecto; A mi compañera del laboratorio Dulce y sus alumnos Rogelio y Eduardo por su apoyo para FOPER; A las nuevas generaciones Labmyn, Jesús, Fátima, Froy, Ricardo, Arturo, Bryan y Juan por recordarme la ilusión que involucra la investigación; A Conacyt por el apoyo para estudiar el posgrado; A la Facultad de Ingeniería y a la Universidad Autónoma de Querétaro.

Quiero agradecer también a mis padres, Olaf y Luzma por su motivación y apoyo; A mis hermanos, Cynthia y Daniel, por siempre estar para darme ánimos; A mis compañeros de posgrado, Pau y Eduardo por todo lo vivido y compartido; A mis mejores amigos, Iván y Alondra por siempre estar para mi cuando los necesito; y A Luis Chávez y su familia por todo su apoyo en el inicio de esta etapa.

Finalmente agradezco a la Universidad Autónoma de Zacatecas especialmente al Dr. Sergio Durón por darme la oportunidad de hacer una estancia de investigación; Al Dr. Roberto por su apoyo; y A Moni Macías por su compañía y carisma.

ÍNDICE

Índice de figuras	0
1. Introducción	1
2. Antecedentes	2
2.1 Lab-on-a-body	5
2.2 Biosensores electroquímicos	6
2.3 Biosensores amperométricos electroquímicos	7
2.4 Biosensores amperométricos electroquímicos para glucosa	7
2.5. Cuantificación de glucosa en sudor	7
2.6 Transductor electroquímico	8
2.7 Desarrollo de aplicaciones para teléfono inteligente enfocadas a dispositivos médicos	8
3. Hipótesis	9
4. Objetivos	9
4.1 Objetivo general	9
4.1 Objetivos Particulares	9
5. Metodología	10
5.1 Materiales y métodos	10
5.1.1 Atrapamiento cross linking de GOx/MWCNT/GA/FcMeOH	10
5.1.2 Atrapamiento cross linking de GOx/MWCNT/GA/TTF	11
5.1.3 Cross linking entre GOx/MWCNT/ BSA /GA/FcMeOH	11
5.1.4 Atrapamiento cross linking de GOx/MWCNT/ BSA /GA/FcMeOH con membranas de hidroxipropilcetona	11
5.2 Medición y caracterización electroquímica	11
5.2.1 Evaluación de métodos electroquímicos	11
5.2.2 Voltamperometría cíclica (VC)	12
5.2.3 Cronoamperometría	12
5.3 Preparación de electrodos para parche flexible	12
5.4 Diseño electrónico del sensor	13
5.5 Aplicación para la comunicación de tipo wireless	13
6. Resultados y discusión	14

6.1 Inmovilización de la enzima glucosa oxidasa con MWCNT/ /Gox/GA/TTF	14
6.2 Atrapamiento cross linking de GOx/MWCNT/ BSA/GA/FcMeOH	15
6.3 Inmovilización de la enzima glucosa oxidasa con MWCNT/ FcMeOH /GA	18
6.3 Pruebas en parche	19
6.4 Diseño del dispositivo electrónico	20
6.5 Diseño de la aplicación	21
Conclusiones	23
Perspectivas del proyecto	24

Índice de figuras

FIGURA 1 INMOVILIZACIÓN DE GOX POR ENTRECRUZAMIENTO (RICARDO A ESCALONA-VILLALPANDO ET AL., 2019)	4
FIGURA 2 REACCIÓN DE LA GLUCOSA OXIDASA (BANKAR ET AL., 2009)	4
FIGURA 3 PARTES DE UN BIOSENSOR (JIMÉNEZ & LEÓN, 2009)	6
FIGURA 4 SISTEMA DE ELECTRODOS COLOCADOS EN EL POTENCIOSTATO (RESENDIZ, 2021)	12
FIGURA 5 ESTRUCTURA DEL TETRATHIAFULVALENO [1]	14
FIGURA 6 A) CRONOAMPEROMETRÍA A ELECTRODO DE MWCNT-GOX-GA-TTF VS AG/AGCL EN PBS PH 5.6 A 360 MV/S CON ADICIONES DE 1 MM DE GLUCOSA. B) CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA VS CORRIENTE OBTENIDA POR CRONOAMPEROMÉTRIA	15
FIGURA 7 ESTRUCTURA DE LA ALBÚMINA DE SUERO BOVINO (BSA) [2]	16
FIGURA 8 A) CRONOAMPEROMETRÍA A ELECTRODO DE MWCNT-GOX-GA-FCMEOH-BSA VS AG/AGCL EN PBS PH 5.6 A 360 MV/S CON ADICIONES DE 1 MM DE GLUCOSA. B) CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA VS CORRIENTE OBTENIDA POR CRONOAMPEROMÉTRIA	16
FIGURA 9 A) CRONOAMPEROMETRÍA A ELECTRODO DE MWCNT-GOX-GA-FCMEOH-BSA Y MEMBRANA 1% VS AG/AGCL EN PBS PH 5.6 A 360 MV/S CON ADICIONES DE 1 MM DE GLUCOSA. B) CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA VS CORRIENTE OBTENIDA POR CRONOAMPEROMÉTRIA	17
FIGURA 10 A) CRONOAMPEROMETRÍA A ELECTRODO DE MWCNT-GOX-GA-FCMEOH-BSA Y MEMBRANA 5% VS AG/AGCL EN PBS PH 5.6 A 360 MV/S CON ADICIONES DE 1 MM DE GLUCOSA. B) CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA VS CORRIENTE OBTENIDA POR CRONOAMPEROMÉTRIA	17
FIGURA 11 GRÁFICA DE CONCENTRACIÓN VS PROMEDIO DE CORRIENTE, TOMADA DE (RESENDIZ, 2021)	18
FIGURA 12 PARCHE DE GLUCOSA	19
FIGURA 13 A) CRONOAMPEROMETRÍA A ELECTRODO DE MWCNT-GOX-GA-FCMEOH VS AG/AGCL EN PBS PH 5.6 A 360 MV/S CON ADICIONES DE 0.5 MM DE GLUCOSA EN PARCHE. B) CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA VS CORRIENTE OBTENIDA POR CRONOAMPEROMÉTRIA	20
FIGURA 14 DISEÑO ELECTRÓNICO DEL BIOSENSOR DE GLUCOSA	20
FIGURA 15 APPLICACIÓN GUAQ	21
FIGURA 16 LICENCIAS GLUAQ	22
FIGURA 17 INTERFAZ PARA CONEXIÓN BT	22
FIGURA 18 INTERFAZ DE LA APLICACIÓN DESARROLLADA	23

RESUMEN

La identificación y detección de glucosa es un trabajo continuo de investigación por ser una de las enfermedades metabólicas que impactan a personas a nivel mundial y principalmente en México. Por lo que el desarrollo de novedosos dispositivos que no sean invasivos contribuiría en gran medida a un mejor tratamiento y diagnóstico. En el presente proyecto, se plantea el desarrollo de un lab-on-body de glucosa no invasivo, altamente sensible, rango de cuantificación encontrada en sudor, alta sensibilidad, bajos límites de detección y cuantificación en condiciones controladas de reacción y en sudor. Asimismo, se propone el diseño y desarrollo de un circuito electrónico el cual se utilizará como transductor, el cual se calibró con los valores obtenidos por pruebas electroquímicas estandarizadas en condiciones controladas de reacción y sudor real para la detección y cuantificación de glucosa en sudor. El circuito propuesto es controlado por un módulo ESP32, se escribió en Python un programa para que el módulo pueda funcionar como un potenciómetro y realizar las pruebas electroquímicas necesarias tales como voltamperometría cíclica, y cronoamperometría. Para su desarrollo, se usaron diversos componentes electrónicos como amplificadores operacionales utilizados en diferentes configuraciones como seguidor de voltaje, convertidor de corriente a voltaje, amplificador inversor y no inversor, se utilizó también el circuito analógico a una celda electroquímica. Finalmente se desarrolló una aplicación para teléfono inteligente con la cual se comunica por medio de BT al transductor y funciona como procesador. La novedad del proyecto es el desarrollo de un lab-on-body de glucosa, el cual es capaz de cuantificar glucosa en sudor de forma no invasiva y continua, siendo un avance significativo en el área de salud con un impacto y compromiso social.

Palabras clave: Lab-on-body, no invasivo, glucosa

SUMMARY

The identification and detection of glucose is an ongoing research work because it is one of the metabolic diseases that impact people worldwide and mainly in Mexico. Therefore, the development of novel non-invasive devices would contribute greatly to a better treatment and diagnosis. In the present project, we propose the optimization of a non-invasive glucose biosensor, highly sensitive, range of quantification found in sweat, high sensitivity, low detection limits and quantification in controlled reaction conditions and in sweat. Likewise, it is proposed the design and development of an electronic circuit which will be used as a transducer for a dermal glucose biosensor, calibrated with the values obtained by standardized electrochemical tests in controlled conditions of reaction and real sweat for the detection and quantification of glucose in sweat. The proposed circuit is controlled by an ESP32 module, a program was written in Python so that the module can function as a potentiostat and perform the necessary electrochemical tests such as cyclic voltammetry, and chronoamperometry. For its development, several electronic components were used such as operational amplifiers used in different configurations as voltage follower, current to voltage converter, inverting and non-inverting amplifier, the analog circuit to an electrochemical cell was also used. The novelty of the project is the development of a glucose biosensor coupled to an electronic device that can quantify glucose in sweat in a non-invasive and continuous way, being a significant advance in the health area with an impact and social commitment.

Keywords: laboratory-on-body, non-invasive, glucose

1. Introducción

La investigación en la identificación y detección de glucosa es un campo en constante desarrollo debido a su relevancia como una enfermedad metabólica que afecta a personas en todo el mundo, especialmente en México. Por lo tanto, una de las propuestas más innovadoras es el desarrollo de dispositivos microfluídicos no invasivos, lo que contribuiría significativamente a mejorar el tratamiento y diagnóstico de la enfermedad.

Los biosensores electroquímicos ofrecen varias ventajas, como su miniaturización, bajo costo, practicidad de uso y la posibilidad de realizar mediciones *in situ*. Además, la tecnología electroquímica permite una detección selectiva y altamente sensible, lo que garantiza resultados precisos y confiables.

El presente proyecto cuenta con tres secciones, en la primer sección es la detección, para ello se realizará un análisis de diferentes sensores electroquímicos para detección de glucosa resaltando sus métodos de preparación y caracterización, aunado a sus límites de detección y cuantificación con el objetivo de obtener información respecto a las tendencias en materiales para la detección de glucosa; la transducción se tratará en la segunda sección, donde se describirá como se realizó un circuito electrónico el cual funciona como transductor para convertir la señal electroquímica a una señal electrónica; en la tercera sección se desarrollará una aplicación para teléfono inteligente la cual se conectará por Bluetooth al desarrollo electrónico y funcionará como procesador.

2. Antecedentes

Utilizar dispositivos electroquímicos para el diseño y desarrollo de biosensores tiene un gran abanico de ventajas, dentro de las cuales resaltan las pruebas electroquímicas ya que pueden realizarse en pequeños volúmenes de muestras resultando en dispositivos adecuados para la monitorización en tiempo real; otra de las ventajas que se puede encontrar es que al momento de realizar las pruebas se obtiene una señal electroquímica y por lo que es factible la transición directa de la velocidad de reacción en la señal de lectura; por otro lado los límites de detección obtenidos se encuentran en el rango correcto y son adecuados para la detección de muchos analitos de interés. Una de las ventajas más llamativa para la industria es el bajo costo de instrumentación lo que resulta en una fácil disponibilidad de estos dispositivos.

Dentro de los transductores electroquímicos se encuentran los conductimétricos, potenciométricos y amperométricos siendo estos últimos los más utilizados en la práctica. Dentro de las diferentes metodologías de trabajo que se pueden encontrar para la construcción de un biosensor electroquímico implica la inmovilización del sistema de reconocimiento biológico el cual puede ser una enzima, tejidos, microorganismos, anticuerpos, etc. sobre la superficie del transductor conocido como electrodo de trabajo (Marta et al., n.d.). En este trabajo se utilizará la enzima glucosa oxidasa (GOx) como biomaterial de reconocimiento y oxidación de glucosa de forma selectiva.

Desde 1967 Updike y Hicks publicaron un electrodo enzimático amperométrico siendo de gran interés hasta la actualidad pues debido a su selectividad inerte al elemento de reconocimiento biológico puede conseguirse una buena sensibilidad (Lechuga & Calle, 1995). Los biosensores amperométricos monitorean las corrientes se Faraday que resultan del intercambio de electrones entre el sistema biológico y un electrodo con el objetivo de mantener un potencial constante. Las enzimas oxido reductoras son de interés para la conversión enzimática del sustrato pues generan una reacción de transferencia de electrones.

Las enzimas son un tipo de proteínas que catalizan reacciones químicas de forma eficaz en los sistemas biológicos, suelen ser estables en pH neutro y a temperatura ambiente, en algunos casos se necesita de un cofactor para realizar las reacciones. El centro activo

presentado en las enzimas, se puede definir como el elemento de la molécula que facilita la unión y el reconocimiento del sustrato lo que conlleva a la formación de un complejo activo, por lo que se genera la energía suficiente para propiciar la reacción química (A. Julio Reviejo & José M. Pingarrón, 2000). Por lo tanto, el centro activo de la enzima les da una alta especificidad y selectividad, características importantes en los biosensores.

Para este trabajo se utilizará la enzima glucosa oxidasa (GOx), una de las características más importantes de las oxidasas es la dependencia de un cofactor el cual está enlazado dentro de la estructura enzimática en este caso en particular dicho cofactor es redox o del tipo flavina (FAD). Para el ciclo catalítico las oxidasas suelen necesitar de un agente de reoxidación como el oxígeno molecular, dependiendo de la capacidad de la enzima esta puede donar 2 o 4 electrones formando peróxido o agua. Sin embargo, la reducción electroquímica de oxígeno necesita un potencial bastante negativo (-0.6V vs Ag/AgCl) lo que origina una corriente muy elevada. Para usar potenciales menores suelen utilizarse mediadores electroquímicos que pueden ser utilizados para mejorar la transferencia de electrones y de esta manera se utilizan ahora los potenciales de los mediadores los cuales son menores lo que hace que el biosensor sea más viable pues se evitan interferencias que pudieran obtenerse por otras especies electroactivas que reaccionan a potenciales elevados (Arroyo, n.d.).

Uno de los factores limitantes para el tiempo de vida de los biosensores enzimáticos es la estabilidad de las enzimas. Para incrementar la estabilidad estructural y funcional del biosensor se han implementado diversos métodos de inmovilización de enzimas, para considerar que uno de estos métodos es óptimo se debe mantener la estabilidad de la enzima, ser reutilizable y selectiva.

Se tienen diferentes métodos de atrapamiento para la enzima los cuales se pueden dividir en físicos y químicos. Dentro de los químicos uno de los más estables es mediante uniones covalentes con el electrodo, generalmente mediante grupos hidrófilos de la enzima lo cuales no interfieren con su actividad catalítica, otro método químico comúnmente empleado es el conocido como cross-linking en el que los reactivos establecen enlaces intermoleculares con la enzima (Abellán-Llobregat et al., 2017).

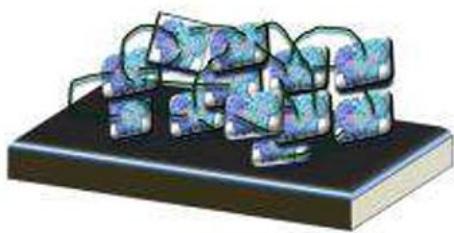


Figura 1 Inmovilización de GOx por entrecruzamiento (Ricardo A Escalona-Villalpando et al., 2019)

Para transformar la señal detectada por los sensores a una señal cuantificable se usa un transductor, existen los transductores amperométricos los cuales cuantifican el incremento o decremento de corriente en una media celda electroquímica. Las medidas amperométricas se realizan mediante un sistema de 3 electrodos: electrodo de referencia que mantiene constante el potencial aplicado, contraelectrodo que dentro de la configuración electrónica cierra el circuito y electrodo de trabajo que mide el paso de la corriente (Lechuga & Calle, 1995).

En el año 1962 en el Hospital Infantil de Cincinnati se desarrolló y comercializó el primer biosensor enzimático para glucosa por Clark y Lyons. Para el dispositivo se ancló la enzima Gox dentro de una membrana semipermeable a un electrodo. Para la detección la enzima es la encargada de catalizar la reacción entre el oxígeno y la glucosa lo que produce peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y ácido glucónico ($C_6H_{12}O_7$), para obtener la cuantificación de glucosa se cuantifica el oxígeno remanente pues su concentración se disminuye conforme ocurre la reacción (Sánchez-Ramírez et al., 2014). Diez años después de que se construyó y comercializó el primer prototipo una compañía estadounidense de nombre Yellow Spring.

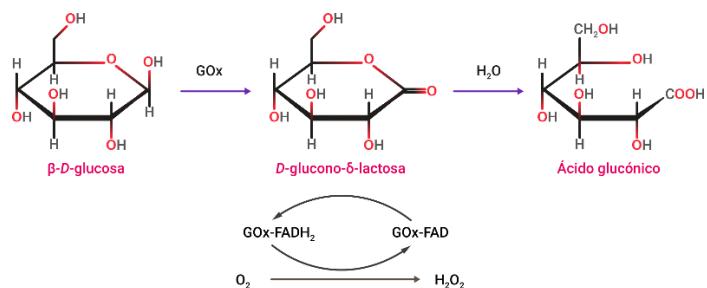


Figura 2 Reacción de la glucosa oxidasa (Bankar et al., 2009)

La aplicación emergente de la microfluídica al bioanálisis en el cuerpo humano es una nueva táctica para establecer sistemas para la detección continua, en tiempo real e in situ de

marcadores informativos presentes en biofluidos, como el sudor, el líquido intersticial, la sangre, la saliva y las lágrimas. Los sensores electroquímicos resultan atractivos para su incorporación en esta clase de microfluidos gracias a la probabilidad de ser miniaturizados. Además, la microfluídica en el cuerpo humano, unida a la bioelectrónica, posibilita una adhesión inteligente con los desarrollos tecnológicos actuales. En los desafíos que se presentan se tienen los esfuerzos para manipular pequeños volúmenes de muestra manteniendo la flexibilidad mecánica, la eficiencia en el consumo de energía y la simplicidad de los sistemas automatizados totales.

La tecnología de los lab-on-body han permitido la detección y el monitoreo en tiempo real de la información fisiológica en el cuerpo humano. Los estudiosos han desarrollado diferentes sensores para identificar varios marcadores biológicos los cuales se asocian de manera directa con alguna patología o condición médica. Dichos datos sensados del cuerpo humano pueden utilizarse para proveer información y ayuda en tiempo real a el individuo.

2.1 Lab-on-a-body

Un lab-on-a-body consiste en un dispositivo diseñado para un monitoreo continuo de biomarcadores a partir de fluidos biológicos, por lo que permite el análisis en tiempo real de marcadores bioquímicos en el cuerpo proporcionando información sobre desequilibrio en sus señales fisiológicas. El objetivo de estos dispositivos es mejorar el control de la salud tomando muestras continuas de fluidos biológicos y analizándolas mediante sensores electroquímicos ofreciendo un análisis completo del estado de salud del usuario (Sung et al., 2019)

Dentro de las características importantes se puede resaltar el uso de un conjunto de biosensores químicos multiplexados para muestrear y analizar continuamente el fluido biológico, lo cual proporciona información real sobre las señales fisiológicas (Ramadan & Zourob, 2020).

Dentro de los desafíos en el diseño y desarrollo de un lab-on-body se encuentra la estabilidad de almacenamiento a largo plazo, la miniaturización de equipos, estabilidad y confiabilidad y sobre todo lograr una interfaz perfecta entre los sistemas biológicos y el software ideal para cumplir los objetivos de un lab-on-a-body (Brooks & Alper, 2021).

2.2 Biosensores electroquímicos

Los biosensores electroquímicos se pueden definir como dispositivos analíticos engloban elementos de detección biológica con un transductor físico-químico lo cual les permite convertir una señal electroquímica en una señal electrónica. Este tipo de biosensores se utiliza principalmente para la detección y cuantificación de analitos de interés y a tenido un crecimiento significativo en las áreas de salud, biotecnología, industria alimentaria y medio ambiente (Díaz González, 2019).

El funcionamiento de un biosensor electroquímico consiste en una serie de pasos los cuales ayudan a cuantificar el analito de interés. Primero se acoplan a un elemento de detección biológico (enzimas, anticuerpos, ácidos nucleicos o microorganismos) con un transductor físico-químico el cual realiza la transducción de la señal convirtiendo una señal electroquímica en una señal electrónica. El elemento biológico interactúa de manera selectiva con el analito lo que genera una señal electroquímica, dicha señal se detecta y convierte en una señal eléctrica por medio de un transductor electroquímico, finalmente, el sistema electrónico del biosensor se encarga de amplificar y procesar la señal electroquímica convirtiéndola en una señal interpretable (Espejo Fernández, 2022).

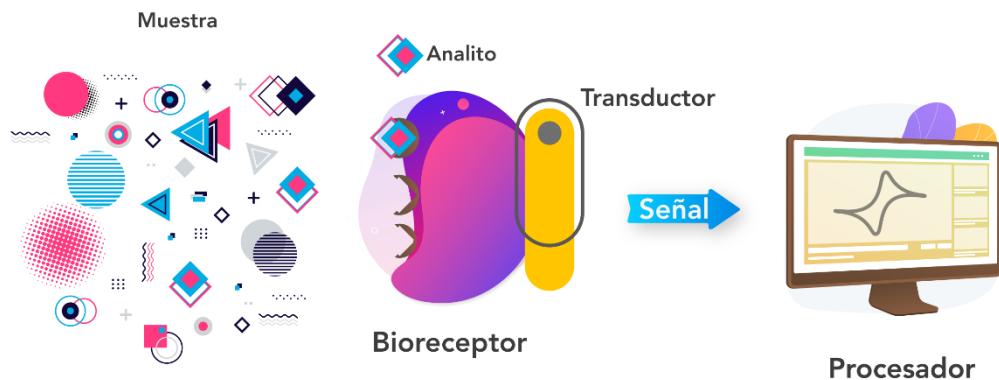


Figura 3 Partes de un biosensor (Jiménez & León, 2009)

Los biosensores electroquímicos enzimáticos se clasifican por generaciones: los de 2° generación incorporan un mediador el cual facilita la transferencia electrónica entre el centro activo de la enzima y el electrodo; por otro lado, los de 3° generación tienen una transferencia

electrónica directa entre la enzima y el electrodo, por lo que trabajan a potenciales cercanos a los intrínsecos de la enzima (Artigues Cladera, 2021).

2.3 Biosensores amperométricos electroquímicos

Los biosensores amperométricos electroquímicos son dispositivos capaces de medir las variaciones en la corriente eléctrica generada por una reacción química o bioquímica entre un analito y un elemento biológico de interés. Dentro de sus características se puede mencionar el uso de un transductor electroquímico el cual convierte la señal electroquímica en una señal eléctrica medible (Hernández et al., 2011), también tienen la capacidad de medir la corriente eléctrica que se genera al aplicar un potencial fijo entre el electrodo de trabajo y el de referencia (González-Vidal et al., 2018).

2.4 Biosensores amperométricos electroquímicos para glucosa

Los biosensores amperométricos electroquímicos de glucosa son dispositivos que utilizan una reacción enzimática para cuantificar los niveles de glucosa de manera eficaz y precisa (Díaz González, 2019). Se basan en el uso de la enzima glucosa oxidasa, que cataliza la oxidación de glucosa a ácido glucónico, produciendo peróxido de hidrógeno como subproducto, este peróxido se oxida electroquímicamente en un electrodo de trabajo generando una corriente eléctrica proporcional a la concentración de la muestra (Espejo Fernández, 2022).

Dentro de las ventajas que se pueden resaltar se encuentran los resultados precisos, reproducibles y rápidos, Además, son pequeños, económicos, sensibles y confiables debido al desarrollo de nuevos materiales en conjunto con los avances nanotecnológicos (Artigues Cladera, 2021).

2.5. Cuantificación de glucosa en sudor

La relación entre la glucosa en sangre y en sudor es un área de gran importancia para la monitorización de diabetes ya que se ha demostrado que existe una correlación entre los niveles de glucosa en sangre y en sudor; Un estudio realizado sobre dicha correlación

mediante espectrofotometría UVvis demostró la factibilidad de medir glucosa en sudor con una precisión significativa (González-Vidal et al., 2018) , lo que ofrece una alternativa para medir los niveles de glucosa indirectamente y mejorar la calidad de vida de los pacientes con diabetes.

2.6 Transductor electroquímico

Se puede definir a un transductor electroquímico de tipo amperométrico como un dispositivo utilizado en biosensores para medir la corriente generada en procesos de oxidación/reducción de sustancias electroactivas (Farrarons, n.d.). Estos transductores son esenciales en la detección de analitos en aplicaciones industriales, ambientales, agroalimentarias y medicinales.

La conexión entre el transductor y el elemento de detección (enzimas o anticuerpos), se logra inmovilizando el biomaterial sobre el electrodo de trabajo mediante distintos métodos de inmovilización, como adsorción, microencapsulación, atrapamiento, reticulación y formación de enlaces covalentes (Hernández et al., 2011)

2.7 Desarrollo de aplicaciones para teléfono inteligente enfocadas a dispositivos médicos

El desarrollo de aplicaciones para teléfonos inteligentes con objetivos médicos implica la implementación de plataformas que conecten a los pacientes con los proveedores de atención médica, ofreciendo servicios como mensajería, videoconferencias y recopilación de datos médicos (Medina, 2018). Dichas aplicaciones tienen como objetivo mejorar la accesibilidad a los servicios de atención médica y optimizar los procesos médicos (Moncada-Sánchez et al., 2017).

Dentro de las características más importante se incluyen interfaces fáciles de usar, experiencias personalizadas, recopilación de datos para mejorar y funcionalidades esenciales fácilmente disponibles para los usuarios (Andrés Díaz Lantada, 2009). Los diferentes tipos de aplicaciones médicas satisfacen diversas necesidades, como el seguimiento del estilo de vida, la accesibilidad a los resultados de las pruebas y la referencia de medicamentos (Bermeo, 2021).

Al hablar de aplicaciones medicas también es importante resaltar las medidas requeridas para garantizar la privacidad y seguridad de los datos del paciente es por ello por lo que existen diferentes leyes como la HIPPA (Ley de responsabilidad y portabilidad del seguro médico). Además, se busca siempre tener un almacenamiento y transmisión de datos seguros, así como una recopilación mínima de datos necesarios y transparencia y control con el paciente (Bermeo, 2021).

3.Hipótesis

El desarrollo de un lab-on-body con materiales nanoestructurados acoplado a un dispositivo electrónico tipo wirelees permitirá la cuantificación de glucosa en sudor dentro de los rangos de cuantificación, alta selectividad y bajo límite de detección, mediante una aplicación para teléfono inteligente.

4. Objetivos

4.1 Objetivo general

Desarrollar un dispositivo lab-on-body basado en materiales nanoestructurados acoplado a un sistema electrónico tipo wirelees para la cuantificación de glucosa en sudor humano mediante una aplicación para teléfono inteligente

4.1 Objetivos Particulares

- 1) Evaluar métodos de inmovilización de la enzima glucosa oxidasa usando carbón nanoestructurado y mediadores electroquímicos.
- 2) Caracterizar los electrodos derivados de la enzima glucosa oxidasa por técnicas electroquímicas.
- 3) Optimizar las condiciones de trabajo del biosensor de glucosa tales como pH, temperatura, estabilidad y rango lineal por técnicas electroquímicas en condiciones iguales al sudor.
- 4) Diseñar y evaluar el biosensor electroquímico acoplado a un material biocompatible para su uso dérmico.

- 5) Diseñar el dispositivo electrónico tipo potenciómetro construyendo un circuito de randles por medio de softwares de simulación y componentes electrónicos.
- 6) Diseñar una aplicación para teléfono inteligente, la cual nos permitirá establecer una comunicación tipo Wireless con el dispositivo electrónico
- 7) Acoplar el biosensor electroquímico con el dispositivo electrónico el cual pueda ser manipulado desde la aplicación del teléfono inteligente.

5. Metodología

5.1 Materiales y métodos

Se utilizó Glucosa Oxidasa (E.C: 1.1.99.10 Aspergillus sp., GLDE-70-1191) adquirida de Sekisui Diagnostics (Reino Unido). Papel de carbón Toray de Fuel Cell Earth (EE. UU., TGP-H-060), nanotubos de carbono con un diámetro de 10-20 nm. La solución de tampón fosfato (PBS por sus siglas en inglés phosphate buffer solution) se preparó usando K₂HPO₄ y KH₂PO₄ de J. T. Baker (Resendiz, 2021).

Para las pruebas electroquímicas se recortaron tiras de 3 x 0.3 cm de papel carbón Toray, cada una fue sumergida en parafina por medio minuto dejando libre una superficie de 0.3x 0.5 cm. Se preparó una concentración de glutaraldehído (GA) al 4.5% en Buffer de fosfatos pH 7.4 a partir de GA al 50 %. En cuanto a la reparación de electrodos derivados de GOx se realizaron 4 tipos de atrapamiento, Para colocar la solución en el electrodo, con ayuda de una micropipeta se depositaron 20 µL de la solución en el área de 0.3 x 0.5 cm que se dejó sin parafina del electrodo. Posteriormente se dejaron secar a 4°C durante 24 horas.

5.1.1 Atrapamiento cross linking de GOx/MWCNT/GA/FcMeOH

Se disolvieron 0.5 mg de enzima Glucosa Oxidasa en 50µL de PBS con pH 7.4, 0.1 mg de FcMeOH en 50 µL de Metanol, se juntaron en un tubo ependorff con un volumen total de 100 µL y se agitaron en el vortex por 5 min. Posteriormente, se tomó una alícuota de 75 µL de la mezcla anterior y se agregaron a 0.5 mg de MWCNT junto con 25 µL de GA al 4.5 %. Para facilitar el atrapamiento por cross-linking se sónico por 3 min y posteriormente se colocará en el vortex 30 segundos, este procedimiento se repetirá 5 veces (Resendiz, 2021).

5.1.2 Atrapamiento cross linking de GOx/MWCNT/GA/TTF

Se disolvieron 0.5 mg de enzima Glucosa Oxidasa en 50 μ L de PBS con pH 7.4, 4 mg de TTF en 50 μ L de Etanol, se juntaron en un tubo ependorff obteniendo un volumen total de 100 μ L y se agitaron en el vortex por 5 min. Posteriormente, se tomó una alícuota de 75 μ L de la mezcla anterior y se agregaron a 0.5 mg de MWCNT junto con 25 μ L de GA al 4.5 %. Para facilitar el atrapamiento por cross-linking se sónico por 3 min y posteriormente se colocará en el vortex 30 segundos, este procedimiento se repetirá 5 veces (*Ordaz, 2023*).

5.1.3 Cross linking entre GOx/MWCNT/ BSA /GA/FcMeOH

Se preparó una solución de suero bobino (BSA) al 5% y se utilizó la misma preparación descrita en la sección 5.1 de este documento y 24 horas después se agregó sobre los electrodos 20 μ L de BSA y se dejó secar en refrigeración a 4°C durante 4 horas.

5.1.4 Atrapamiento cross linking de GOx/MWCNT/ BSA /GA/FcMeOH con membranas de hidroxipropilcetona

Se prepararon dos soluciones de membranas con hidroxipropilcetona una al 1% y la segunda al 5%. Se siguió el mismo procedimiento descrito en la sección 5.3 de este documento y una vez terminado se agregaron 5 μ L de la membrana al 1% a 3 electrodos y 5 μ L de la membrana al 5% y a otros 3 electrodos.

5.2 Medición y caracterización electroquímica

5.2.1 Evaluación de métodos electroquímicos

El sistema para la evaluación de métodos electroquímicos con tres electrodos es una configuración importante en la investigación electroquímica. Dicho sistema está conformado por un electrodo de trabajo (WE) el cual contiene la enzima, como contraelectrodo (CE) una barra de carbón y un electrodo de referencia (RE) utilizando un electrodo de Ag/AgCl

(Resendiz, 2021). Los 3 electrodos se colocaron en vaso de precipitados para armar la celda electroquímica y de esta manera poder realizar las mediciones. Se colocaron también 5 ml de PBS a pH 5.6 como electrolito tal como se muestra en la Figura 4.



Figura 4 Sistema de electrodos colocados en el Potenciómetro (Resendiz, 2021)

5.2.2 Voltamperometría cíclica (VC)

La voltamperometría cíclica es una técnica analítica esencial en electroquímica, se utiliza para medir el potencial de reducción de una especie en solución. Este método aplica un voltaje a la solución y monitorea la corriente a través de un circuito a medida que el voltaje cambia con el tiempo (Fernández Espinosa, 2001). Para este trabajo se realizó un barrido en una ventana de potencial de -0.1 a .5 mV a una velocidad de barrido de 5 mVs^{-1} .

5.2.3 Cronoamperometría

La cronoamperometría es una técnica electroquímica la cual consiste en aplicar un potencial constante al sistema electroquímico y medir la corriente que resulta en función del tiempo (Sánchez Muñoz et al., 2018). Las cronoamperometrías realizadas en este trabajo se realizaron en un potencial de 0.360 V y se midieron por un tiempo de 3 min, posteriormente se agregó una concentración de glucosa de 0.5 mM y se realizó nuevamente la prueba hasta llegar a una concentración de 4 mM.

5.3 Preparación de electrodos para parche flexible

Para el electrodo de referencia se utilizó una superficie de 3 x 0.3 cm de papel toray sobre la cual se depositó 1 μL de tinta de Nanopartículas de Plata (AgNPs) y se esperó a que secara

por 72 h. Transcurrido del tiempo, se colocó 1 μ L de FeCl₃. (Resendiz, 2021). La superficie utilizada fue un parche dérmico de uso médico con el fin de darle la propiedad de flexibilidad y por la facilidad de ser colocado sobre la piel.

5.4 Diseño electrónico del sensor

Para el desarrollo del diseño electrónico del sensor se realizó un dispositivo electrónico el cual es controlado con un módulo ESP32, el dispositivo esta programado para realizar en serie las siguientes pruebas: Primero inicia con una medición que da el valor del circuito abierto y almacena dicho valor en una variable (CP), después realiza un barrido de potencial de -0.1V a 0.5V y compara los datos obtenidos almacenando únicamente el valor máximo medido el cual es el pico de oxidación y hace el barrido nuevamente pero ahora de 0.5V a -0.1V para completar el ciclo de reducción. Al valor del pico de oxidación se le resta el valor de la variable CP dando como resultado el potencial que se aplicará durante 3 min para obtener la cronoamperometría, al finalizar esta prueba se tendrá el valor de corriente obtenido en la prueba y este se interpolará en la curva de calibración para obtener así el valor de glucosa medido. Finalmente, este valor se enviará por BT a la aplicación desarrollada.

5.5 Aplicación para la comunicación de tipo wireless

Para el procesador se utilizó el programa llamado Kotlin el cual es un programa de código abierto común mente utilizado para realizar aplicación para Android. La aplicación cuenta con dos cambas, en la primera se solicitan los datos de acceso a la aplicación (Usuario y contraseña) y en la segunda el usuario puede conectar su teléfono al transductor y obtener el valor de glucosa que está en su sangre en unidades de mg/dl, además de que puede ver la cantidad mínima y máxima medida en el día y cuenta con una gráfica que le muestra los valores obtenidos con cada una de sus mediciones.

6. Resultados y discusión

6.1 Inmovilización de la enzima glucosa oxidasa con MWCNT/ /Gox/GA/TTF

El tetrathiafulvaleno (TTF) es un compuesto orgánico utilizado como mediador redox en la fabricación de biosensores, es caracterizado por su capacidad para cambiar de estado de oxidación a reducción, por lo que facilita la transferencia de electrones en reacciones químicas. Aplicado en biosensores de glucosa, el TTF se utiliza para ayudar con la transferencia de electrones entre la enzima que cataliza la reacción de oxidación de la glucosa y el electrodo del biosensor. Esto permite cuantificar la cantidad de electrones transferidos, lo que se traduce en una lectura de la concentración de glucosa en la muestra (Montañez et al., 2011).

La estructura del TTF es caracterizada por un anillo de fulvaleno con cuatro grupos tio (S) en sus posiciones 2, 3, 5 y 6 (Figura 5). Dichos grupos tio son por los que el TTF puede actuar como un mediador de electrones. Entonces, cuando se tiene una oxidación de la glucosa por la enzima glucosa oxidasa (Gox), los electrones liberados son transferidos a los grupos tio del TTF, que también se reducen, por lo que estos electrones reducidos son transferidos al electrodo, generando una corriente eléctrica (Cano et al., 2007)

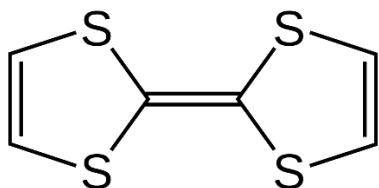


Figura 5 Estructura del tetrathiafulvaleno (Cano et al., 2007)

En la Figura 6 A) se puede observar las cronoamperometrías obtenidas para cada una de las concentraciones de glucosa, si bien la corriente es estable el incremento de corriente entre cada adición no es lineal como se observa en la Figura 6 B) esto podría deberse a que si bien el TTF es un mediador que facilita la transferencia de electrones este suele degradarse con el tiempo lo afecta su estabilidad y con ello la transferencia de electrones, de igual manera si el TTF se une de forma no específica a la glucosa esto afectaría también la medición de la

corriente eléctrica generada; pensando en el diseño electrónico se busca que estos incrementos sean significativos para que puedan ser detectados por el dispositivo electrónico, aunado a que la corriente obtenida por este método se encuentra en un rango de 1.5 a 2.25 μ A el cual también es bajo comparado con los métodos analizados más adelante.

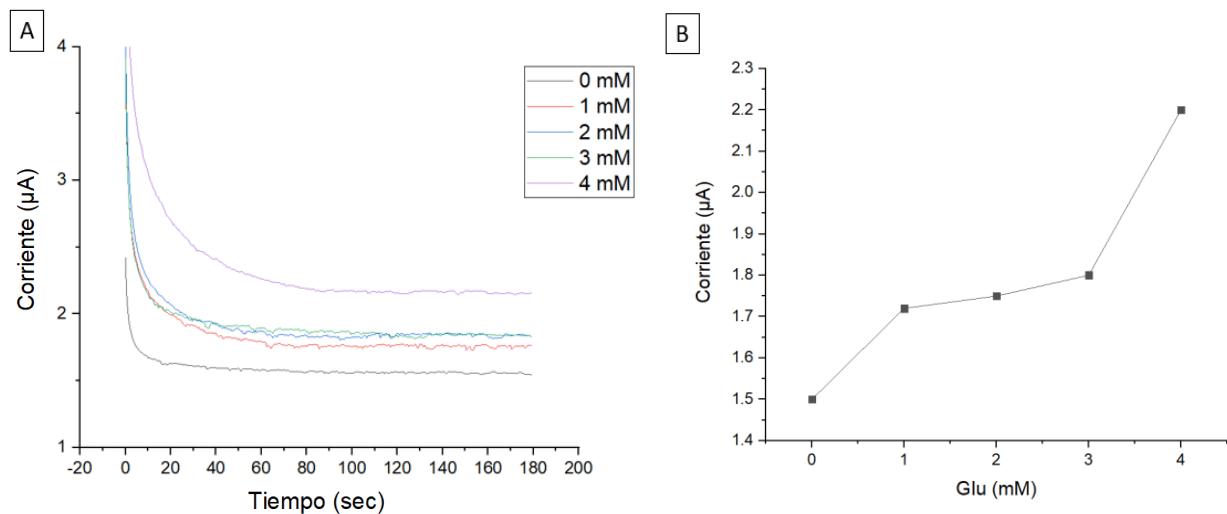


Figura 6 A) Chronoamperometría a electrodo de MWCNT-GOx-Ga-TTF vs Ag/AgCl en PBS pH 5.6 a 360 mV/s con adiciones de 1 mM de glucosa. B) Concentración de glucosa vs corriente obtenida por chronoamperometría

6.2 Atrapamiento cross linking de GOx/MWCNT/ BSA/GA/FcMeOH

La albúmina de suero bovino (BSA) es utilizada para dar un soporte a la inmovilización de la enzima glucosa oxidasa (GOx), esto se debe a su capacidad para estabilizar y proteger la enzima, lo que mejora la estabilidad y la actividad enzimática. Además, de incrementar la adherencia de la enzima a la superficie del sensor, lo que puede mejorar la sensibilidad y la especificidad del sensor (Kulkarni & Slaughter, 2016).

La BSA es una proteína globular, tiene una forma esférica y no lineal, dicha estructura es la que propicia una interacción con otros componentes biológicos y otorga su capacidad para ser funcionalizada en superficies (Figura 7). Su estructura se compone de 583 aminoácidos, sus estructuras terciarias y cuaternarias son las que permiten su función biológica. La BSA tiene una gran capacidad para unir moléculas, lo que la hace ideal para ser utilizada en la detección de biomarcadores y en la creación de biosensores (Altuzar, 2009)

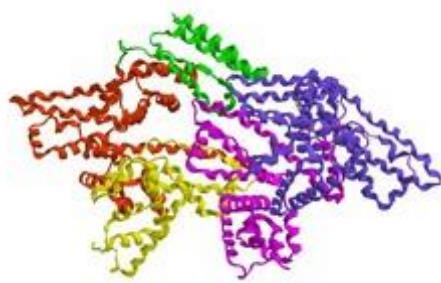
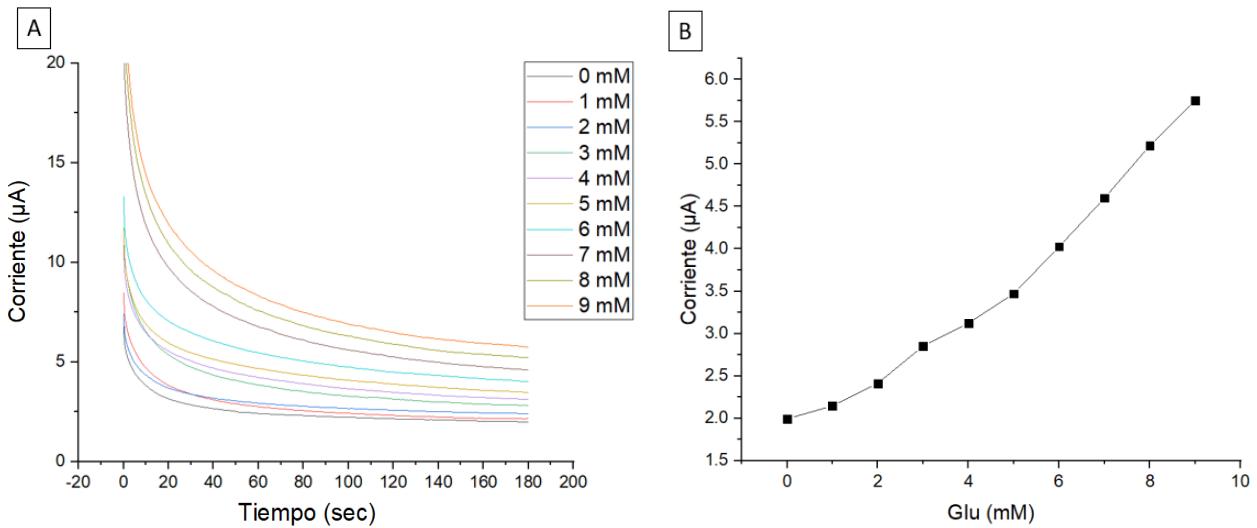


Figura 7 Estructura de la albúmina de suero bovino (BSA) (Altuzar, 2009)

En la Figura 8 A) se observa la cronoamperometría con adiciones de glucosa que van de 0 a 9 mM, en comparación con el método que utiliza TTF las pruebas con BSA presentan una mayor estabilidad al igual que incrementos de corriente de 0.5 μ A aproximadamente entre cada adición (Figura 8 B) obteniendo corrientes en un rango de corriente de 2 a 5.8 μ A. El resultado obtenido puede atribuirse a que la BSA se utiliza como un agente entrecruzador para estabilizar la GOx sobre la superficie del biosensor, lo que contribuye a conservar la estructura y función de la enzima, mejorando la estabilidad del biosensor.



Con el objetivo de aumentar la corriente se añadió una membrana de hidroxipropilcetona, estas membranas están diseñadas para permitir la difusión de la glucosa a través de la solución y su contacto con el centro activo de la enzima glucosa oxidasa (Navarro, 2010). En

la Figura 9 A) se muestra la cronoamperometría del electrodo con una membrana a 1% con adiciones de 0.5 en un rango 0 a 6 mM obteniendo variaciones de corriente de 0.4 μ A. Como se puede observar en la Figura 9 B) no todas las adiciones de glucosa generan incrementos de corriente como se esperaría al contrario se pueden observar decrementos de corriente en las concentraciones 1.5 y 3.5 por lo que no se tiene estabilidad.

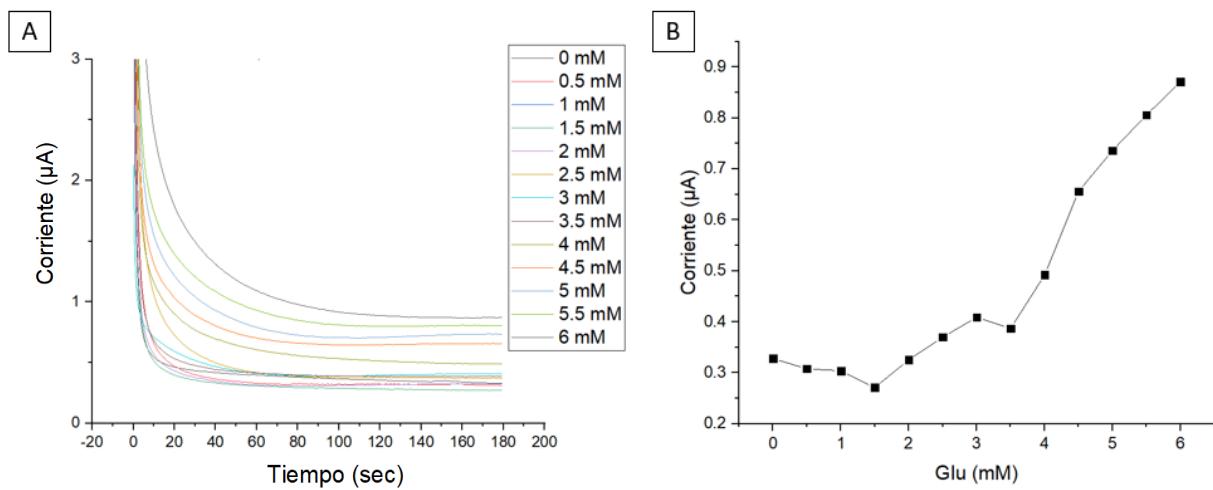


Figura 9 A) Chronoamperometría a electrodo de MWCNT-GOx-Ga-FcMeOH-BSA y membrana 1% vs Ag/AgCl en PBS pH 5.6 a 360 mV/s con adiciones de 1 mM de glucosa. B) Concentración de glucosa vs corriente obtenida por chronoamperometría

Por otro lado, en la Figura 10 se puede observar la cronoamperometría obtenida con la membrana al 5%, si bien presenta valores de corriente mayores en comparación con los obtenidos con la membrana al 1% no se muestra una estabilidad ni un aumento de corriente significativo tal como se puede observar en la Figura 10 B).

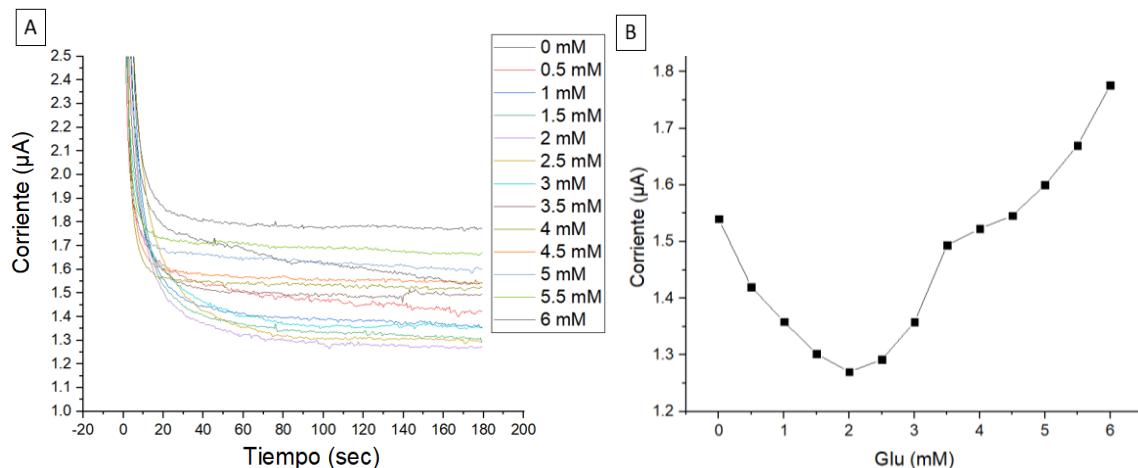


Figura 10 A) Chronoamperometría a electrodo de MWCNT-GOx-Ga-FcMeOH-BSA y membrana 5% vs Ag/AgCl en PBS pH 5.6 a 360 mV/s con adiciones de 1 mM de glucosa. B) Concentración de glucosa vs corriente obtenida por chronoamperometría

6.3 Inmovilización de la enzima glucosa oxidasa con MWCNT/ FcMeOH /GA

Tabla 1 Comparación de los métodos utilizados para el electrodo de trabajo (autoría propia)

Mediator	Rango de medición	Sensibilidad (μA $\text{mM}^{-1} \text{cm}^2$)	Rango de corriente (μA)	R^2
TTF	0 - 4 mM	0.131	1.5 – 2.25	0.872
FcMeOH BSA	0-10 mM	0.426	2 – 5.8	0.972
FcMeOH BSA con membrana 1%	0 - 6 mM	0.0987	0.4 -0.75	0.83
FcMeOH BSA con membrana 5%	0 - 6 mM	0.056	1.56 -1.8	0.486
FcMeOH	0 - 6 mM	0.745	1.97 – 6.6	0.99

En la Tabla 1 se presenta un resumen de los métodos estudiados, al no encontrar un método con el cual se obtuviera una mayor corriente que cumpliera también con los criterios de estabilidad pero sobre todo con un incremento constante entre cada adición de glucosa se optó por seguir utilizando el método que se había estandarizado en un trabajo previo el cual obtuvo corrientes entre 1.57 a 6.3 μA . En los análisis realizados a pH 5.6 se tiene un límite de cuantificación de 0.33 mM, límite de detección de 0.101 mM, una sensibilidad igual a $0.745 \mu\text{A} \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^2$. (Figura 11) (Resendiz, 2021).

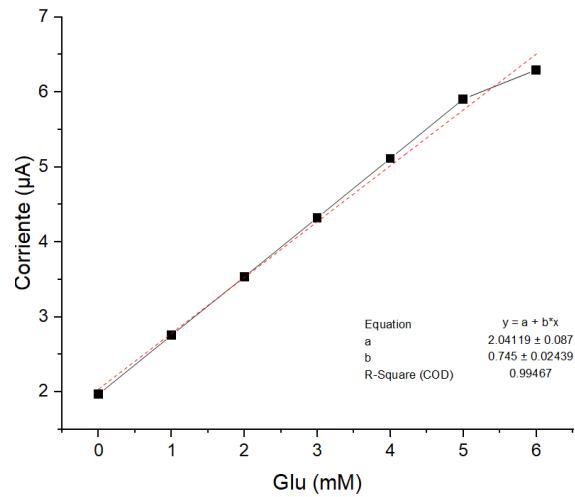


Figura 11 Gráfica de concentración vs promedio de corriente, tomada de (Resendiz, 2021)

6.3 Pruebas en parche

Se coloco sobre un parche médico el sistema de tres electrodos utilizando como electrodo de trabajo el método MWCNT/Gox/Ga/FcMeOH, como contraelectrodo y electrodo de referencia los electrodos que fueron fabricados tal como se describe en la sección de metodología (Figura 12) . El parche se conectó al potenciómetro con el objetivo de realizar las pruebas de caracterización electroquímica.



Figura 12 Parche de glucosa

Se realizaron cronoamperometrías en BPS con pH de 5.6 y adiciones de .5 en .5 mM de glucosa en un rango de 0 a 4.5 mM, tal como se muestra en la Figura 13, también se realizó la curva de calibración con los valores de corriente obtenidos donde se puede observar una ecuación $y=2.9679x + 8.63535$ y una $r^2=0.93$.

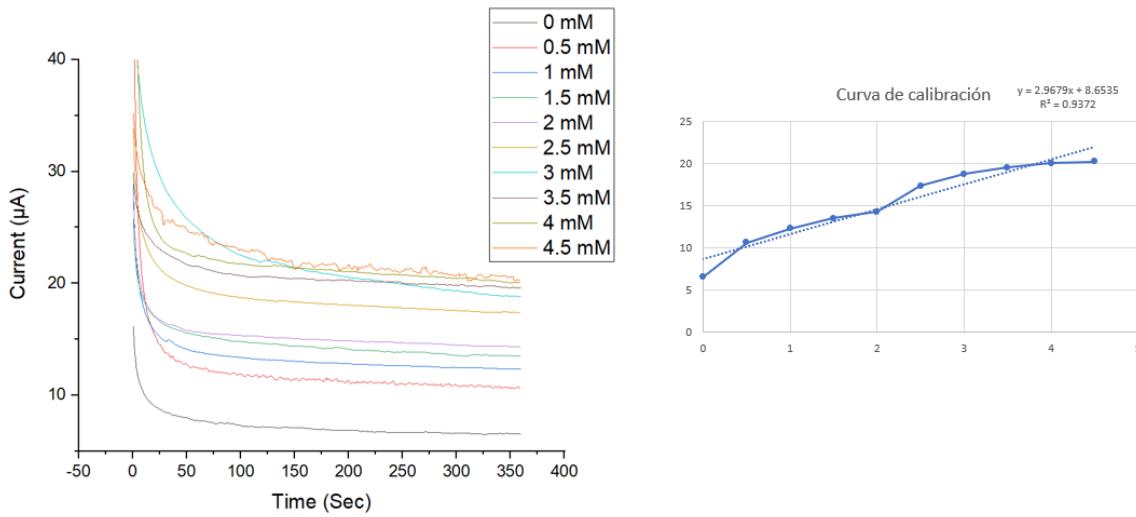
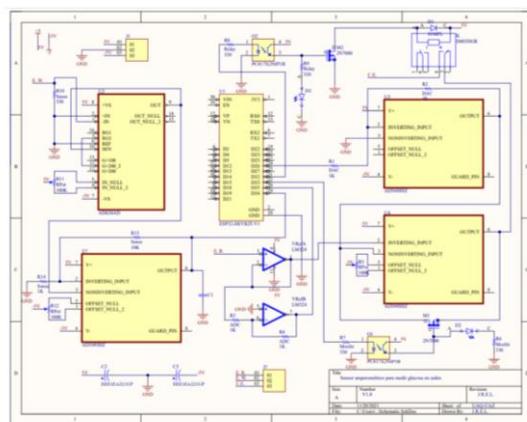


Figura 13 A) Chronoamperometría a electrodo de MWCNT-GOx-Ga-FcMeOH vs Ag/AgCl en PBS pH 5.6 a 360 mV/s con adiciones de 0.5 mM de glucosa en parche. B) Concentración de glucosa vs corriente obtenida por chronoamperometría

6.4 Diseño del dispositivo electrónico

En la Figura 14 se muestra el diseño electrónico diseñado para este biosensor de glucosa, dicho sistema es controlado por un módulo ESP32 el cual ejecuta las pruebas electroquímicas de voltaje a circuito abierto, voltamperometría cíclica y chronoamperometría, para ello utiliza amplificadores operacionales colocados en diferentes configuraciones tales como seguidores de voltaje, inversores, convertidores de corriente a voltaje.



Para su funcionamiento se conecta el parche en la entrada correspondiente y se manda la orden desde la aplicación para que la celda se encienda y comience con el proceso cronológico de las 3 pruebas electroquímicas que debe ejecutar, una vez que obtiene valor de corriente de la medición interpola este valor con la curva de calibración previamente cargada y obtiene el valor en mM de glucosa, de ahí realiza dos conversiones para obtener el valor de glucosa en sangre en unidades de Mg/dl y este valor es que envía por BT a la aplicación.

6.5 Diseño de la aplicación

Para el procesador se diseñó una aplicación la cual tiene como objetivo que el usuario pueda conocer el valor de glucosa que hay en su sangre en unidades de miligramos sobre decilitros pues son las unidades manejadas por los glucómetros convencionales. Para ello se desarrolló una aplicación para teléfono inteligente llamada “GLUAQ” dicha aplicación deberá ser instalada en el teléfono del paciente tal como se muestra en la Figura 15.



Figura 15 Aplicación GLUAQ

En la parte superior de la primera interfaz se encuentra un botón en el cual al presionarlo el paciente podrá acceder a las licencias de la aplicación tal como se muestra en la figura 16.

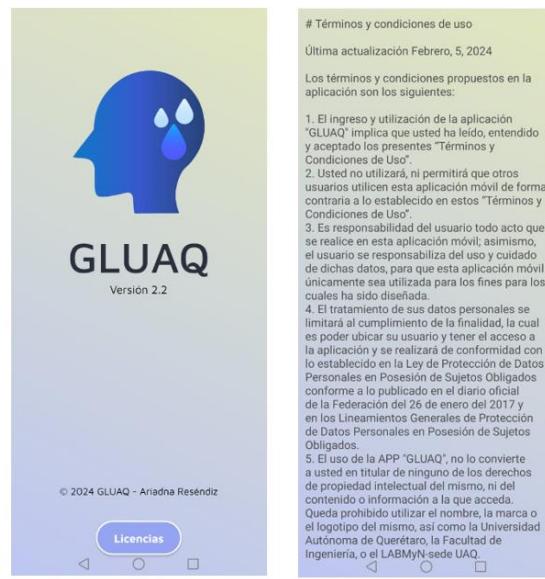


Figura 16 Licencias GLUAQ

Para poder realizar la medición el usuario deberá presionar el botón engrane encontrado en la parte inferior izquierda para acceder en la pantalla que se muestra en la Figura 17, en ella podrá vincular su teléfono al dispositivo electrónico presionando el botón BT, una vez que se haya establecido la conexión en la pantalla cambiará el estado a “conectado”.



Figura 17 Interfaz para conexión BT

Una vez conectada la aplicación al dispositivo electrónico el paciente puede presionar el botón medir, segundos después obtendrá el valor de glucosa que tiene en sangre, además de que la aplicación guarda los datos medidos y en pantalla puede observar cual ha sido su medición máxima y mínima del día, además de que puede ver también una gráfica donde se irán registrando sus datos (Figura 18).



Figura 18 Interfaz de la aplicación desarrollada

Conclusiones

En este proyecto se probaron 4 diferentes métodos de atrapamiento de la enzima glucosa oxidasa, comparando los resultados y resaltando la importancia de grandes incrementos de corriente por cada adición necesarios para la implementación electrónica se optó por utilizar el método GOx/MWCNT/GA/FcMeOH que es el que mejor cumple con las características ideales cumpliendo el primer objetivo de evaluar los métodos de atrapamiento de la enzima glucosa oxidasa

Cumpliendo otro de los objetivos, se diseñó un parche con los tres electrodos característicos de una celda electroquímica y se desarrolló un circuito electrónico el cual se programó para que realizara las pruebas electroquímicas de circuito abierto, voltamperometría cíclica y cronoamperometría. Además de comunicarse con BT a la aplicación desarrollada.

La parte innovadora del proyecto es el diseño y desarrollo de su aplicación pues es robusta al contar con la capacidad de almacenar datos y generar gráficas las cuales facilitan el monitoreo de los niveles de glucosa en los pacientes diabéticos.

Perspectivas del proyecto

Como perspectivas de este proyecto queda las pruebas físicas del dispositivo electrónico, construir en protoboard el diseño generado y realizar las pruebas necesarias para comprobar su funcionalidad para después pasar a la miniaturización del circuito con componentes análogos, pero más pequeños y de montaje superficial.

Una vez teniendo el dispositivo electrónico vincularlo con la aplicación desarrollada y el parche para realizar mediciones, primero con concentraciones de glucosa conocidas y posteriormente con muestras de sudor.

Bibliografía

- A. Julio Reviejo, & José M. Pingarrón. (2000). Biosensores electroquímicos. Una herramienta útil para el análisis medioambiental, alimentario y clínico. In *Anales de la Real Sociedad Española de Química* (Vol. 2, pp. 5–15).
- Abellán-Llobregat, A., Jeerapan, I., Bandodkar, A., Vidal, L., Canals, A., Wang, J., & Morallón, E. (2017). A stretchable and screen-printed electrochemical sensor for glucose determination in human perspiration. *Biosensors and Bioelectronics*, 91(November 2016), 885–891. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.01.058>
- Andrés Díaz Lantada. (2009). *Metodología para el desarrollo de dispositivos médicos basados en el empleo de polímeros activos como sensores y actuadores*. 1–421. https://oa.upm.es/1730/1/ANDRES_DIAZ_LANTADA.pdf
- Arroyo, M. (n.d.). *Inmovilización de enzimas. Fundamentos, métodos y aplicaciones*.
- Artigues Cladera, M. E. (2021). Estudio de biosensores electroquímicos basados en inmovilización enzimática. *TDX (Tesis Doctorals En Xarxa)*, 1–3.
- Bermeo, V. (2021). *Adaptación de las Normas ISO 27001 E HIPPA para la reducción en la seguridad en redes corporativas de salud*. <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/14932/1/20T01461.pdf>
- Brooks, S. M., & Alper, H. S. (2021). Applications, challenges, and needs for employing synthetic biology beyond the lab. *Nature Communications*, 12(1), 1–16. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21740-0>
- Díaz González, J. M. (2019). *Desarrollo Y Fabricación De Un Biosensor Electroquímico Para Mediciones De Glucosa En Plataformas Microfluídicas*. 1–163.
- Espejo Fernández, D. M. (2022). *Microbial Electrochemical Sensors for Benzene Detection in Groundwater*. 1–48.

- Farrarons, J. C. (n.d.). *Biosensor Amperométrico Potenciómetro*.
- Fernández Espinosa, A. J. (2001). Capítulo II. Métodos experimentales. In *Especiación Química y Física de Metales En La Materia Particulada Atmosférica: Aplicación Al Estudio de La Contaminación Ambiental de La Ciudad de Sevilla*, 137–143.
- González-Vidal, J. L., Galán-Vidal, C. A., Morales-Jiménez, F., García-Dávila, M., & Reyes-Ángeles, M. (2018). Desarrollo y Evaluación de un Potenciómetro Electrónico Digital de Bajo Costo para la Cuantificación de Sustancias Químicas Mediante Biosensores Amperométricos. *PADI Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías Del ICBI*, 5(10), 14–20. <https://doi.org/10.29057/icbi.v5i10.2925>
- Hernández, M., Galán, C. A., Álvarez, G. A., & Páez, M. E. (2011). Desarrollo de un biosensor amperométrico en configuración plana para la cuantificación de colesterol. *Información Tecnológica*, 22(6), 25–32. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642011000600004>
- Kulkarni, T., & Slaughter, G. (2016). Application of semipermeable membranes in glucose biosensing. *Membranes*, 6(4). <https://doi.org/10.3390/membranes6040055>
- Lechuga, L., & Calle, A. (1995). Biosensores: los dispositivos analíticos del futuro. In *Plásticos Modernos* (Vol. 471, pp. 232–242). http://digital.csic.es/bitstream/10261/43114/1/Publicaciones_no_13_Biosensores.pdf
- Marta, A., Cayuela, B., Dra, T., & López, M. S. (n.d.). *TRABAJO FIN DE GRADO TÍTULO : Biosensores enzimáticos electroquímicos en la industria alimentaria Convocatoria : Febrero.*
- Medina, A. C. (2018). *Desarrollo de aplicación Android : E-Health*.
- Moncada-Sánchez, L. F., Espinoza-Valdez, A., & Salido-Ruiz, R. A. (2017). Aplicación móvil basada en Internet de las Cosas para el acceso a datos provenientes de la planta del pie en pacientes con diabetes: Pruebas Iniciales. In *Universidad de Guadalajara* (Vol. 4, Issue 1, pp. 389–392).
- Montañez, J. L., Ramos, E. G., Alegret, S., & Delgado, R. J. (2011). Biosensor de Glucosa basado en un Biocompósito disperso de Grafito-Epoxi-Platino-Glucosa Oxidasa. *Información Tecnológica*, 22(1), 29–40. <https://doi.org/10.4067/s0718-07642011000100005>
- Navarro, C. P. (2010). *Recubrimientos comestibles a base de hidroxipropil metilcelulosa: caracterización y aplicación*. 219. <http://dspace.cc.upv.es/handle/10251/8534>
- Ramadan, Q., & Zourob, M. (2020). Organ-on-a-chip engineering: Toward bridging the gap between lab and industry. *Biomicrofluidics*, 14(4). <https://doi.org/10.1063/5.0011583>
- Resendiz, J. (2021). *Desarrollo de un sensor inalámbrico flexible para la cuantificación de glucosa en sudor*.
- Sánchez-Ramírez, J., Martínez-Hernández, J. L., Segura-Ceniceros, E. P., Contreras-Esquivel, J. C., Medina-Morales, M. A., Aguilar, C. N., & Iliná, A. (2014). Inmovilización de enzimas lignocelulolíticas en nanopartículas magnéticas. *Química Nova*, 37(3), 504–512. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20140085>
- Sánchez Muñoz, C., Enríquez Rosado, R., López Arjona, H., & Velázquez Manzanares, M. (2018). Estudio cronoamperométrico de la transferencia de triazinas a través de la interfase de dos soluciones electrolíticas inmiscibles. *Ingeniare. Revista Chilena de Ingeniería*, 26(4), 585–592. <https://doi.org/10.4067/s0718-33052018000400585>
- Sung, J. H., Wang, Y. I., Narasimhan Sriram, N., Jackson, M., Long, C., Hickman, J. J., & Shuler, M. L. (2019). Recent Advances in Body-on-a-Chip Systems [Review-article].

Analytical Chemistry, 91(1), 330–351. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b05293>
Universidad Autónoma de Querétaro Facultad de Ingeniería “Obtención de la enzima lactato oxidasa y su aplicación en un biosensor nanofluídico autoalimentado” Tesis Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de Maestro en Ciencias línea terminal Nanotecnología Presenta : Jassihel Ordaz Núñez Dirigido por : Janet Ledesma García Lenin Sánchez Calderón. (2023).