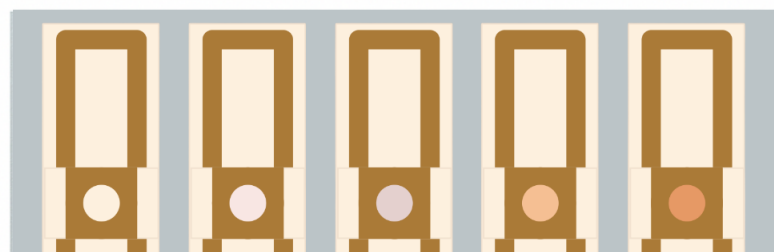
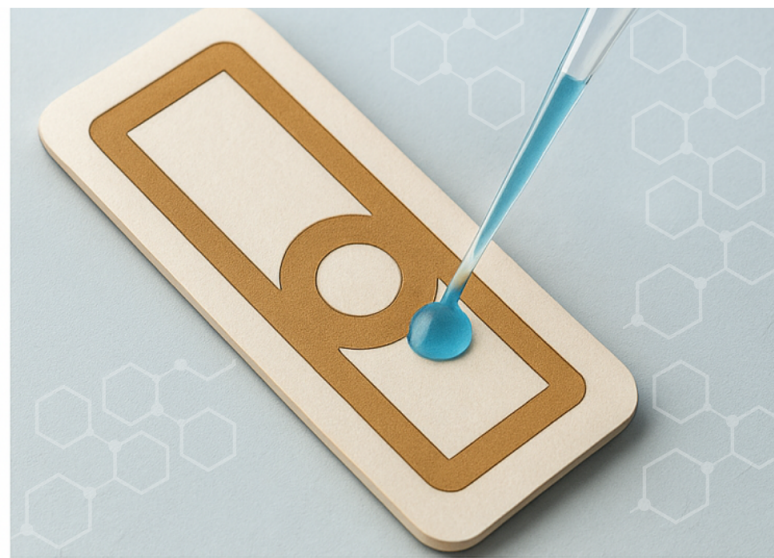

Desarrollo de un dispositivo de bajo costo que logre cuantificar glucosa en una muestra líquida

María Daniela Cabrera Porras



UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ingeniería




**Desarrollo de un dispositivo de bajo costo que logre
cuantificar glucosa en una muestra líquida**


Trabajo de graduación presentado por María Daniela Cabrera Porras
para optar al grado académico de Licenciada en Ingeniería Biomédica

Guatemala,

2025

Vo.Bo.:

(f) 
Ph.D. Vanessa Jungbluth

(f) 
M.Sc. Carlos Esquit Hernández

Fecha de aprobación: Guatemala, 20 de noviembre de 2025

Desde que inicié mi carrera en ingeniería biomédica, he sentido un profundo deseo de ayudar a los demás. Siempre he creído que la ciencia y la tecnología deben estar al servicio del prójimo. Que a través de ellas es posible mejorar la calidad de vida de las personas. Este proyecto de graduación, nació de esa convicción y una motivación muy personal. He visto de cerca cómo la diabetes afecta a tantas personas, especialmente a mis abuelitos, quienes con esfuerzo y disciplina han aprendido a cuidar su salud. Ellos son mi mayor inspiración. Su ejemplo me impulsó a desarrollar una herramienta accesible que le permita a cualquier persona medir sus niveles de glucosa sin importar su situación económica. Creo firmemente que la salud debe ser un derecho para todos.

Agradezco primero a Dios y a la Virgencita, por guiarme siempre en cada paso y recordarme que todo lo que hago tiene un propósito. Gracias por darme la fuerza, la sabiduría y la oportunidad de servir a los demás a través de esta profesión.

A mis papás, gracias por su amor incondicional y ser mi mayor apoyo. Gracias por creer en mí, por escucharme en los días difíciles y recordarme siempre que los sueños se alcanzan con esfuerzo y perseverancia. Sin ustedes no sería quien soy hoy.

A mis hermanos, gracias por su compañía, por compartir risas, consejos y estar ahí en cada paso de este proceso. Los momentos cotidianos, incluso los viajes diarios en carro, se convirtieron en recuerdos que guardaré siempre con cariño.

A mis abuelitos, gracias por enseñarme a soñar y no rendirme nunca. Ustedes me dieron la base de todo lo que soy y este logro también les pertenece. Hoy me toca a mí cuidarlos y retribuirles con amor todo lo que han hecho por mí.

Manu, gracias por ser mi compañero y mejor amigo, por ser un apoyo constante en los momentos en los que pensé en rendirme. Tus palabras y compañía me motivaron a seguir adelante. Gracias por siempre regresarme mi paz y tranquilizarme en los momentos que más los necesitaba.

Gracias al resto de mi familia y amigos por siempre saber cómo hacerme reír y por su apoyo constante. Gracias por todas las comidas compartidas y los momentos que nunca olvidaré.

A mi asesora de tesis, Vanessa, gracias por su paciencia, su dedicación y la manera tan dulce en que siempre me guió. Aunque los cambios eran exigentes siempre supo decírmelos con una sonrisa que me recordaba que yo podía hacerlo.

A mis profesores y a mi director de carrera, gracias por su guía, paciencia y ejemplo profesional. Gracias a todos los departamentos, trabajadores y colaboradores que contribuyeron al desarrollo de este proyecto, les agradezco sinceramente su apoyo y disposición.

Este trabajo representa el cierre de una etapa y el inicio de una nueva, llena de sueños, aprendizajes y compromisos con la sociedad. Deseo que este proyecto sirva como un aporte real a la salud y al bienestar de las personas. Que sea el reflejo de que la ciencia, cuando se hace con amor, puede transformar vidas.

Prefacio	II
Índice de figuras	V
Índice de cuadros	VI
Resumen	VII
Abstract	VIII
1. Introducción	1
2. Antecedentes	2
3. Justificación	4
4. Objetivos	6
4.1. Objetivo general	6
4.2. Objetivos específicos	6
5. Alcance	7
6. Marco teórico	8
6.1. Diabetes y su monitoreo	8
6.2. Biosensores	10
6.3. Microdispositivos analíticos basados en papel (μ PAD)	13
6.4. Pruebas de punto de atención (PoCT)	15
6.5. Pruebas de flujo lateral (LFT)	16
7. Metodología	19
7.1. Diseño del canal	19
7.2. Fabricación del canal	21
7.3. Creación y ensamblaje de la zona de reacción	21
7.4. Pruebas de funcionamiento	22

7.5. Evaluación colorimétrica	23
8. Resultados	25
8.1. Creación y caracterización de la barrera hidrofóbica	25
8.2. Efecto del volumen aplicado en la intensidad de la coloración	27
8.3. Relación entre concentración de glucosa e intensidad de color	28
8.4. Creación y funcionamiento del canal	30
9. Discusión	35
10. Conclusiones	39
11. Recomendaciones	41
12. Referencias	42

Índice de figuras

1.	Mecanismo de los principales tipos de diabetes mellitus	9
2.	Esquema general del funcionamiento de un biosensor enzimático de glucosa .	11
3.	Relación entre los elementos fundamentales de un dispositivo μ PAD	14
4.	Principio de funcionamiento de una prueba de flujo lateral	17
5.	Dimensiones del canal y la tira reactiva diseñados para el dispositivo	19
6.	Diseños del canal dentro de la plantilla circular elaborada en Inkscape	20
7.	Vista final del canal microfluídico ensamblado	22
8.	Procedimiento de medición del área de interés para la obtención de resultados	23
9.	Diagrama general del proceso de diseño, fabricación y obtención de resultados con el dispositivo	24
10.	Demostración de la coloración obtenida en zonas hidrofílicas e hidrofóbicas tras el tratamiento con parafilm	25
11.	Comportamiento del agua sobre las superficies hidrofóbicas e hidrofílicas del papel tratado	26
12.	Determinación del volumen óptimo de mezcla de reactivos aplicado en la zona de reacción	27
13.	Relación entre la concentración de glucosa y el valor medio de gris MGV en la zona de reacción con ROI central de 2 mm de diámetro	29
14.	Relación entre la concentración de glucosa y el valor medio de gris MGV en la zona de reacción con ROI de 4 mm de diámetro	29
15.	Flujo de la muestra de glucosa a través del canal hasta la zona de reacción y descarga	30
16.	Pruebas con canales ensamblados que muestran coloración anómala debido al contacto con goma líquida	31
17.	Comparación de los valores promedio del valor medio de gris MGV obtenidos en tiras reactivas sin ensamblar y con canales ensamblados	32
18.	Líneas de tendencia generadas a partir de los valores promedio del valor medio de gris MGV bajo distintas condiciones	33
19.	Promedio de valores de MGV obtenidos en todas las pruebas realizadas	34

Índice de cuadros

1.	Precios de glucómetros y tiras reactivas	4
2.	Parámetros de grabado con láser	21
3.	Intensidad de grises en zonas A y B	26
4.	Intensidad de gris MGV en la ROI central	28
5.	Intensidad de gris MGV en la ROI total	28
6.	Prueba t de Student entre métodos	32

La diabetes mellitus es una enfermedad crónica con gran presencia a nivel mundial. Según la Federación Internacional de Diabetes, en 2021, se documentó que más de 537 millones de personas padecían esta condición y, en Guatemala, el 13.2% de la población adulta. Para prevenir complicaciones serias, es importante el seguimiento continuo de glucosa. Sin embargo, los glucómetros tradicionales, debido a su elevado costo, pueden ser poco accesibles para muchos pacientes. Por tal razón, este trabajo buscó el desarrollo de un biosensor económico, de flujo lateral, capaz de medir glucosa como una alternativa asequible para aplicaciones *point-of-care*.

Se diseñó y desarrolló un dispositivo microfluídico basado en papel, dividido en tres zonas delimitadas por barreras hidrofóbicas: aplicación, reacción y descarte. Las barreras hidrofóbicas fueron elaboradas con parafilm por medio de corte láser. Glucosa oxidasa (GOx), peroxidasa de rábano (HRP) y yoduro de potasio (KI) fueron inmovilizados en la zona de reacción para generar una respuesta colorimétrica según la concentración de glucosa de la muestra aplicada. Para optimizar el flujo controlado y una coloración uniforme en el dispositivo, se evaluaron diferentes métodos de ensamblaje, regiones de interés y volúmenes de aplicación. El dispositivo mostró una relación inversa entre la concentración de glucosa y la intensidad de color ($R^2 = 0.944$), lo que confirma su capacidad de cuantificarse. Estos resultados demuestran la viabilidad de emplear materiales simples para la fabricación de biosensores colorimétricos reproducibles de bajo costo.

Palabras clave: biosensor, glucosa, papel filtro, parafilm, cortadora láser, *point-of-care*.

Diabetes mellitus is a chronic disease with a large global presence. According to the International Diabetes Federation, in 2021, it was documented that more than 537 million people suffered from this condition, and in Guatemala, 13.2% of the adult population was affected. To prevent serious complications, continuous glucose monitoring is important. However, traditional glucometers, due to their high cost, can be inaccessible for many patients. For this reason, this work sought the development of an economic, lateral flow biosensor capable of measuring glucose as an affordable alternative for *Point-of-Care applications*.

A paper-based microfluidic device was designed and developed, divided into three zones delimited by hydrophobic barriers: the application zone, the reaction zone, and the waste zone. The hydrophobic barriers were made using Parafilm and laser cutting. Glucose oxidase (GOx), horseradish peroxidase (HRP), and potassium iodide (KI) were immobilized in the reaction zone to generate a colorimetric response based on the glucose concentration of the applied sample. To optimize controlled flow and uniform coloration in the device, different assembly methods, regions of interest, and application volumes were evaluated. The device showed an inverse relationship between glucose concentration and color intensity ($R^2 = 0.944$), which confirms its quantification capacity. These results demonstrate the viability of using simple materials for the fabrication of reproducible and low-cost colorimetric biosensors.

Keywords: biosensor, glucose, filter paper, parafilm, laser cutter, *point-of-care*.

Diabetes mellitus es una afección metabólica que confronta los sistemas de salud en varios países, en especial en aquellos con recursos limitados. El monitoreo constante de los niveles de glucosa disminuye la probabilidad de complicaciones severas como la pérdida de visión, enfermedades cardiovasculares o amputaciones. No obstante, los glucómetros convencionales y los sistemas de monitoreo continuo, por sus elevados costos y su dependencia a insumos desechables, siguen siendo poco accesibles para numerosos pacientes. Esto resalta la urgencia del desarrollo de alternativas de diagnóstico que sean portátiles, accesibles y reproducibles, y que faciliten una medición inmediata en el punto de atención (*point-of-care*).

Este trabajo sugiere el desarrollo de un biosensor colorimétrico hecho de papel para detectar glucosa como un método de diagnóstico de bajo costo, fácil de fabricar y de rápida interpretación. Se elaboró utilizando papel filtro Whatman 4 y parafilm para generar barreras hidrofóbicas a través de corte láser, lo que delimitó así la forma de los canales microfluídicos. Los canales comprenden una zona de aplicación, de reacción y de descarte. En la zona de reacción, se inmovilizaron las enzimas glucosa oxidasa (GOx), peroxidasa de rábano (HRP) y yoduro de potasio (KI), que generan una respuesta colorimétrica visible en proporción a la concentración de glucosa de la muestra aplicada. Se evaluaron los resultados mediante el procesamiento de imágenes que permitían cuantificar la intensidad del color. Esto evidencia su viabilidad como una alternativa funcional, reproducible y económica en comparación con los métodos convencionales de medición.

En los capítulos 2 a 5 se presenta la situación actual de estos dispositivos en Guatemala junto con lo que se buscaba obtener en este trabajo y las razones que motivaron el desarrollo del biosensor. En el capítulo 6, se abordan los fundamentos sobre diabetes, glucosa, biosensores, colorimetría y dispositivos microfluídicos en papel. El capítulo 7 detalla la metodología y el proceso del diseño, fabricación y validación experimental del dispositivo. Mientras que el capítulo 8 demuestra los resultados y se discute su interpretación y relevancia en el capítulo 9. Finalmente, en los capítulos 10 y 11 se concluyen los resultados obtenidos en este trabajo y se brindan algunas recomendaciones y proyecciones futuras para el desarrollo de este dispositivo.

En el año 2021, la Federación Internacional de Diabetes reportó que a nivel mundial 537 millones de personas padecían diabetes. La prevalencia de esta enfermedad aumenta más rápidamente en países de ingresos mediano-bajo. Se estima que aproximadamente el 13.2% de la población adulta guatemalteca sufre de diabetes, siendo estos 1,149,500 casos de diabetes en adultos [1].

La creciente población de pacientes con diabetes, la confiabilidad y precisión de los dispositivos de monitoreo de glucosa en la sangre, ayudan a impulsar el mercado de los medidores de glucosa en la sangre. El tamaño del mercado mundial de medidores de glucosa en sangre se ha valorado en 7.42 millones de dólares en el 2018 y se cree que alcanzará los 15.42 millones de dólares para el 2026. Se espera un aumento en la demanda de medidores de glucosa en sangre no invasivos en el mercado [2].

El método más utilizado para medir los niveles de glucosa en la sangre son los glucómetros. A estos dispositivos se le aplica una gota de sangre la cual reacciona en una tira reactiva químicamente y se lee los resultados utilizando sensores electroquímicos [3]. Los glucómetros son un ejemplo de las tecnologías PoCT (point-of-care testing), gracias a que permiten realizar pruebas inmediatas sin la necesidad de acudir a un laboratorio [4]. Sin embargo, para realizar dichas pruebas en el glucómetro se requiere de continuas punciones para obtener la muestra de sangre, y esto puede resultar doloroso, lo que puede desincentivar su uso frecuente. Debido a estas limitaciones, se han desarrollado nuevas tecnologías que buscan minimizar la necesidad de equipo especializado, dolor y costos para el uso de glucómetros.

En búsqueda de alternativas más accesibles, fáciles de utilizar y de portar, los biosensores en papel (PADs) han ganado relevancia como tecnologías de diagnóstico. Estos biosensores pueden ser fabricados en diversos formatos miniaturizados, lo que ayuda con su facilidad de portabilidad y uso en el campo. También permiten la detección con instrumentos simples, como la colorimetría. Gracias a estas características son capaces de tener un menor costo, una mayor facilidad de uso y portabilidad [5].

En el año 2024 un estudiante de la Universidad del Valle de Guatemala desarrolló un prototipo funcional de biosensor de glucosa en papel. En este trabajo se logró demostrar la viabilidad de utilizar papel filtro Whatman grado 4 y cera de parafina para delimitar zonas de detección de glucosa. Se validó el sistema utilizando una curva de calibración con concentraciones estándares de glucosa entre 0 y 10 mM, con lo que se obtuvieron resultados visibles [6]. Sin embargo, el método de inmersión en cera puede presentar problemas para generar barreras hidrofóbicas uniformes y reproducibles, en especial en diseños complejos. Esto puede ser mejorado utilizando un método novedoso para la fabricación de dispositivos analíticos microfluídicos basados en papel (μ PAD) mediante la fusión láser de cera Parafilm para formar barreras hidrofóbicas [7].

El monitoreo de glucosa es crucial para evitar complicaciones de la diabetes como enfermedades cardiovasculares, amputación de extremidades o ceguera. Sin embargo, estos métodos de monitoreo siguen siendo inaccesibles para muchas personas gracias a su costo y falta de familiaridad con su uso. Los glucómetros son los dispositivos de mayor popularidad y facilidad de uso para el monitoreo de la sangre. Éstos requieren de tiras reactivas y lancetas que se utilizan una sola vez, lo que aumenta el gasto mensual de los pacientes [8].

En Guatemala, el costo promedio de un glucómetro es de Q495.56 y cada tira reactiva tiene un valor aproximado de Q3.78. El precio de las lancetas varía desde Q0.60 y Q2.19 por unidad. En el Cuadro No. 1 se pueden observar los diferentes precios de estos insumos en el mercado guatemalteco. Estos precios fueron obtenidos de farmacias y distribuidoras en línea, incluyendo Farmacias Batres, Cruz Verde y PriceSmart, [9] [10] [11].

Cuadro 1. Precio de dispositivos e insumos para el monitoreo de glucosa en la sangre disponibles en el mercado guatemalteco.

Producto	Precio glucómetro (Q)	Precio tiras (unidad, Q)
Accu-Chek Active Set	578.10	3.81
Accu-Chek Guide	671.80	5.10
Accu-Chek Instant	610.50	4.20
On Call Extra – DASA	264.95	2.40
Smart Check Professional	499.00	3.60
Smart Check Essential	349.00	3.60
Promedio	495.56	3.78

Nota. El cuadro presenta los precios de dispositivos e insumos para el monitoreo de glucosa en sangre disponibles en el mercado guatemalteco. La información fue recopilada a partir de Farmacias Batres [9], Farmacias Cruz Verde [10] y PriceSmart [11]. Elaboración propia.

Las tecnologías de diagnóstico en el punto de atención (PoCT) se han convertido en soluciones efectivas para realizar pruebas rápidas sin necesidad de un laboratorio o personal de salud. Se ha convertido en una solución vital para comunidades que no cuentan con acceso a servicios médicos ya que se pueden adquirir de manera sencilla, rápida y a bajo costo [4]. Un ejemplo de estos dispositivos son las pruebas de flujo lateral (*lateral flow assays*) que, por medio de capilaridad en papel o membranas, se transporta una muestra a un área de detección y genera una señal visual que es de fácil interpretación sin necesidad de equipos avanzados. Algunos ejemplos de esta tecnología son las pruebas de embarazo o las pruebas de COVID-19. Estos dispositivos además de ser portátiles y de bajo costo, son fáciles de utilizar, se obtiene resultados rápidos y son capaces de producirse en masa [12].

Sin embargo, a pesar de sus ventajas de facilidad de uso, bajo costo y presentan resultados rápidos, muchas pruebas en papel aún presentan problemas de precisión y reproducibilidad [13]. Es por eso que se requiere diseñar un biosensor en papel que utilice canales bien definidos que permita un mejor flujo de las muestras y presente resultados más confiables. De esta manera, se puede crear un dispositivo de monitoreo accesible y económico.

4.1. Objetivo general

Desarrollar un dispositivo de bajo costo que logre cuantificar glucosa en una muestra líquida.

4.2. Objetivos específicos

- Diseñar un canal con una zona de aplicación de la muestra, una zona de reacción y una zona de descarte, asegurando un flujo guiado a través del dispositivo.
- Inmovilizar los reactivos glucosa oxidasa (GOx), peroxidasa de rábano (HRP) y yoduro de potasio (KI) en un área de reacción.
- Utilizar el dispositivo para cuantificar glucosa por medio de pruebas colorimétricas.

El presente proyecto de graduación se orienta en la creación y desarrollo de un biosensor de glucosa funcional con papel que produzca una respuesta colorimétrica. El biosensor se basó en principios de microfluídica y en una reacción enzimática que utiliza las enzimas glucosa oxidasa (GOx) y peroxidasa de rábano (HRP) junto con el yoduro de potasio (KI). El alcance del proyecto se limita al diseño, construcción y confirmación del funcionamiento del dispositivo bajo un entorno controlado, por medio del análisis del cambio de color según diferentes concentraciones de glucosa.

Se diseñó el biosensor utilizando materiales sencillos, como papel filtro Whatman No. 4 y Parafilm, con el propósito de demostrar la posibilidad de crear herramientas *Point-of-Care* accesibles, utilizando técnicas sencillas como el corte láser y la inmovilización de los reactivos directamente en el papel. Las pruebas realizadas se enfocaron en optimizar el flujo dentro del canal microfluídico, la homogeneidad de la reacción, la formación de las barreras hidrofóbicas y la relación entre la intensidad de color y la concentración de glucosa.

Es importante establecer que este proyecto no contempla el uso de pruebas con muestras biológicas ni la comparación directa con métodos de referencia utilizados en el ámbito clínico. Al tratarse de una validación del dispositivo en condiciones experimentales controladas, no se abordó el desarrollo de una interfaz digital, ya que se analizaron las imágenes utilizando herramientas de acceso abierto como ImageJ. Es por eso que los resultados y conclusiones de este trabajo se deben de interpretar como un prototipo funcional. Su finalidad es esencial para establecer una base técnica para futuras investigaciones que busquen ampliar su aplicación a entornos clínicos o educativos. El dispositivo muestra una evaluación objetiva y realista, que destaca su potencial uso para una posible implementación en escenarios de diagnóstico rápido y de bajo costo.

6.1. Diabetes y su monitoreo

El cuerpo humano mantiene numerosos eventos homeostáticos. La glucemia es la concentración de glucosa en la sangre y es un parámetro esencial para la regulación de la homeostasis energética en el organismo. Estos niveles son regulados por una interacción compleja de hormonas, como insulina y glucagón [14]. La glucosa es una fuente de energía esencial que requiere de una cuidadosa regulación dentro del cuerpo. Una elevada cantidad de glucosa o muy poca, pueden causar efectos perjudiciales. Los niveles de glucemia se mantienen según el consumo de carbohidratos y es regulada por la insulina [15].

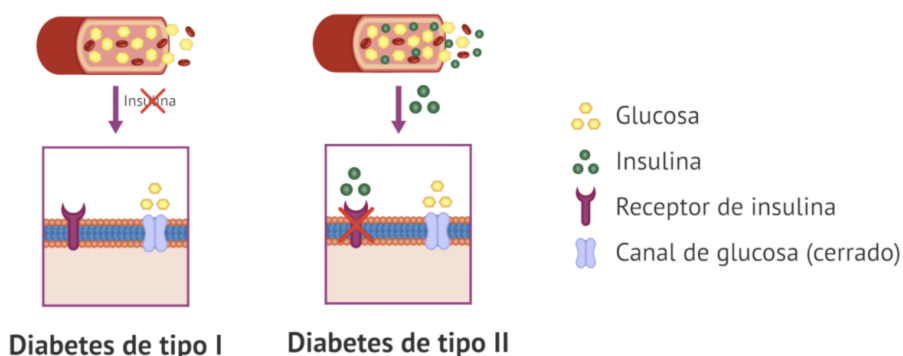
La insulina ayuda a regular la absorción periférica de glucosa en la membrana celular y es generada por las células β del páncreas. Las proteínas transmembranas conocidas como GLUT transportan la glucosa a través de difusión facilitada a través de la membrana plasmática celular. De este conjunto, GLUT4 es un componente importante en la homeostasis de la glucosa y su eliminación de la circulación [15]. La insulina promueve la absorción de glucosa en tejidos adiposos y musculares, activando así una cascada de señalización de fosforilación de proteínas. Esta señalización converge en múltiples procesos de tráfico que permiten entregar el transportador de glucosa, GLUT4, a la superficie celular [15], [16].

Los niveles de glucosa tienden a elevarse cuando existen alteraciones en su traslado hacia los músculos o el tejido adiposo, provocadas por diversos factores de la insulina [16]. La *diabetes mellitus* es una patología que se caracteriza por la falta o la resistencia a la insulina. Esto significa que la insulina en el organismo no logra satisfacer las demandas y necesidades de glucosa, lo que resulta en un incremento de glucosa en la sangre [15].

Hay tres tipos principales de diabetes mellitus (Figura 1) que son producto de factores ambientales o genéticos [15], [17], [18], [19]:

- **Diabetes tipo I:** se presenta cuando el sistema inmunológico destruye las células β del páncreas, lo que provoca que el organismo produzca muy poca o ninguna insulina. Sin insulina, GLUT4 no puede transportar la glucosa hacia el interior celular.
- **Diabetes tipo II:** el organismo puede generar insulina, sin embargo, las células muestran resistencia a esta y ya no reaccionan de manera correcta, lo que impide la señalización de translocación de GLUT4 y disminuye la captación de glucosa en las células.
- **Diabetes gestacional:** tipo de diabetes ligera que se presenta en ciertas mujeres en el final del embarazo. En esta clase de diabetes, se inhibe la acción de la insulina como resultado de ciertas hormonas que se producen durante el embarazo.

Figura 1. Mecanismo de los principales tipos de diabetes mellitus



Nota. Mecanismo de los principales tipos de diabetes mellitus. En la diabetes mellitus tipo I, la ausencia de insulina impide la activación del receptor y la movilización del transportador de glucosa GLUT4, lo que evita la entrada de glucosa a la célula. En la diabetes mellitus tipo II, aunque hay insulina presente, existe resistencia a su acción y el GLUT4 no se moviliza correctamente, lo que reduce la captación de glucosa. En ambos casos, se produce acumulación de glucosa en la sangre. Adaptado de [18].

Estos efectos en el mecanismo de control tienden al desarrollo de hiperglucemia y de sus síntomas característicos en los pacientes. El exceso de glucosa en la sangre puede perjudicar la salud y ocasionar diferentes complicaciones serias, como visión borrosa, fatiga, entumecimiento u hormigueo en pies y manos, heridas que no sanan, pérdida de peso u otras muchas afecciones. Distintos factores como la alimentación, el uso de medicamentos y actividad física puede variar los niveles de azúcar en la sangre durante el día [17]. Leves cambios en los niveles de azúcar es normal, pero cuando los niveles son muy altos o bajos, pueden causar problemas [17].

Los niveles normales de glucosa en la sangre pueden variar levemente según el método de medición o el manejo de la diabetes, la edad y el estado del paciente. En ayunas, se puede considerar normal niveles entre 70 y 100 mg/dL. Luego de comer los niveles de glucosa suelen estar debajo de 140 mg/dL [14], [17]. Para mantener los niveles de glucemia dentro de los rangos necesarios es importante revisarlos de manera regular y así prevenir sus complicaciones asociadas. Instrumentos de medición como glucómetros o monitores continuos de glucosa (*Continuous Glucose Monitoring - CGM*) permiten evaluar de manera continua los niveles actuales de glucosa en tiempo real. Con estos resultados, se puede tomar una decisión inmediata respecto al tratamiento [8].

6.2. Biosensores

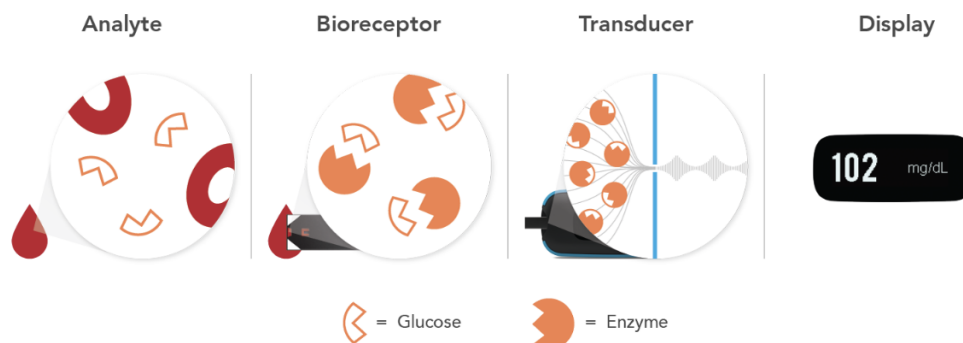
Según la IUPAC, un biosensor es un dispositivo que utiliza reacciones bioquímicas específicas y mediadas por enzimas aisladas, sistemas inmunitarios, tejidos, orgánulos o células enteras para detectar compuestos químicos, generalmente mediante señales eléctricas, térmicas u ópticas [20]. Cuando se integran elementos de reconocimiento biológico (enzimas, anticuerpos o ácidos nucleicos) con un transductor fisicoquímico se logra detectar analitos específicos con una sensibilidad, especificidad y velocidad excepcional [21].

Los biosensores suelen estar compuestos por tres elementos principales: un biorreceptor o elemento de reconocimiento biológico, un transductor y el sistema de procesamiento y visualización de la señal. El biorreceptor consiste en biomoléculas específicas para el analito que es la sustancia de interés cuyos componentes se quieren identificar o detectar [21], [22]. El transductor cambia las interacciones biológicas en señales fisicoquímicas medibles. Estas señales pueden ser ópticas, electroquímicas, piezoeléctricas, térmicas o magnéticas. El tipo de transductor suele depender de las propiedades del analito que se quiere detectar [21]. Finalmente, el procesador obtiene la señal cruda y la filtra, amplifica y convierte en una señal legible e interpretable [21].

Los biosensores se han transformado en instrumentos esenciales en múltiples áreas de la investigación y la atención sanitaria, proporcionando una excelente relación calidad-precio. Son dispositivos analíticos avanzados que fueron meticulosamente creados para detectar variaciones simples en complejos procesos biológicos. Estos dispositivos se han aplicado para el monitoreo ambiental, como la identificación de metales pesados, pesticidas o el análisis de la calidad del aire; el control de calidad y la seguridad de los alimentos, abarcando la detección de patógenos, toxinas, alérgenos o elementos funcionales; y el seguimiento de bioprocesos, con la medición de oxígeno disuelto y pH o el control de sustratos y productos. No obstante, poseen una aplicación más amplia en el ámbito de la salud y el diagnóstico médico, como en biosensores de ácidos nucleicos, de antígenos o anticuerpos o de glucosa [21], [23].

Los biosensores se han empleado ampliamente en el monitoreo de glucosa, ya que han sido desarrollados para cuantificar la concentración de glucosa en fluidos biológicos. Lo cual es particularmente beneficioso en la medición y control de la diabetes mellitus. Estos biosensores incluyen un biorreceptor, típicamente la enzima glucosa oxidasa (GOx) o glucosa deshidrogenasa (GDH), que puede identificar y reaccionar de manera específica con la glucosa. El resultado de esta reacción se transforma en una señal eléctrica que puede ser medida por el transductor, la cual es posteriormente procesada y exhibida en la pantalla digital del biosensor (Figura 2) [24].

Figura 2. Esquema general del funcionamiento de un biosensor enzimático de glucosa



Nota. Funcionamiento general de un biosensor de glucosa, en el cual el analito interactúa con el biorreceptor enzimático y genera una señal que el transductor convierte en una respuesta eléctrica, la cual posteriormente es procesada y visualizada. Adaptado de [25].

Los sistemas de monitoreo continuo de glucosa son de los más importantes en la atención actual de la diabetes. Los biosensores de glucosa basados en principios amperométricos, que miden el amperaje producido por una reacción química, se dividen en tres generaciones según el tipo de aceptor de electrones y las características de la reacción oxidativa [26].

Los sensores enzimáticos de primera generación utilizan glucosa oxidasa (GOx), la cual oxida la glucosa a gluconolactona y reduce su cofactor FAD a FADH₂, lo que produce peróxido de hidrógeno H₂O₂. La señal se mide por la caída en la concentración de oxígeno o por el peróxido generado; sin embargo, este tipo de sensor puede verse afectado por variaciones en el oxígeno disuelto en la muestra [26]. Para evitar esto surgieron los biosensores de segunda generación, que utilizan GOx o glucosa deshidrogenasa junto con mediadores artificiales que actúan como aceptores de electrones en lugar del oxígeno. En este caso, el FAD reducido transfiere sus electrones a los mediadores, que luego se oxidan y generan la señal electroquímica. De esta manera, ya no dependen del oxígeno, aunque aún pueden presentar interferencias por los mediadores utilizados [26]. Finalmente, los biosensores de tercera generación buscan simplificar el proceso usando enzimas capaces de transferir electrones directamente al electrodo, sin mediadores ni aceptores externos. Esto elimina las interferencias anteriores, por lo que se proyectan como opciones mucho más precisas y estables [26].

Como se ha mencionado, hay dos sistemas principales para la medición de glucosa en paciente: el monitoreo ocasional con glucómetro y el monitoreo continuo de glucosa (CGM - *continuous glucose monitoring*). Ambos se basan en los principios de biosensores, sin embargo, difieren con el tipo de muestra a analizar, la frecuencia de la medición y el tratamiento de la información [27].

Los glucómetros convencionales son dispositivos portátiles que funcionan analizando una gota de sangre capilar en una tira reactiva. La tira reactiva tiene un enzima inmovilizada (GOx o GDH) que reacciona con la muestra; al ser insertada en el glucómetro muestra la concentración de glucosa en la sangre. Este dispositivo posee un electrodo que detecta la señal eléctrica generada por la reacción enzimática: cuanto mayor es la señal, mayor es la concentración de glucosa [25], [28]. Este método, conocido como *self-monitoring of blood*

glucose (SMBG), ofrece resultados rápidos de bajo costo; sin embargo, requiere múltiples mediciones diarias y depende de la adherencia del paciente [27].

Los dispositivos de Monitoreo Continuo de Glucosa (CGM) utilizan sensores subcutáneos o implantados que detectan los niveles de glucosa del fluido intersticial, que ofrece valores similares a los niveles de la glucosa sanguínea [29]. Los sistemas CGM representan una opción prometedora, que posibilitan el registro de las lecturas de glucosa de forma continua o en breves intervalos, generando información en tiempo real o a través de escaneos intermitentes [29]. Esto facilita un manejo de glucosa más completo y permite una detección temprana de hipoglucemias e hiperglucemias, lo que permite el desarrollo de estrategias personalizadas para el manejo de la diabetes [27]. A pesar de estos beneficios, necesitan ser reemplazados luego de cierto tiempo y requieren de la compra de suministros desechables, lo que puede presentar un mayor gasto [29].

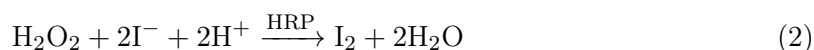
Además de los biosensores electroquímicos, hay biosensores ópticos y colorimétricos que utilizan propiedades de la luz para identificar cambios químicos o biológicos de una muestra. Gracias a la gran sensibilidad de las señales ópticas, su estabilidad y las diferentes propiedades espectrales que pueden exhibir distintos analitos, estos biosensores facilitan la detección inmediata y en tiempo real con alta especificidad [30]. Estos biosensores pueden ser empleados para detectar sudor, de lágrimas, productos de exhalación o de heridas [30].

Los biosensores ópticos se dividen en diferentes categorías: los colorimétricos, fluorescentes, quimioluminiscentes y los que utilizan en dispersión Raman mejorada por superficie (SERS, *surface enhanced raman scattering*), entre otros [30]. En específico, los biosensores colorimétricos se pueden clasificar en tres categorías principales según la estrategia de detección que causa el cambio de color en la respuesta óptica [30]:

1. Cambios en factores físicos o químicos externos. En esta categoría, el color de la lectura visual depende de parámetros ambientales como el pH o la temperatura. Las variaciones en estas condiciones modifican la estructura del indicador colorimétrico o del material sensible, generando un cambio perceptible en el color [30].
2. Nanomateriales metálicos como elementos de detección. Estos biosensores utilizan nanopartículas de plata o de oro, de las cuales sus propiedades ópticas suelen depender de su tamaño, forma y distancia entre sus partículas. Al agregarse o dispersarse en respuesta a un estímulo químico o biológico, las nanopartículas ocasionan un cambio en la absorción óptica que se convierte en una variación visible de color [30].
3. Reacciones cromogénicas catalizadas por enzimas. En este tipo de biosensores, la señal colorimétrica es producida a partir de una reacción enzimática entre una enzima determinada y su sustrato cromogénico, lo que facilita el proceso y disminuye costos de la fabricación del sistema de detección [30]. Sin embargo, la actividad enzimática puede ser influenciada por factores externos como la temperatura, el pH o el estrés oxidativo. Para aumentar la estabilidad, se han creado nanozimas, nanopartículas con propiedades catalíticas similares a las enzimas naturales, capaces de sostener una catálisis efectiva en sistemas colorimétricos [30].

Los resultados obtenidos se pueden evaluar de manera visual o se pueden cuantificar con dispositivos de imágenes sencillos, como un escáner o la cámara de un teléfono inteligente. Además, la detección de colorimetría se puede cuantificar al analizar la intensidad del color obtenido utilizando valores RGB obtenidos en las imágenes escaneadas o fotográficas, lo que la hace especialmente útil en entornos con recursos limitados [31].

Dentro de la tercera categoría de biosensores colorimétricos se encuentra el sistema enzimático GOx–HRP–KI, que es ampliamente utilizado en la detección colorimétrica de glucosa debido a su alta especificidad y bajo costo. En este sistema, la glucosa oxidasa (GOx) cataliza la oxidación de la glucosa, generando peróxido de hidrógeno (H_2O_2) como subproducto (Ecuación 1). El H_2O_2 se utiliza por la peroxidasa de rábano picante (HRP) para oxidar un sustrato cromogénico, como el yoduro de potasio (KI), produciendo yodo molecular (I_2) (Ecuación 2). Con esta reacción se obtiene un cambio de color visible proporcional a la concentración de glucosa, lo que permite su detección visual o mediante análisis instrumental en muestras clínicas o biológicas [32].



6.3. Microdispositivos analíticos basados en papel (μ PAD)

Los dispositivos microfluídicos analíticos basados en papel (*microfluidic paper-based analytical devices* – μ PADs) son una de las tecnologías de más rápido crecimiento en el ámbito de los biosensores, al unir la simplicidad estructural del papel con los fundamentos de la microfluídica contemporánea. Con estos dispositivos se permiten llevar a cabo análisis químicos o bioquímicos empleando volúmenes reducidos de muestra, sin requerir el uso de bombas o fuentes de energía externas, gracias al transporte pasivo de líquidos mediante capilaridad [33].

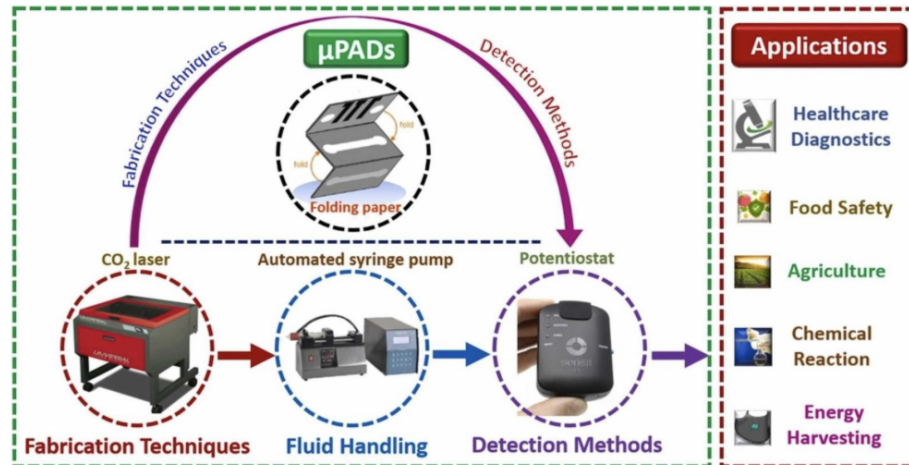
La atención hacia los μ PADs ha aumentado en años recientes gracias a su bajo precio, portabilidad, facilidad de producción y alta biocompatibilidad, así como su adecuación a diversos métodos de detección como los colorimétricos, electroquímicos, fluorescentes o fototérmicos [33]. Estas propiedades aumentan su uso en aplicaciones de diagnóstico clínico, análisis de alimentos, supervisión ambiental y control forense. Es por eso que son una alternativa versátil para la creación de plataformas de detección accesibles y sostenibles.

El papel se reconoce cada vez más como un material de sustrato ideal para aplicaciones microfluídicas gracias a su ligereza, flexibilidad, disponibilidad y bajo costo, además de su capacidad natural de transportar líquidos [33]. El papel se compone de una red aleatoria de fibras de celulosa entrelazadas, lo que le ofrece gran porosidad, permeabilidad al aire y una notable relación superficie-volumen. Debido a su origen natural, el papel brinda una gran biocompatibilidad, biodegradabilidad y características químicamente inertes, lo que lo conviene para la fijación de reactivos biológicos y el desarrollo de biosensores desechables [33].

El papel empleado en los μ PADs se conforma principalmente por fibras de celulosa, un polímero natural con alta porosidad e hidrofiliidad. Los grupos hidroxilo (-OH) presentes en la celulosa tienen la capacidad de establecer enlaces de hidrógeno con las moléculas de agua, lo que facilita la absorción y el transporte natural de líquidos a través de los conductos de papel. Esta característica hidrofílica es la base fundamental del movimiento capilar que impulsa el flujo de la muestra dentro del dispositivo [34].

Para lograr un control preciso sobre el flujo y la distribución de la muestra, se alteran áreas concretas del papel para generar secciones hidrofílicas (que atraen el agua) y secciones hidrofóbicas (que la repelen). Las áreas hidrofóbicas son utilizadas como obstáculos o barreras físicas que delimitan los canales y las zonas de reacción, que facilitan direccionar el flujo hacia áreas específicas del dispositivo. Entre los métodos más comunes para establecer estos patrones se incluyen la impresión con cera, la fotolitografía, la impregnación con polímeros termoplásticos o parafinas, la deposición química de vapor (*Chemical Vapor Deposition*, CVD) y el grabado láser [33], [34], [35]. Estas metodologías permiten la elaboración de μ PADs con geometrías exactas, consistentes y apropiadas para una gran variedad de pruebas bioquímicas (Figura 3).

Figura 3. Relación entre los elementos fundamentales de un dispositivo μ PAD



Nota. Relación entre los elementos principales que componen un dispositivo μ PAD, incluyendo las técnicas de fabricación, los sistemas de manejo de fluidos y los métodos de detección. Entre sus principales áreas de aplicación se encuentran el diagnóstico clínico, la seguridad alimentaria, la agricultura, las reacciones químicas y la recolección de energía. Adaptado de [34].

Entre los ejemplos más característicos de su aplicación se hallan los μ PADs colorimétricos que permiten la detección de compuestos fenólicos y resultan útiles para el control de calidad de alimentos y la detección de contaminantes orgánicos[34]. Asimismo, se han creado plataformas electroquímicas multiplexadas que pueden detectar simultáneamente analitos como el paracetamol, la cafeína y el ácido ascórbico en productos farmacéuticos, lo que demuestra su potencial en el ámbito del análisis químico y biomédico [34]. Es frecuente ver su uso en dispositivos de flujo lateral, los cuales han conseguido identificar simultáneamente biomarcadores infecciosos como el VIH, la hepatitis B y la hepatitis C (Figura 3). Estos dispositivos permiten realizar pruebas rápidas en el punto de atención (*point-of-care testing*, PoCT) [34].

6.4. Pruebas de punto de atención (PoCT)

Las pruebas diagnósticas en el punto de atención o *point-of-care testing* se han establecido como un factor transformador en la atención primaria, ya que posibilita la obtención de resultados de diagnóstico de manera rápida y en el mismo sitio donde se atiende al paciente o cerca de él [36]. Con esta tecnología innovadora se pretende descentralizar los exámenes de laboratorio, acortar los tiempos de espera y aumentar la accesibilidad, en especial en áreas con limitados recursos. Las PoCT permiten decisiones clínicas rápidas, mejorando los resultados para los pacientes y reduciendo la carga sobre los sistemas de salud [36].

La evolución de las pruebas en el punto de atención, PoCT, han sido impulsadas por los avances tecnológicos en los materiales, diseño e inteligencia artificial, también por el desarrollo de tecnologías innovadoras portátiles. Este progreso tecnológico ha incrementado el uso de tecnologías PoCT y posibilita la identificación de enfermedades infecciosas, condiciones crónicas y desórdenes metabólicos de forma rápida y fácil [37]. Estas pruebas, basadas en biosensores, se presentan como alternativas económicas y eficaces en comparación con los métodos tradicionales de laboratorio. Además, ofrecen facilidad de uso, alta precisión diagnóstica, evaluación clínica rápida y rentabilidad en la fabricación y consumibles, además de la posibilidad de uso por personal no especializado [37].

En la actualidad, las pruebas PoCT se desarrollan utilizando diferentes tipos de biosensores, siendo los más comunes los electroquímicos, ópticos, piezoeléctricos y colorimétricos. Entre estos, las pruebas colorimétricas son especialmente populares por su facilidad de interpretación visual, ya que generan un cambio de color proporcional a la concentración del analito detectado [37], [38].

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha establecido cinco criterios principales que deben cumplir las pruebas de punto de atención, conocidos por el acrónimo ASSURED: asequibles (*affordable*), sensibles (*sensitive*), específicas (*specific*), de fácil uso (*user-friendly*), rápidas y robustas (*rapid and robust*), sin necesidad de equipos sofisticados (*equipment-free*) y entregadas a las personas que las necesitan (*delivered to end-users*) [36]. Por esta clasificación, se han convertido en una herramienta eficiente que facilita el diagnóstico, sobre todo en países donde los sistemas de salud son insuficientes para ofrecer servicios aptos para los ciudadanos [38].

En el contexto clínico, las pruebas PoCT se utilizan para la detección de infecciones virales como VIH, hepatitis, dengue o COVID-19; para el seguimiento de enfermedades crónicas como la diabetes; y para la evaluación de biomarcadores cardiovasculares o renales. Estas pruebas permiten la toma de decisiones inmediatas, reduciendo la brecha entre el diagnóstico y el tratamiento [37].

Entre las aplicaciones más recientes se encuentran los biosensores PoCT integrados con teléfonos inteligentes, los cuales aprovechan las cámaras y los procesadores de los dispositivos móviles para capturar y analizar los resultados. Esto permite digitalizar las lecturas, almacenar los datos y enviarlos a profesionales de salud de manera remota, contribuyendo así al desarrollo de la telemedicina y al monitoreo continuo del paciente [38].

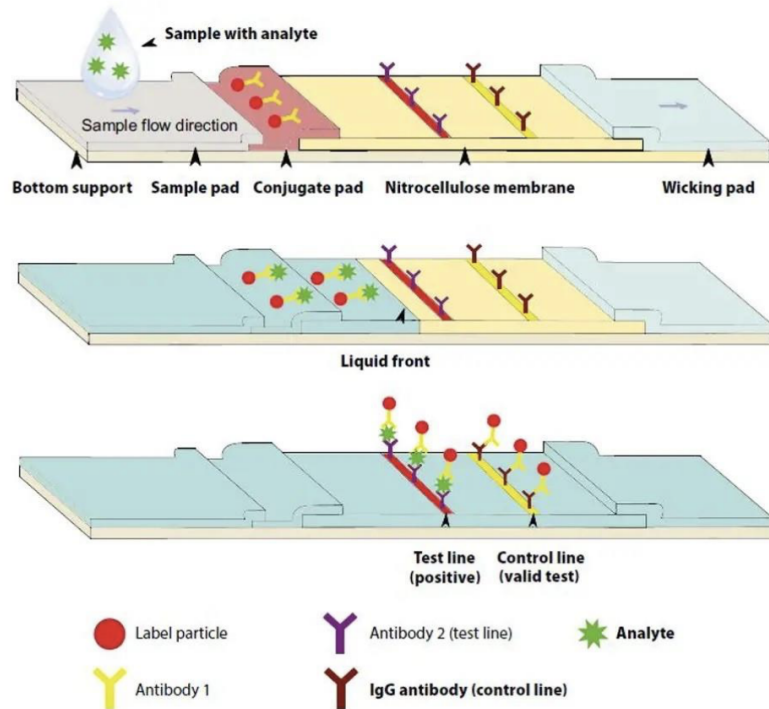
Las pruebas de punto de atención representan un paso esencial hacia la medicina personalizada y preventiva, promoviendo un acceso equitativo a los diagnósticos en todo el mundo. Su evolución continúa impulsada por la necesidad de soluciones rápidas, precisas y accesibles, especialmente en regiones donde los laboratorios tradicionales no son viables [36], [37].

6.5. Pruebas de flujo lateral (LFT)

Los dispositivos PoCT basados en el ensayo de flujo lateral (*lateral flow test* – LFT) se encuentran entre las estrategias de crecimiento muy rápido para análisis cuantitativos y cualitativos [39]. Han atraído gran interés debido a su facilidad de uso, tiempos de ensayo cortos, pocas interferencias, bajo costo y facilidad para operar por personal no especializado. Estas pruebas se basan en interacciones bioquímicas que facilitan la detección uno o más componentes [40]. Su principio de funcionamiento se basa en la inmunocromatografía, donde una muestra líquida migra por capilaridad por medio de una membrana porosa que contiene reactivos inmovilizados. Con estas pruebas se puede determinar la presencia o ausencia de un analito específico, normalmente utilizando interacciones antígeno-cuerpo [40], [41].

Los LFT se realizan sobre una tira, formada por diversas secciones que se ensamblan sobre una base de plástico, generalmente de poliestireno. Entre los principales componentes de las tiras se incluyen el almohadón de aplicación, la membrana de nitrocelulosa, la almohadilla de absorción y la capa posterior de soporte (Figura 4) [39], [41].

Figura 4. Principio de funcionamiento de una prueba de flujo lateral



Nota. Se esquematiza el principio de funcionamiento de una prueba de flujo lateral, en la que la muestra se aplica sobre el almohadón de aplicación y migra por capilaridad a través de la membrana de nitrocelulosa, generando una o más líneas visibles según la presencia del analito. Adaptado de [41].

El proceso comienza cuando la muestra (sangre, suero, saliva u orina) se deposita sobre el almohadón de aplicación. Este componente actúa como un filtro que controla la velocidad del flujo y elimina impurezas. La muestra se logra desplazar por capilaridad hacia la membrana de nitrocelulosa, en la que se inmovilizaron los reactivos, comúnmente anticuerpos específicos o antígenos etiquetados con nanopartículas de oro coloidal. Si se encuentra el analito deseado, se genera un complejo antígeno-anticuerpo que produce una señal visible en la línea de prueba. Una segunda línea, llamada línea de control, confirma el funcionamiento correcto de la tira [40].

Los LFT suelen utilizar distintos formatos según la naturaleza del analito y del tipo de reconocimiento biológico que se utilizará. Los dos más comunes son el ensayo de tipo *sandwich* y el ensayo de tipo competitivo. En el formato *sandwich*, el analito se asocia entre dos anticuerpos específicos: uno fijado en la línea de prueba y otro conjugado a una nanopartícula o marcador visible. En el formato competitivo, el analito de la muestra compete con un analito marcado que se encuentra en la tira por los sitios de unión del anticuerpo, de manera que la intensidad de la señal es inversamente proporcional a la concentración del analito [39], [40].

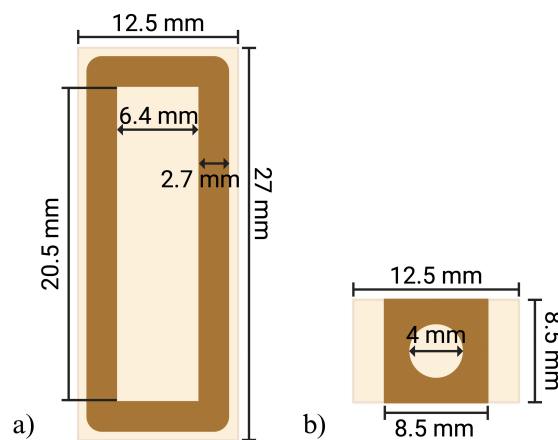
Actualmente, los LFT se han vuelto una herramienta fundamental en el diagnóstico clínico rápido, especialmente para la identificación de infecciones como VIH, malaria, hepatitis y COVID-19. En la pandemia de 2020, estos dispositivos jugaron un papel clave al posibilitar la identificación rápida de casos positivos fuera de los laboratorios convencionales, lo que facilitó la toma de decisiones y la prevención de contagios [41].

Debido a su diseño versátil, los LFT se han utilizado también en la detección de biomarcadores cardíacos, hormonales (como la gonadotropina coriónica humana, hCG), de fármacos o drogas y contaminantes ambientales. Su evolución continúa avanzando con la inclusión de emergentes nanomateriales, técnicas de amplificación de la señal y de lectura digital por medio de teléfonos inteligentes, lo que los convierte en una herramienta eficaz para el diagnóstico descentralizado [41].

7.1. Diseño del canal

Para la fabricación del dispositivo, el diseño del canal y de la zona de reacción se realizaron en Inkscape (Inkscape.org, libre) y posteriormente fueron enviados a una cortadora láser modelo PLS 4.75 (Universal Laser System, EE. UU.). El canal, mostrado en la Figura 5, se diseñó con un rectángulo de 6.4×20.5 mm, considerando un grosor de barrera de 2.7 mm para asegurar su correcta formación. En el caso de la tira reactiva, se estableció un círculo de 4 mm de diámetro dentro de un cuadrado de 8.5×8.5 mm, con el objetivo de que al colocarlo sobre el canal cubriera completamente el área en contacto con el papel sin tratamiento.

Figura 5. Dimensiones del canal y la tira reactiva diseñados para el dispositivo

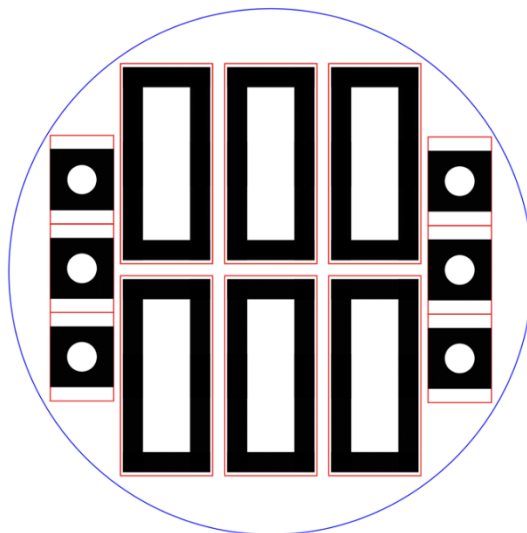


Nota. Se presentan las dimensiones de (a) el canal del dispositivo y (b) la tira reactiva, incluyendo los grosores correspondientes a la barrera hidrofóbica. Imagen creada en BioRender. Elaboración propia.

El diseño del canal rectangular se seleccionó por su sencillez y porque permite un aprovechamiento más eficiente del papel filtro Whatman 4 (Cytiva, China) durante el proceso de fabricación, reduciendo así el desperdicio de material. En cuanto a la forma circular de la zona de reacción, se eligió con base en estudios previos que respaldan su funcionamiento [42], ya que demostró una distribución más uniforme del fluido en comparación con otras geometrías. Además, el exterior de la zona de reacción se diseñó de manera que cubriera toda la parte hidrofílica una vez ensamblada, asegurando que la muestra que fluye entrara en contacto únicamente con la zona de reacción y no con otras áreas de la tira reactiva.

Según la configuración de grabado de la cortadora, las zonas del canal y de la tira reactiva se marcaron con líneas y geometrías en color negro, utilizadas únicamente para el grabado. Las áreas de corte se delimitaron con rectángulos de color rojo: uno de 12.5×27 mm para el canal y otro de 12.5×8.5 mm para la tira reactiva. Finalmente, el diseño completo se insertó dentro de una plantilla circular de 70 mm de diámetro para reproducir el tamaño real del papel filtro Whatman 4, que fue el material utilizado como sustrato para el transporte del fluido dentro del dispositivo (Figura 6).

Figura 6. Diseños del canal dentro de la plantilla circular elaborada en Inkscape



Nota. Plantilla circular de 70 mm de diámetro con los diseños del canal elaborados en Inkscape. El color negro representa las áreas de grabado, el color rojo señala los contornos que serán recortados manualmente y el color azul delimita el diámetro del papel filtro Whatman 4. Imagen creada en Inkscape. Elaboración propia.

7.2. Fabricación del canal

Antes de enviar el diseño final a la cortadora láser, un disco de papel filtro Whatman 4 fue colocado sobre una base de MDF. Luego, el papel filtro fue recubierto con una lámina de parafilm (Amcor, Suiza), lo que aseguró la eliminación de burbujas de aire entre las capas para mantener un espesor uniforme y evitar el desenfoco del láser. El conjunto de papel y parafilm fue fijado a la base de MDF mediante cinta adhesiva. El montaje se alineó cuidadosamente con el puntero dentro de la cortadora láser. Dado que el material de trabajo era papel, se retiró el aire comprimido y se ajustó el enfoque del láser para prevenir la incineración del sustrato durante el proceso. La cortadora se configuró para utilizar únicamente el color negro, de modo que solo se efectuara grabado. El grabado se estableció con una potencia en el rango de 18 % a 30 % y una velocidad del 50 %, según el estado del equipo con el que se esté trabajando (Cuadro 2).

Cuadro 2. Parámetros de grabado con láser

Color	Modo	Potencia	Velocidad
Negro	Rast	18.2 %	50 %
Azul	Skip	-	-
Rojo	Skip	-	-

Nota. Se presenta la configuración de la cortadora láser modelo PLS 4.75, con los parámetros establecidos para el grabado de las áreas correspondientes al canal. Elaboración propia.

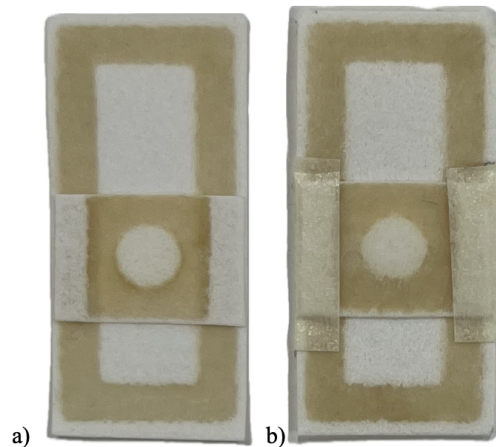
Luego de completar el grabado, se retiró la capa de parafilm, lo que dejó las barreras hidrofóbicas establecidas sobre el papel. La creación de las barreras se verificó mediante un microscopio óptico digital Celestron 44341 LCD (Celestron, EE. UU.), equipado con un objetivo de 40 \times . Las imágenes obtenidas fueron analizadas con el software ImageJ (NIH, EE. UU.) para medir la intensidad media en escala de grises (*mean gray value* - MGV) y confirmar la formación de un nuevo material hidrofóbico. Finalmente, las áreas correspondientes fueron recortadas con tijeras.

7.3. Creación y ensamblaje de la zona de reacción

Se prepararon las soluciones de trabajo de manera individual con las siguientes concentraciones: 0.6 M de yoduro de potasio (KI, Cat. 221945-100G, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), 30 U/mL de peroxidasa de rábano (HRP, Cat. P8375-5U, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) y 120 U/mL de glucosa oxidasa de *Aspergillus niger* (GOx, Cat. G7141-250KU, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). Se tomaron volúmenes iguales de cada una de las soluciones (3 μ L) para formar la mezcla final que se aplicó en la zona de reacción. Debido a la proporción 1:1:1 empleada, las concentraciones finales en la mezcla fueron de 0.2 M KI, 10 U/mL HRP y 40 U/mL GOx, respectivamente. Todas las soluciones se prepararon utilizando tampón fosfato salino (PBS 1 \times , OmniPur 10 \times , Cat. 6505-4L, Calbiochem, Darmstadt, Germany) como disolvente.

Las tiras se dejaron secar entre una y tres horas, por las condiciones ambientales. Una vez secas, se aplicó una pequeña cantidad de adhesivo líquido Pritt de secado rápido y lavable (Henkel, Alemania) en los bordes extremos (Figura 7a); en otros casos, se colocó un pequeño pedazo de cinta adhesiva Tesa (Tesa SE, Alemania) en las esquinas de cada tira para unirla al canal (Figura 7b). La tira reactiva se posicionó a 4–5 mm de un extremo del canal y se evitó el contacto de la goma líquida y la cinta adhesiva con la zona de reacción o con el canal para prevenir cualquier interferencia con el resultado final. Se dejaron secar los canales ensamblados durante diez minutos para asegurar una adhesión adecuada.

Figura 7. Vista final del canal microfluídico ensamblado



Nota. Se ilustra el ensamblado final del canal microfluídico. Después de delimitar las áreas con parafilm, estas se recortaron manualmente y se fijó la tira reactiva mediante (a) la aplicación de pequeñas gotas de goma líquida en las esquinas, evitando el área de reacción y el canal, y (b) la colocación de un pequeño trozo de cinta adhesiva en los bordes de la tira reactiva. Elaboración propia.

7.4. Pruebas de funcionamiento

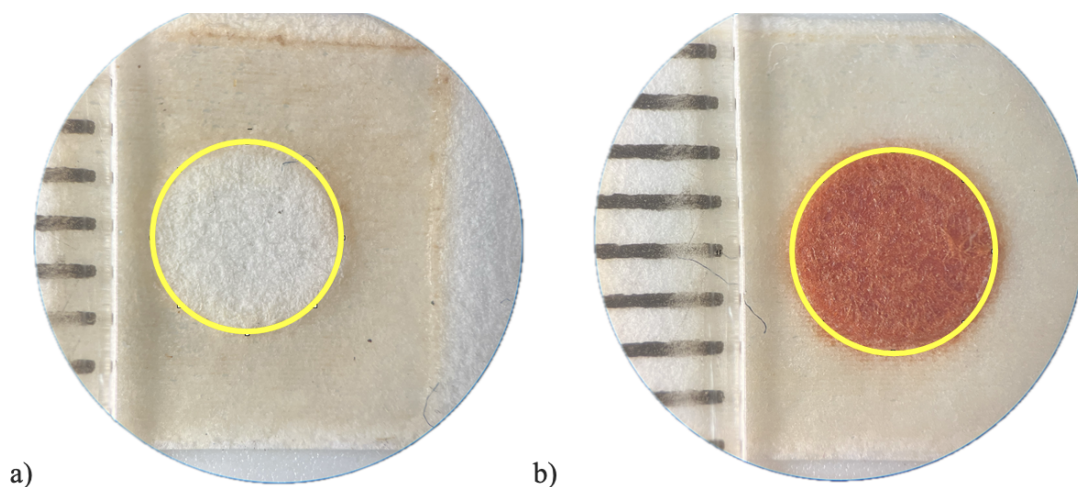
Para validar el funcionamiento del canal y del ensamblaje con la zona de reacción, se preparó una solución de D-(+)-glucosa (Cat. G7021-100G, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) disuelta en tampón fosfato (PBS) pH 7.0. La solución se diluyó para obtener diferentes concentraciones: 0.0, 0.5, 0.7, 1.0, 1.2, 1.8, 3.0 y 5.0 mg/mL.

Para cada concentración, se aplicaron 20 μ L de la solución correspondiente en el extremo inferior del canal ya ensamblado, permitiendo que fluyera por capilaridad y se dejó secar durante 10–15 minutos hasta obtener un cambio de color visible en la zona de reacción. Una vez evidenciado el cambio, los resultados se verificaron mediante un estereoscopio Eurolab (Eurolab, Europa) equipado con oculares WF10 \times y un aumento total de 20 \times . Todas las muestras fueron documentadas mediante fotografías tomadas bajo las mismas condiciones de iluminación.

7.5. Evaluación colorimétrica

En cada fotografía del resultado se colocó una regla de referencia para escalar las mediciones en ImageJ. Con la ayuda de esta escala, se calibró cada imagen y se definió una región de interés (*region of interest* - ROI) ovalada de 4×4 mm centrado sobre el área de reacción, midiendo la intensidad media en escala de grises (MGV, 8 bits). Una vez obtenidos los valores correspondientes a las diferentes concentraciones, se construyó una curva dosis–respuesta que permitió graficar la intensidad relativa en función de la concentración de glucosa (mg/mL) aplicada en cada tira reactiva.

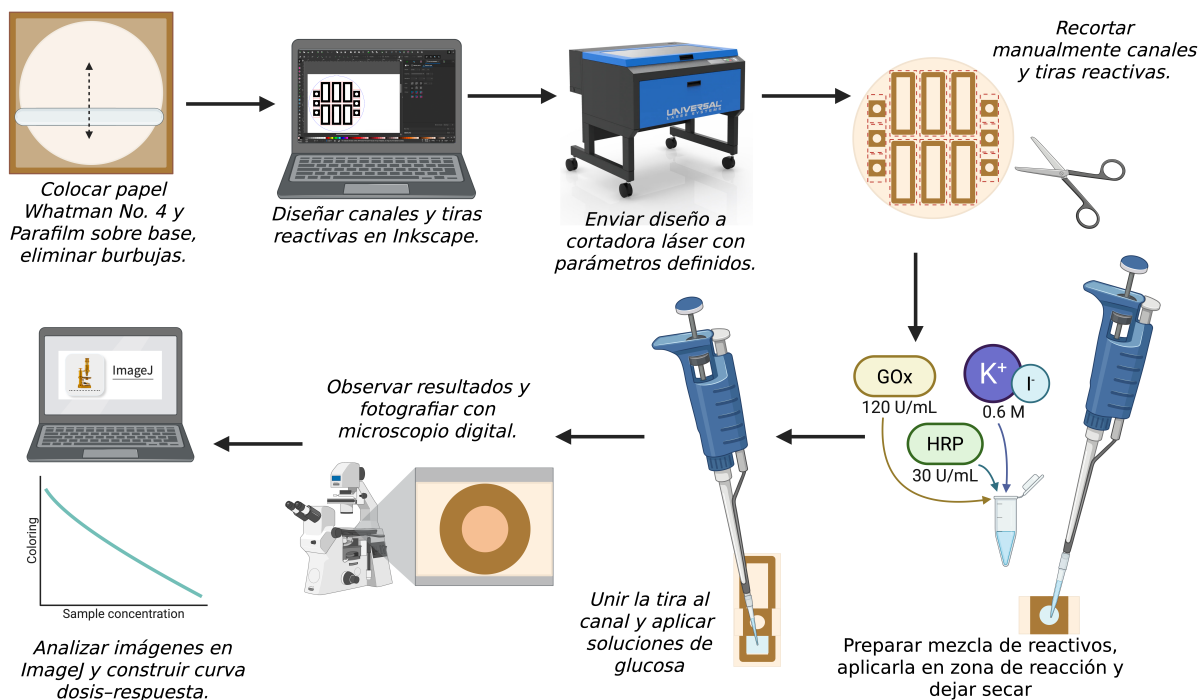
Figura 8. Procedimiento de medición del área de interés para la obtención de resultados



Nota. Se presenta la medición del área de interés *region of interest* ROI circular de 4 mm de diámetro en el centro del área de reacción, para las concentraciones de 0.0 mg/mL y 5 mg/mL, con el fin de determinar la intensidad media en escala de grises bajo condiciones estables de iluminación. Elaboración propia.

El procedimiento completo de diseño, fabricación y análisis del dispositivo se resume de manera esquemática en la Figura 9. Este diagrama integra y demuestra las etapas descritas anteriormente, desde la preparación del papel filtro y el grabado láser de las barreras hidrofóbicas, hasta la aplicación de reactivos, el ensamblaje final del canal y la evaluación colorimétrica de las muestras de glucosa.

Figura 9. Diagrama general del proceso de diseño, fabricación y obtención de resultados con el dispositivo

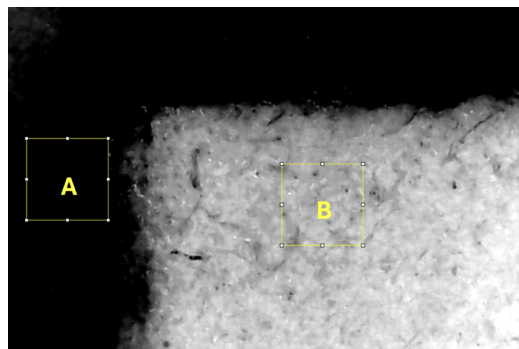


Nota. Se resume el proceso de diseño, fabricación y obtención de resultados con el dispositivo. Inicialmente, un disco de papel filtro Whatman 4 se cubrió con parafilm y se eliminaron las burbujas de aire. Posteriormente, los diseños de los canales y las tiras reactivas elaborados en Inkscape se enviaron a la cortadora láser PLS 4.75 con los parámetros previamente definidos. Una vez establecidas las barreras hidrofóbicas, se recortaron las tiras y el canal, se aplicaron los reactivos 0.2 M KI, 10 U/mL HRP y 40 U/mL GOx, y se ensamblaron las piezas. Finalmente, se aplicaron distintas soluciones de glucosa, se observaron los resultados mediante microscopio digital y se analizaron las imágenes en ImageJ para construir la curva dosis-respuesta. Imagen creada en BioRender. Elaboración propia.

8.1. Creación y caracterización de la barrera hidrofóbica

Para poder crear las diferentes zonas del canal se verificó la formación de una barrera hidrofóbica en el papel filtro con parafilm y comparar las zonas hidrofóbicas e hidrofílicas obtenidas. Como se observa en la Figura 10, se obtuvo una diferencia visual entre ambas zonas. La zona hidrofóbica (A) registró un valor promedio de intensidad de gris (*mean gray value*, MGV) de 0.001, con un mínimo de 0, mientras que en la zona hidrofílica (B) el promedio fue de 177.592, con un mínimo de 30 (Cuadro 3). Sin embargo, esto no confirma la formación de una barrera hidrofóbica, solo demuestra la composición de dos materiales diferentes.

Figura 10. Demostración de la coloración obtenida en zonas hidrofílicas e hidrofóbicas tras el tratamiento con parafilm



Nota. Se comparan las zonas hidrofóbica (A) e hidrofílica (B) mediante imágenes microscópicas analizadas en el software ImageJ en escala de grises de 8 bits, con el fin de evidenciar la presencia de dos materiales distintos. En ambas imágenes se seleccionó una región de interés ROI para el análisis correspondiente. Elaboración propia.

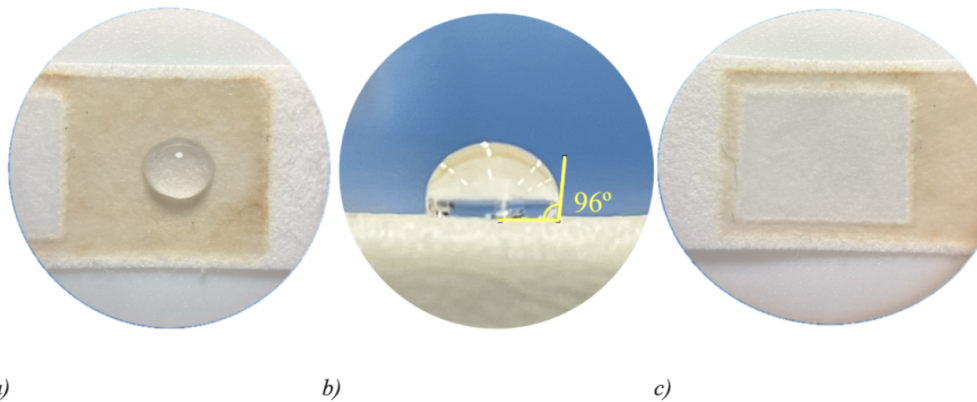
Cuadro 3. Intensidad de grises en zonas A y B

Zona	Promedio	Mínimo	Máximo
A	0.001	0	15
B	177.529	30	255

Nota. Se presentan los valores de intensidad media de grises MGv en las zonas A hidrofóbica y B hidrofílica del papel, obtenidos mediante el análisis de regiones de interés ROI en ImageJ. Elaboración propia.

Para confirmar que el área donde se realizó el grabado láser fuera hidrofóbica, se midió el ángulo de contacto con una gota de agua, con la que se obtuvo un ángulo de 96° sobre la superficie de parafilm, lo que demuestra repulsión parcial del agua sobre el recubrimiento (Figuras 11a y 11b). En el papel sin recubrimiento no se observó la formación de una gota, sino que el agua fue absorbida de inmediato (Figura 11c).

Figura 11. Comportamiento del agua sobre las superficies hidrofóbicas e hidrofílicas del papel tratado

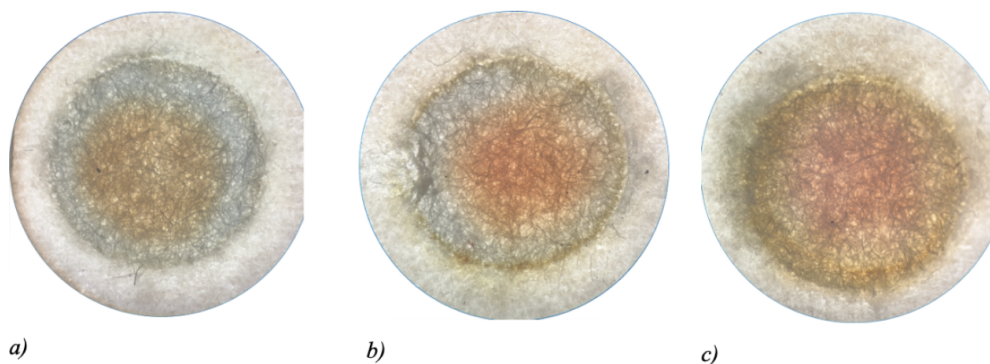


Nota. Se ilustra el comportamiento del agua sobre las superficies hidrofóbica e hidrofílica del papel tratado. En (a) se observa la formación de una gota de agua sobre la superficie con parafilm, correspondiente a la zona hidrofóbica. En (b) se presenta la medición del ángulo de contacto de la gota sobre dicha superficie, con un valor de 96° . En (c) se muestra la superficie del papel filtro sin recubrimiento, correspondiente a la zona hidrofílica, donde no se observa la formación de una gota de agua. Elaboración propia.

8.2. Efecto del volumen aplicado en la intensidad de la coloración

Para lograr inmovilizar los reactivos sobre la zona de reacción, fue necesario evaluar el efecto del volumen aplicado sobre la intensidad de la coloración. Para ello, se realizaron pruebas con tres volúmenes de la mezcla reactiva (3, 6 y 9 μL) y sus respectivos volúmenes de muestra de glucosa (1, 2 y 3 μL , respectivamente), utilizando una concentración constante de 1 mg/mL. En las Figuras 12a, 12b y 12c se presentan las coloraciones obtenidas tras el secado de las tiras al aire libre. Se observó una mayor coloración y cobertura total del área de reacción con el volumen de 9 μL de mezcla reactiva, mientras que con los otros volúmenes las zonas presentaron menor intensidad y una cobertura limitada. Además, se obtuvieron los valores de intensidad de gris (MGV) utilizando una región de interés (*Region of Interest* – ROI) de 2 mm de diámetro en el área central (Cuadro 4) y un ROI de 4 mm de diámetro que abarca toda la zona de reacción (Cuadro 5), con el fin de evaluar posibles diferencias entre ambas áreas de análisis. En ambos casos se observó un menor valor de MGV para el volumen de 9 μL (146.959 en el ROI central y 145.525 en el ROI total). Sin embargo, el análisis basado en el ROI total mostró respuestas colorimétricas más definidas entre los diferentes volúmenes, por lo que se decidió continuar los análisis posteriores empleando esta área de referencia.

Figura 12. Determinación del volumen óptimo de mezcla de reactivos aplicado en la zona de reacción



Nota. Se comparan las coloraciones obtenidas tras el secado al aire libre al aplicar distintos volúmenes de mezcla de reactivos y solución de glucosa de 1 mg/mL. En (a) se utilizaron 3 μL de mezcla de reactivos y 1 μL de glucosa, en (b) 6 μL de mezcla de reactivos y 2 μL de glucosa, y en (c) 9 μL de mezcla de reactivos y 3 μL de glucosa. Elaboración propia.

Cuadro 4. Intensidad de gris MGV en la ROI central

Condición	Promedio	Mínimo	Máximo
Control	200.478	126	253
3 μL	143.288	78	247
6 μL	142.652	70	240
9 μL	146.959	61	228

Nota. Se presentan los valores de intensidad media de gris MGV obtenidos en la región central, correspondiente a una ROI de 2 mm de diámetro, para diferentes volúmenes totales de reacción. Elaboración propia.

Cuadro 5. Intensidad de gris MGV en la ROI total

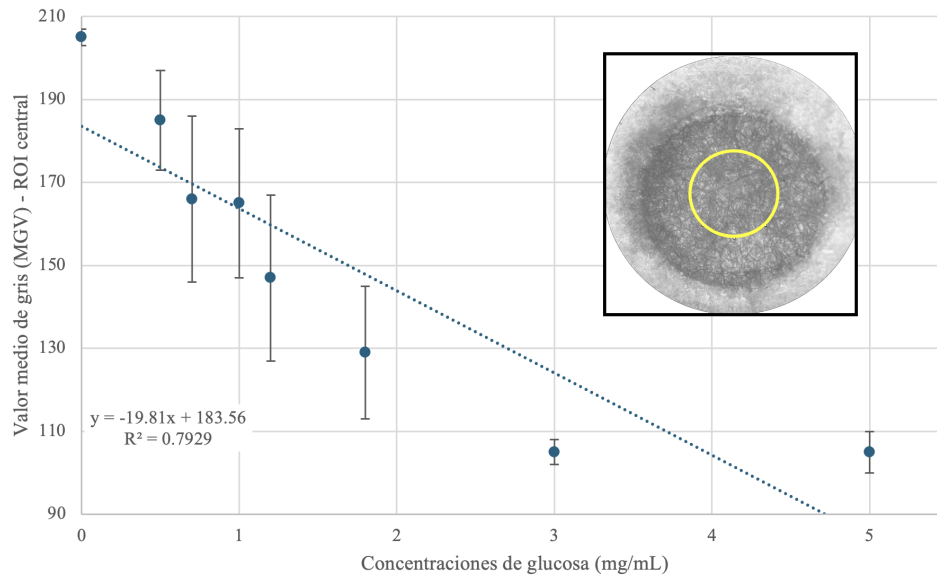
Condición	Promedio	Mínimo	Máximo
Control	200.478	126	253
3 μL	154.076	72	253
6 μL	155.124	66	253
9 μL	145.525	61	240

Nota. Se presentan los valores de intensidad media de gris MGV obtenidos en el área total, correspondiente a una ROI de 4 mm de diámetro, para diferentes volúmenes totales de reacción. Elaboración propia.

8.3. Relación entre concentración de glucosa e intensidad de color

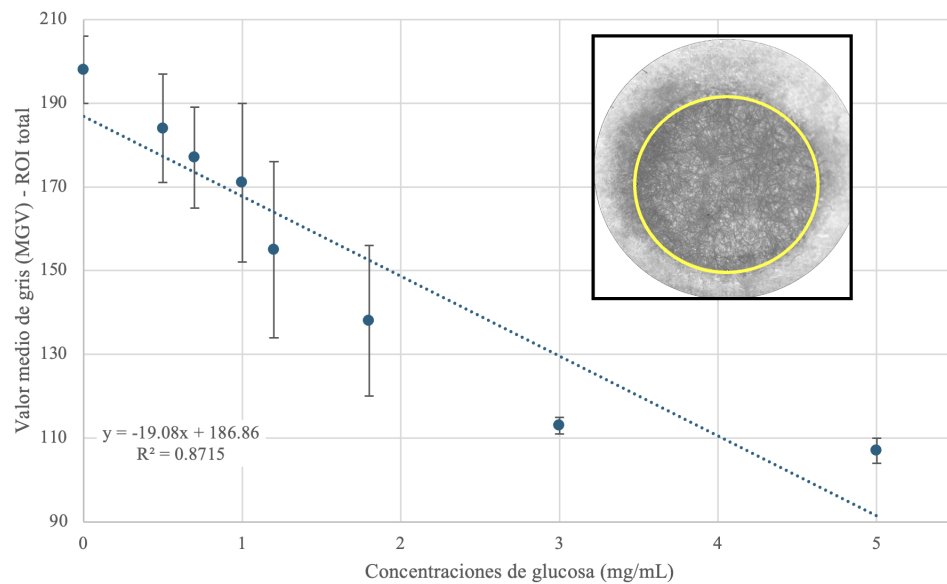
Se compararon los promedios de los valores de MGV obtenidos mediante el análisis de ROI de 2 mm de diámetro en el área central de la zona de reacción (Figura 13) y el análisis de ROI de 4 mm de diámetro que abarca toda el área de reacción (Figura 14). En ambos casos se observó una disminución progresiva en el valor de MGV conforme aumentaba la concentración de glucosa, evidenciando un comportamiento inversamente proporcional entre ambas variables. Al evaluar la relación lineal entre la concentración de glucosa y los valores promedio de MGV, se obtuvo un coeficiente de determinación de $R^2 = 0.7929$ para el ROI central y de $R^2 = 0.8715$ para el ROI total. Estos resultados indican que el ROI total presentó una tendencia más continua y una correlación lineal más definida, por lo que se seleccionó este método para los análisis posteriores.

Figura 13. Relación entre la concentración de glucosa y el valor medio de gris MGV en la zona de reacción con ROI central de 2 mm de diámetro



Nota. Se presenta la relación entre la concentración de glucosa de 0.5 a 5.0 mg/mL y el valor medio de gris MGV, con ajuste lineal, para una región de interés ROI de 2 mm de diámetro ubicada en el área central de la zona de reacción. El coeficiente de determinación obtenido fue $R^2 = 0.7929$. Elaboración propia.

Figura 14. Relación entre la concentración de glucosa y el valor medio de gris MGV en la zona de reacción con ROI de 4 mm de diámetro

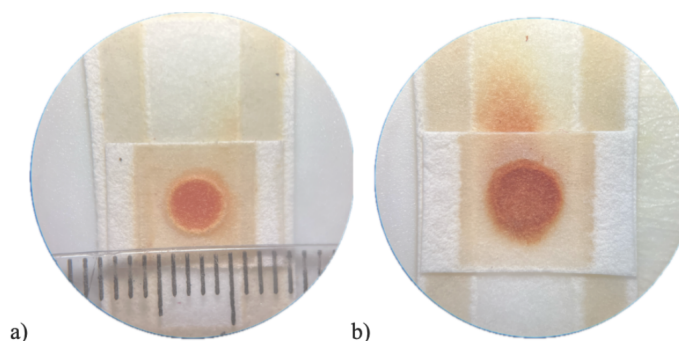


Nota. Se presenta la relación entre la concentración de glucosa de 0.5 a 5.0 mg/mL y el valor medio de gris MGV, con ajuste lineal, para una región de interés ROI de 4 mm de diámetro en la zona de reacción. El coeficiente de determinación obtenido fue $R^2 = 0.8715$. Elaboración propia.

8.4. Creación y funcionamiento del canal

Luego de ensamblar el canal con la tira reactiva, se aplicó la muestra en la parte inferior del canal y se dejó fluir. En algunos casos se observó que la coloración no permanecía únicamente en la zona de reacción, sino que también se transfería hacia el área de descarte del canal. En las Figuras 15a y 15b se evidencia esta transferencia de la reacción hacia la zona de descarte. Sin embargo, este comportamiento no fue consistente en todas las muestras, ya que solo algunas presentaron dicha transferencia.

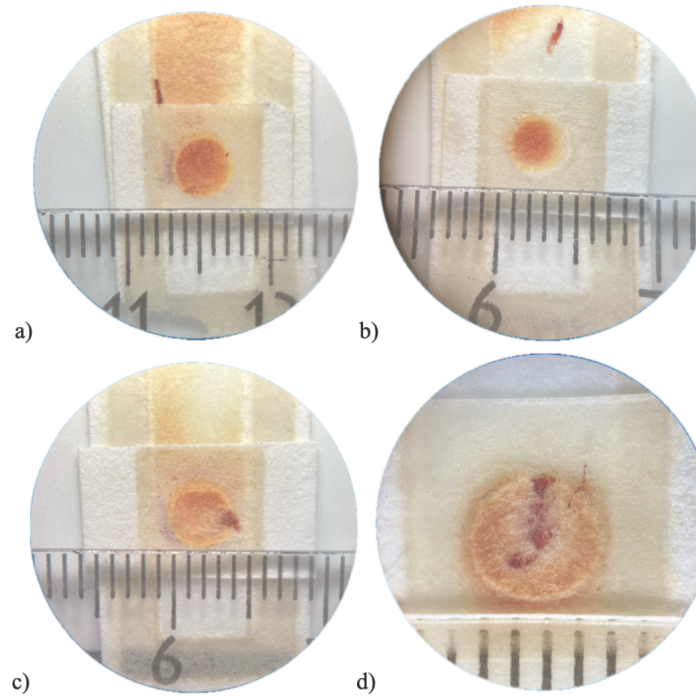
Figura 15. Flujo de la muestra de glucosa a través del canal hasta la zona de reacción y descarga



Nota. Se ilustra el flujo de la muestra de glucosa a través del canal, su paso por la zona de reacción y su llegada a la zona de descarte. En algunos casos, la coloración no se mantiene únicamente en la zona de reacción, sino que se transfiere parcialmente hacia la zona de descarte del canal. En (a) se presenta un ejemplo con una muestra de glucosa de 3.0 mg/mL y en (b) un ejemplo con una muestra de 5.0 mg/mL. Elaboración propia.

Cuando se ensambló el canal y la tira reactiva utilizando goma líquida, se debía tener cuidado de que esta no entrara en contacto con el área por donde fluiría la muestra, ya que podía adquirir una coloración más intensa de lo normal en la zona de descarte (Figuras 16a y 16b). En estos casos, la alteración no afectaba la obtención de resultados, dado que la zona de reacción permanecía intacta. Sin embargo, cuando la goma líquida entraba en contacto con la zona de reacción, podía alterar el resultado final. Al presentar una coloración más intensa, el valor de MGV podía variar significativamente, impidiendo obtener un resultado representativo del cambio colorimétrico real.

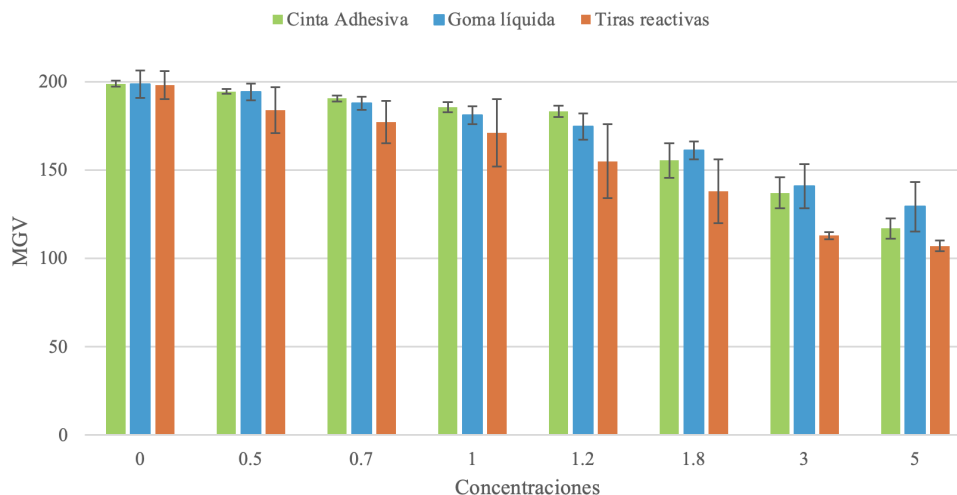
Figura 16. Pruebas con canales ensamblados que muestran coloración anómala debido al contacto con goma líquida



Nota. Se presentan pruebas con canales ensamblados en las que se observa una coloración anómala atribuida al contacto con goma líquida. En (a) y (b) se evidencia un aumento de coloración en la zona de descarte que no afecta el resultado final. En contraste, en (c) y (d) se observa una coloración más intensa dentro de la zona de reacción, la cual pudo haber alterado el valor final de MGV. Elaboración propia.

Se obtuvieron los valores de MGV del área total para las tiras reactivas luego de ser adheridas al canal mediante goma líquida y mediante cinta adhesiva. En cada caso, los valores se compararon con los obtenidos en las tiras reactivas sin ensamblar. En la Figura 17 se observa que los valores de MGV de los canales ensamblados son mayores que los de las tiras reactivas por separado. Asimismo, se aprecia que, conforme aumenta la concentración de glucosa, el valor de MGV en los canales ensamblados presenta una menor variación en comparación con las tiras reactivas.

Figura 17. Comparación de los valores promedio del valor medio de gris MGV obtenidos en tiras reactivas sin ensamblar y con canales ensamblados



Nota. Se comparan los valores promedio del valor medio de gris MGV obtenidos en tiras reactivas sin ensamblar y en canales ensamblados utilizando goma líquida y cinta adhesiva $n = 6$. Las barras de error representan la desviación estándar de las mediciones. Se observa que los canales ensamblados presentan valores de MGV ligeramente mayores, sin diferencias significativas entre ambos métodos de unión. Elaboración propia.

Para confirmar que las diferencias observadas eran estadísticamente significativas, se realizaron pruebas t de Student entre los diferentes criterios de comparación (Cuadro 6). Los resultados no mostraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los valores de MGV obtenidos con los métodos de ensamblaje mediante goma líquida y cinta adhesiva ($p = 0.964$), ni entre el promedio de los valores obtenidos por los canales ensamblados y las tiras reactivas sin ensamblar ($p = 0.338$).

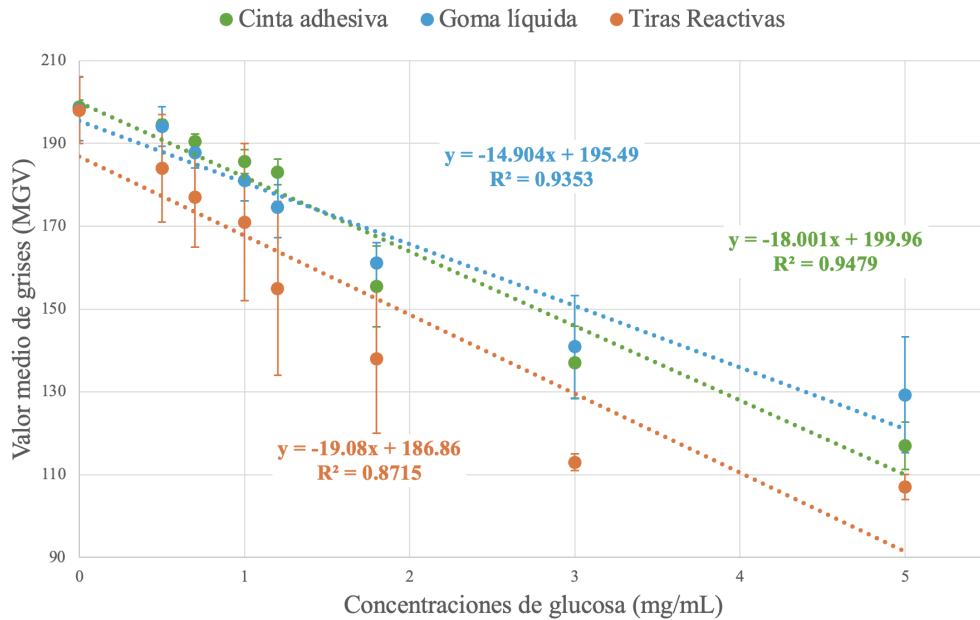
Cuadro 6. Prueba t de Student entre métodos

Comparación evaluada	Prueba t (p)	Interpretación
Valores MGV entre cinta adhesiva y goma líquida	0.964	No significativa ($p > 0.05$)
Valores MGV entre el promedio de los canales ensamblados y la tira reactiva	0.338	No significativa ($p > 0.05$)

Nota. Se presentan los resultados del análisis estadístico mediante la prueba t de Student correspondiente a la Figura 17, en la que se comparan los métodos de ensamblaje y las tiras reactivas $n = 6$. Elaboración propia.

Se realizó una regresión lineal, Figura 18, utilizando los valores promedio obtenidos en las diferentes pruebas: cinta adhesiva, goma líquida y únicamente tira reactiva. Se observó un mejor ajuste lineal en los canales ensamblados, con coeficientes de determinación de $R^2 = 0.9353$ para la goma líquida y $R^2 = 0.9479$ para la cinta adhesiva, siendo esta última la que presentó la mejor correlación. En comparación con la tira reactiva sin ensamblar ($R^2 = 0.8715$), los resultados indican un comportamiento más consistente y una respuesta más lineal en los canales ensamblados.

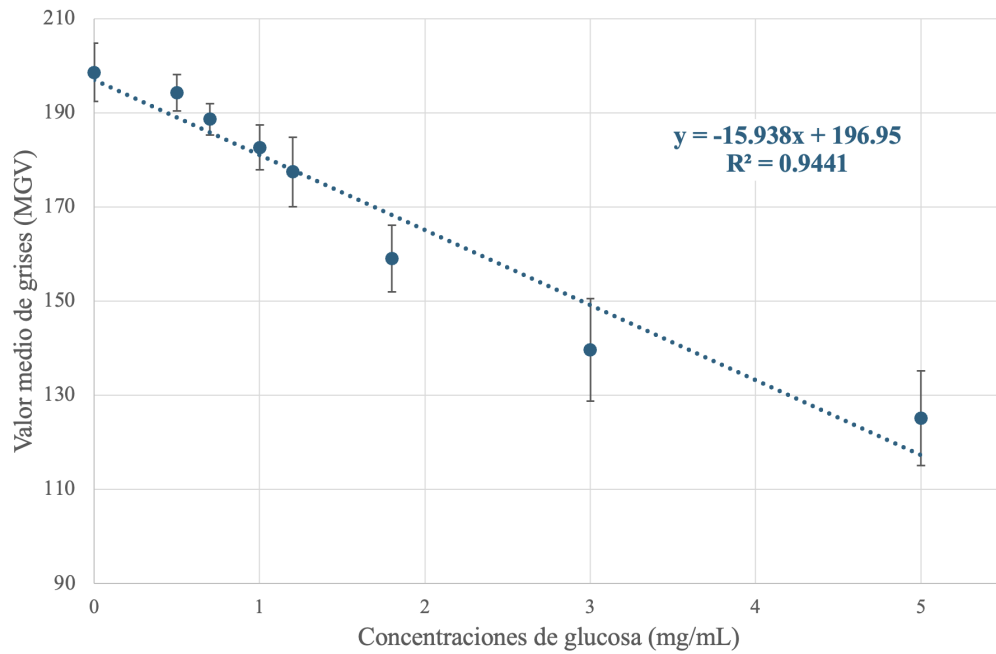
Figura 18. Líneas de tendencia generadas a partir de los valores promedio del valor medio de gris MGV bajo distintas condiciones



Nota. Se presentan las líneas de tendencia obtenidas a partir de los valores promedio de MGV para las diferentes condiciones: canal ensamblado con goma líquida $R^2 = 0.9353$, canal ensamblado con cinta adhesiva $R^2 = 0.9479$ y tira reactiva sin ensamblar $R^2 = 0.8715$. Cada punto corresponde al promedio de seis mediciones $n = 6$ y las barras de error representan la desviación estándar. Se observa una mejor correlación lineal en los canales ensamblados, especialmente en el caso de la cinta adhesiva. Elaboración propia.

En la Figura 19 se presentan los valores promedio de todas las pruebas realizadas con los canales ensamblados (cinta adhesiva y goma líquida). Se observa un comportamiento similar al de las pruebas individuales, mostrando una relación inversamente proporcional entre la concentración de glucosa y el valor de MGV: a mayor concentración, menor intensidad de gris. El ajuste lineal obtenido presenta un coeficiente de determinación de $R^2 = 0.9441$, lo que evidencia una correlación altamente lineal y consistente entre las mediciones.

Figura 19. Promedio de valores de MGV obtenidos en todas las pruebas realizadas



Nota. Se presentan los valores promedio de MGV obtenidos en todas las pruebas realizadas con los canales ensamblados mediante cinta adhesiva y goma líquida. Cada punto corresponde a 12 mediciones $n = 12$, de las cuales seis se realizaron con cinta adhesiva y seis con goma líquida. Las barras de error representan la desviación estándar. Se observa una relación inversamente proporcional entre la concentración de glucosa y el MGV, con un coeficiente de determinación de $R^2 = 0.9441$. Elaboración propia.

El diseño del dispositivo se enfocó en la creación de un canal capaz de transportar un fluido a través de una zona de aplicación, una zona de reacción y una zona de descarte. Estas zonas se delimitaron utilizando barreras hidrofóbicas que fueron creadas con una aplicación de Parafilm en el papel utilizando corte láser. Se confirmó la formación de las barreras hidrofóbicas de manera visual y cuantitativa, logrando observar una diferencia entre las áreas tratadas y no tratadas. Con los resultados obtenidos se demostró una formación efectiva de dichas barreras sobre el papel filtro. Se observa un cambio distintivo entre el área recubierta con Parafilm y el área sin tratamiento. La diferencia cuantitativa obtenida entre los valores de intensidad de grises (*Mean Gray Value*, MGV) entre ambas zonas, demuestra una modificación efectiva en la superficie del papel.

Esta diferencia cuantitativa y visual se puede atribuir a cambios en las propiedades ópticas de los materiales. El recubrimiento de Parafilm modifica la manera en que la superficie interactúa con la luz y reduce su reflectancia y genera una apariencia más oscura. En cambio, la superficie del papel sin tratamiento, refleja una mayor cantidad de luz y presenta valores más altos de MGV. Según estudios previos, la rugosidad, composición y naturaleza del material pueden influir directamente en su brillo y apariencia[43]. Por lo tanto, la diferencia de los valores de MGV observada entre las zonas tratadas y sin tratar confirma la diferencia entre dos materiales con propiedades distintas, lo que demuestra una presencia de áreas hidrofóbicas e hidrofílicas del dispositivo.

Para verificar que el área cubierta con Parafilm fuera resistente al agua, se midió el ángulo de contacto de una gota sobre las diferentes zonas que componen el dispositivo y compararlas. Se observó la formación de una gota estable en el área cubierta con Parafilm, mientras que en la zona sin tratamiento la gota fue absorbida por completo. El ángulo de contacto obtenido de la gota fue de 96° , que demuestra un comportamiento hidrofóbico. Para que se considere hidrofóbico un material, a la hora de colocar una gota sobre él y obtener el ángulo de contacto, éste debe de ser mayor a 90° . A medida que las fuerzas de interacción entre el líquido y la superficie disminuyen, la resistencia al agua incrementa y el ángulo de contacto aumenta [44]. Es por eso, que al obtener un ángulo superior a 90° se pudo

considerar el material como hidrofóbico, que logra repeler el agua y confirma la creación de una barrera hidrofóbica que delimita las diferentes áreas del canal.

Para evaluar diferentes volúmenes y determinar la cantidad adecuada de la mezcla de reactivos para inmovilizar en la zona de reacción, se consideró utilizar dos métodos de análisis: una región de interés (*region of interest*, ROI) centrada y otra que abarcara toda el área de reacción. Se determinó que el análisis del área total presentó valores de MGV más consistentes y diferenciales, lo que permitió una mayor precisión en la cuantificación. También se logró observar de manera visual que el volumen de $9\ \mu\text{L}$ logró cubrir el área total de la zona de reacción y generaba una coloración más homogénea, indicando una mejor distribución de los reactivos. En la escala de grises, al color negro se le asigna el valor 0 y el color blanco se designa con un valor de 255. Por lo tanto, un valor de MGV muy elevado y cercano a 255 sugiere una coloración menor [45]. El valor mínimo obtenido de MGV (145.525) se logró con un volumen de $9\ \mu\text{L}$, lo que indica una mayor intensidad de color y una distribución más homogénea que los demás volúmenes aplicados.

Para analizar la relación entre las concentraciones de glucosa y la intensidad de color se optó por utilizar un ROI total del área de reacción, ya que mostró una mayor regresión lineal ($R^2 = 0.8715$), a comparación con los resultados obtenidos del ROI central ($R^2 = 0.7929$). Asimismo, se notó que los valores obtenidos de MGV en el ROI central resultaron bastante similares entre algunas concentraciones (0.7–1.0 mg/mL y 3–5 mg/mL), las cuales presentaron desviaciones estándar notablemente altas. Con esto se muestra una mayor variabilidad e inestabilidad con los resultados obtenidos en esta región. Las cuales fueron causadas por leves diferencias en la distribución de los reactivos del área central.

Al integrar toda el área de reacción, se obtuvieron valores más diferenciados entre las concentraciones y con valores de desviaciones estándar menores, lo que sugiere respuestas más estables, reproducibles y representativas de la distribución de los reactivos en el área de reacción de interés. Lo que confirma que el ROI total ofrece una representación más integral del cambio colorimétrico, permitiendo una cuantificación más precisa de los resultados del análisis de imagen de las concentraciones de glucosa.

En ambos casos se notó una relación inversamente proporcional entre la concentración de glucosa y los resultados de MGV. Es decir, conforme la concentración de glucosa es mayor, la intensidad del color en la zona de reacción incrementa, pero los valores de MGV que se registran disminuyen [46]. Este fenómeno se debe al comportamiento de la reacción enzimática entre la glucosa oxidasa (GOx), peroxidasa de rábano (HRP) y el yoduro de potasio (KI); cuando hay una mayor concentración de glucosa, se produce más peróxido de hidrógeno (H_2O_2), que intensifica la oxidación del yoduro y resulta en una reacción colorimétrica más pronunciada [42].

Al ensamblar el canal con la tira de reacción se observaron dos fenómenos al aplicar la muestra de glucosa. En primer lugar, la transferencia de la coloración hacia el canal, especialmente hacia la zona de descarte, evidencia un correcto funcionamiento del diseño y un flujo de la muestra en la dirección deseada. Sin embargo, este comportamiento solo se observó en algunos casos, particularmente en las concentraciones más altas. Esto puede deberse al tiempo de secado individual de las tiras reactivas o, simplemente, a que en concentraciones mayores se produce más peróxido de hidrógeno, lo que intensifica la oxidación del yoduro y provoca que el exceso de producto coloreado se desplace hacia la zona de descarte. Este comportamiento es óptimo, ya que la zona de descarte evita la saturación del área de reacción y permite una coloración más representativa de la concentración de glucosa [39].

También se observó que únicamente cuando se utilizó goma líquida para ensamblar el canal se obtuvieron concentraciones de color atípicas. Esto puede deberse al contacto directo de la goma líquida, o de residuos de esta, con el canal o la zona reactiva, lo que pudo intensificar la coloración al restringir el movimiento de los reactivos. Dicho confinamiento aumenta la concentración local de los productos de reacción y genera una señal de color más intensa. Este fenómeno puede atribuirse a la acumulación localizada de yodo, producto coloreado de la reacción enzimática, y a la mejora de la eficiencia catalítica dentro del microentorno parcialmente confinado que genera la goma líquida [47].

Se evaluaron dos métodos de ensamblaje del canal: utilizando goma líquida y cinta adhesiva. Los valores de MGV obtenidos en ambos casos fueron semejantes, aunque levemente elevados con el ensamblaje con goma líquida. Este leve incremento pudo ser resultado de la acumulación localizada de coloración en la zona de reacción. Al realizar la prueba t se confirmó un valor de $p = 0.964$, que sugiere que no hay una diferencia significativa entre los dos métodos. Estos hallazgos indican que la clase de unión no influye de manera significativa en el rendimiento colorimétrico del dispositivo, mostrando su reproducibilidad.

En cuanto a la correlación estadística, el ensamblaje con cinta adhesiva mostró un coeficiente de determinación un poco más elevado ($R^2 = 0.9479$) a comparación de la goma líquida ($R^2 = 0.9353$). A pesar de que la diferencia entre los dos valores es mínima, la correlación más alta encontrada con cinta adhesiva indica una respuesta más consistente y predecible. El análisis de regresión lineal facilita la descripción del patrón subyacente entre las variables dependientes e independientes y evalúa la capacidad de un modelo para explicar los cambios observados en los datos experimentales [48]. En este contexto los valores elevados de R^2 puede sugerir que el modelo lineal que se presenta es apropiado a la relación inversa entre la concentración de glucosa y el MGV.

Se comparó el comportamiento de la coloración en la zona de reacción de los canales ensamblados (promedio de todos los métodos) con el de las tiras reactivas sin ensamblar. El modelo de regresión correspondiente a las tiras reactivas presentó un $R^2 = 0.8715$. Aunque la prueba t arrojó un valor de $p = 0.338$, que indica una ausencia de diferencia estadísticamente significativa, el modelo de regresión de las tiras reactivas mostró una menor proporción de la variabilidad total. Esto sugiere que la incorporación del canal y de la zona de desecho mejora la uniformidad del flujo y la distribución de los reactivos, ya que evita el estancamiento de la muestra y de los productos de reacción en la zona de reacción. En conjunto, este flujo más continuo permitió obtener una señal colorimétrica más estable, reproducible y representativa de la concentración de glucosa.

El análisis conjunto de los resultados de todos los métodos de ensamblaje generó un coeficiente de determinación global de $R^2 = 0.944$, lo que refleja una correlación lineal fuerte y consistente entre la concentración de glucosa y el valor medio de gris (MGV). Esta tendencia confirma la relación inversa entre ambas variables y demuestra que el sistema desarrollado mantiene un desempeño analítico confiable en todas las condiciones evaluadas.

Los dispositivos *point-of-care* son herramientas que permiten realizar pruebas de diagnóstico directamente en el lugar de atención y sin necesidad de utilizar algún equipo especializado o infraestructura de laboratorio. En este sentido, los hallazgos obtenidos validan el diseño propuesto como una alternativa funcional, reproducible y de bajo costo para la detección colorimétrica de glucosa en dispositivos *point-of-care*. Lo cual lo hace especialmente valioso en entornos con recursos limitados, ya que mantiene una respuesta colorimétrica clara y cuantificable.

El desarrollo del dispositivo microfluídico en papel permitió confirmar la viabilidad del uso de materiales simples como papel filtro y parafilm en la fabricación de biosensores colorimétricos de bajo costo, enfocados en aplicaciones *point-of-care*. Este sistema mostró ser capaz de cuantificar distintas concentraciones de glucosa utilizando una reacción enzimática GOx–HRP–KI, que evidenció una relación inversa entre la concentración de glucosa y los valores de MGV obtenidos. Este comportamiento confirmó la funcionalidad del método colorimétrico propuesto y su potencial para integrarse en sistemas de diagnóstico accesibles y reproducibles.

El diseño del canal, conformado por zonas de aplicación, reacción y descarte, mostró un flujo guiado y controlado del fluido, debido a la formación efectiva de barreras hidrofóbicas mediante el tratamiento con parafilm y corte láser. La diferencia entre las zonas tratadas y no tratadas se comprobó de manera visual y cuantitativa, comprobado con un ángulo de contacto de 96° , que confirmó un comportamiento hidrofóbico y que permitió mantener el flujo del fluido dentro del canal. Este resultado validó el diseño propuesto como funcional, reproducible y adecuado para aplicaciones microfluídicas sencillas.

La optimización de volúmenes permitió concluir que la aplicación de $9\ \mu\text{L}$ de la mezcla de reactivos y $3\ \mu\text{L}$ de muestra de glucosa asegura una cobertura total y una coloración uniforme, lo que permite obtener una respuesta visible y medible. Estos resultados evidencian que el diseño conserva un rendimiento microfluídico eficiente incluso al incrementar el volumen de muestra, lo que respalda su aplicabilidad en pruebas rápidas de diagnóstico.

El análisis cuantitativo utilizando el ROI total del área de reacción evidenció una correlación lineal superior ($R^2 = 0.8715$) y una menor variabilidad en comparación con el ROI central, lo que confirma que el análisis del área completa brinda una representación más exacta y reproducible de la reacción colorimétrica. De igual manera, la comparación entre los métodos de ensamblaje (goma líquida y cinta adhesiva) mostró que, aunque ambos son efectivos, el ensamblaje con cinta adhesiva mostró una respuesta más consistente ($R^2 = 0.9479$) y una menor interferencia en la coloración. En conjunto, estos hallazgos respaldan el empleo de canales ensamblados como un avance significativo en comparación con

las tiras reactivas individuales, ya que presentó un coeficiente de determinación global de $R^2 = 0.944$ que respalda la fiabilidad del sistema propuesto.

A pesar de que el dispositivo no fue probado con muestras biológicas reales, cumplió con los objetivos funcionales y experimentales planteados. El proyecto representa una contribución tangible al campo de los biosensores en papel al demostrar experimentalmente que es posible fabricar un sistema cuantitativo, reproducible y visualmente interpretable empleando recursos mínimos. Este desarrollo constituye un avance inicial sólido en la creación de biosensores accesibles con potencial aplicación biomédica y capacidad para impulsar la evolución de plataformas diagnósticas colorimétricas en entornos con recursos limitados.

El dispositivo propuesto aún puede perfeccionarse, tanto en su diseño microfluídico como en su desempeño analítico. Para que el dispositivo sea más preciso y reproducible, se pueden optimizar diferentes parámetros, como inmovilizar los reactivos enzimáticos (GOx, HRP y KI) y ajustar las concentraciones de los reactivos o el tiempo de secado y el tipo de solvente a utilizar. Con esto, se puede contribuir a que la reacción sea más uniforme y que se obtenga una respuesta colorimétrica más estable en un rango más amplio de concentraciones de glucosa, lo que puede mejorar la sensibilidad en general del dispositivo.

También, sería necesario evaluar la estabilidad enzimática a largo plazo bajo distintas condiciones de almacenamiento, temperatura y humedad. Esto para determinar la vida útil de la tira reactiva y asegurar que el dispositivo mantenga resultados reproducibles en su uso cotidiano. Asimismo, se podrían utilizar diferentes materiales de unión o recubrimiento, como películas de polidimetilsiloxano (PDMS) o adhesivos biocompatibles, que reemplacen el uso de goma líquida o cinta adhesiva y evitar la posibilidad de interferencias con la reacción colorimétrica.

Es importante validar el dispositivo con el uso de muestras biológicas reales, como sangre o saliva, que permitan comprobar su comportamiento con matrices más complejas y su precisión con métodos actuales de medidores de glucosa. Esto permitiría conocer qué tan aplicable podría ser en contextos reales de diagnóstico primario. Además, se fortalecería su desarrollo como herramienta point-of-care.

Por último, el diseño del canal podría adaptarse para la detección de otros analitos (como colesterol, lactato o proteínas séricas) mediante la sustitución del sistema enzimático inmovilizado en la zona de reacción. Esto es posible porque el diseño del dispositivo demostró un flujo uniforme y un transporte eficiente de la muestra hacia el área de reacción, condiciones necesarias para otras reacciones colorimétricas. De esta forma, el dispositivo puede evolucionar hacia una plataforma versátil y multifuncional, útil para distintas pruebas en papel. Con estas mejoras, es posible avanzar hacia una familia de biosensores más robustos, reproducibles y accesibles, orientados a entornos con recursos limitados.

-
- [1] Federación Internacional de Diabetes, *Guatemala*, Consultado el 6 de junio de 2025, 2023. dirección: <https://idf.org/our-network/regions-and-members/south-and-central-america/members/guatemala/>.
 - [2] Fortune Business Insights, *Tamaño del mercado de medidores de glucosa en sangre, participación y análisis de la industria por producto (dispositivos de monitoreo continuo de glucosa, sistemas de autocontrol de glucosa en sangre (SMBG), por técnica (invasiva, no invasiva), por tipo (usable, no usable), por canal de distribución (ventas institucionales, ventas minoristas, otros) y pronóstico regional 2024-2032*, Consultado el 6 de junio de 2025, 2025. dirección: <https://www.fortunebusinessinsights.com/es/industry-reports/blood-glucose-meters-market-100770>.
 - [3] Mayo Clinic, *Análisis de azúcar en sangre: Por qué, cuándo y cómo*, Consultado el 6 de junio de 2025, n.d. dirección: <https://www.mayoclinic.org/es/diseases-conditions/diabetes/in-depth/blood-sugar/art-20046628>.
 - [4] A. St John y C. P. Price, «Existing and emerging technologies for point-of-care testing,» *The Clinical Biochemist Reviews*, vol. 35, n.º 3, págs. 155-167, 2014, Consultado el 17 de marzo de 2025. dirección: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25336761/>.
 - [5] L. A. Pradela-Filho, W. B. Veloso, I. V. S. Arantes et al., «Paper-based analytical devices for point-of-need applications,» *Microchimica Acta*, vol. 190, n.º 179, 2023, Consultado el 6 de junio de 2025. DOI: 10.1007/s00604-023-05764-5.
 - [6] M. F. Morales, «Biosensor de glucosa basado en papel,» Consultado el 6 de junio de 2025, 2024.
 - [7] A. Kamble, G. Samal y B. Toley, *Laser melting of Parafilm-wax: A novel approach for hydrophobic barrier formation in paper-based microfluidics*, ChemRxiv Preprint, Consultado el 10 de julio de 2025, abril de 2025. dirección: <https://chemrxiv.org/engage/chemrxiv/article-details/67fd7877fa469535b9401e79>.
 - [8] National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, *Monitoreo continuo de glucosa*, Consultado el 15 de marzo de 2025, n.d. dirección: <https://www.niddk.nih.gov/health-information/informacion-de-la-salud/diabetes/informacion-general/manejo/monitoreo-continuo-de-glucosa>.

- [9] Farmacias Batres, *Accu-Chek Softclix Kit (lancetas + pinchador)*, Consultado el 22 de marzo de 2025, 2024. dirección: <https://farmaciasbatres.com/ECOMMERCE/DetalleArticulo/16499/accu-check-softclix-kitlancetaspinchador>.
- [10] Cruz Verde Guatemala, *Accu-Check Glucómetro Instant Kit + 10 tiras + 10 lancetas*, Consultado el 22 de marzo de 2025, 2024. dirección: https://cruzverde.com.gt/producto/accu-check-glucometro-instant-kit-10-tiras-10-lancetas/?srsltid=AfmB0opnu5wLkLfeJnbEDCrxsqL1d33oXLi86F826nmjsdKUzBZ_4FVb.
- [11] PriceSmart Guatemala, *Monitores de glucosa*, Consultado el 22 de marzo de 2025, 2024. dirección: <https://www.pricemart.com/es-gt/categoria/Salud-y-belleza-H20D09/Dispositivos-y-aparatos-medicos-H20D09008/Monitores-de-glucosa-H20D09008002/H20D09008002>.
- [12] K. Omidfar, F. Riahi y S. Kashanian, «Lateral flow assay: A summary of recent progress for improving assay performance,» *Biosensors*, vol. 13, n.º 9, pág. 837, 2023, Consultado el 14 de marzo de 2025. DOI: 10.3390/bios13090837. dirección: <https://www.mdpi.com/2079-6374/13/9/837>.
- [13] C. Berli, «Dispositivos de microfluídica basados en papel: orígenes, presente y perspectivas,» *FABICIB*, vol. 20, 2020, Consultado el 15 de marzo de 2025. DOI: 10.14409/FABICIB.V20I0.6098. dirección: https://www.academia.edu/71253064/Dispositivos_de_microflu%C3%ADdica_basados_en_papel_or%C3%ADgenes_presente_y_perspectivas.
- [14] Clínica Universidad de Navarra, *Qué es la glucemia*, <https://www.cun.es/diccionario-medico/terminos/glucemia>, Consultado el 29 de octubre de 2025, 2025.
- [15] E. Vargas, V. Podder y M. A. C. Sepulveda, *Physiology, Glucose Transporter Type 4*. StatPearls - NCBI Bookshelf, 2023. dirección: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537322/>.
- [16] J. Van Gerwen, A. Shun-Shion y D. Fazakerley, «Insulin signalling and GLUT4 trafficking insulin resistance,» *Biochemical Society Transactions*, vol. 51, págs. 1057-1069, 2023. DOI: 10.1042/bst20221066.
- [17] M. Barranquero Gómez, Ó. Oviedo Moreno y Z. Salvador, *¿Qué es la diabetes gestacional? - Causas, síntomas y tratamiento*, <https://www.reproduccionasistida.org/diabetes-gestacional/>, Consultado el 15 de abril de 2025, 2025.
- [18] National Library of Medicine, *Diabetes*, <https://medlineplus.gov/spanish/diabetes.html>, Consultado el 11 de mayo de 2025, 2025.
- [19] MedlinePlus, *Diabetes tipo 1: Enciclopedia médica*, <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/000305.htm>, Consultado el 29 de octubre de 2025, 2025.
- [20] International Union of Pure and Applied Chemistry, *Biosensor. IUPAC Compendium of Chemical Terminology, 5th ed.* <https://doi.org/10.1351/goldbook.B00663>, 2025.
- [21] T. D. Wakde, «Biosensors: Types, Principles, and Emerging Applications – A Comprehensive Review,» *International Journal of Innovative Science and Research Technology*, vol. 10, n.º 7, págs. 1674-1677, 2025. DOI: 10.38124/ijisrt/25jul967.
- [22] A. Heller y B. Feldman, «Electrochemical Glucose Sensors and Their Applications in Diabetes Management,» *Chemical Reviews*, vol. 108, n.º 7, págs. 2482-2505, 2008. DOI: 10.1021/cr068069y.

- [23] D. Bhatia, S. Paul, T. Acharjee y S. Ramachairy, «Biosensors and their widespread impact on human health,» *Sensors International*, 2023. DOI: 10.1016/j.sintl.2023.100257.
- [24] M. Hassan, C. Vyas, B. Grieve y P. Bártolo, «Recent Advances in Enzymatic and Non-Enzymatic Electrochemical Glucose Sensing,» *Sensors (Basel)*, vol. 21, n.º 14, 2021. DOI: 10.3390/s21144672.
- [25] J. Ginty, *Glucose Sensors: What they are & How they work*, <https://agamatrix.com/blog/glucose-sensors/>, 2020.
- [26] I. Lee, N. Loew, W. Tsugawa, K. Ikebukuro y K. Sode, «Development of a third-generation glucose sensor based on the open circuit potential for continuous glucose monitoring,» *Biosensors & Bioelectronics*, vol. 124–125, págs. 216-223, 2019. DOI: 10.1016/j.bios.2018.09.099.
- [27] P. L. Quah, S. M. H. Chai y K. H. Tan, «Differences in glucose readings between continuous glucose monitoring calibration-free interstitial sensors versus capillary blood glucose monitoring by glucometer,» *Metabolism Open*, vol. 22, pág. 100 282, 2024. DOI: 10.1016/j.metop.2024.100282.
- [28] Making Diabetes Easier, *Glucómetro frente a sistema de MCG: ¿en qué se diferencian?* <https://www.makingdiabeteseasier.com/es/gestionando-la-diabetes/niveles-de-glucosa-en-sangre/glucometro-frente-a-sistema-de-mcg-en-que-se>, 2025. visitado 7 de nov. de 2025.
- [29] National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, *Continuous glucose monitoring*, <https://www.niddk.nih.gov/health-information/diabetes/overview/managing-diabetes/continuous-glucose-monitoring>, Consultado el 29 de octubre de 2025, 2025.
- [30] T. Yan, C. Guo, C. Wang y K. Zhu, «Optical biosensing systems for a biological living body,» *View*, vol. 4, 2023. DOI: 10.1002/viw.20220059.
- [31] A. Soni y S. Kumar, «A paper strip based non-invasive glucose biosensor for salivary analysis,» *Biosensors and Bioelectronics*, 2014. DOI: 10.1016/j.bios.2014.09.042.
- [32] E. Jutila, R. Koivunen, R. Bollström y P. Gane, «Fully inkjet-printed glucose assay fabricated on highly porous pigment coating,» *Microfluidics and Nanofluidics*, vol. 24, págs. 1-18, 2020. DOI: 10.1007/s10404-020-02344-4.
- [33] M. B. Kulkarni, N. H. Ayachit, T. M. Aminabhavi y B. W. Pogue, «Recent advances in microfluidics-based paper analytical devices (PADs) for biochemical sensors: From fabrication to detection techniques,» *Biochemical Engineering Journal*, vol. 198, pág. 109 027, 2023. DOI: 10.1016/j.bej.2023.109027.
- [34] S. Boobphahom et al., «Recent Advances in Microfluidic Paper-Based Analytical Devices toward High-Throughput Screening,» *Molecules*, vol. 25, n.º 13, pág. 2970, 2020. DOI: 10.3390/molecules25132970.
- [35] X. Zhou, L. Zhang, H. Chen, W. Xu e Y. Li, «Superhydrophobic cellulose-based materials for paper-based analytical devices,» *Nanomaterials*, vol. 15, n.º 2, pág. 107, 2025. DOI: 10.3390/nano15020107.
- [36] F. Jumah et al., «Point-of-care testing: a review of emerging technologies and future applications in healthcare,» *Diagnostics*, vol. 15, n.º 4, pág. 422, 2025. DOI: 10.3390/diagnostics15040422.

- [37] R. Augustine et al., «Emerging technologies for point-of-care testing in resource-limited settings,» *Trends in Biotechnology*, vol. 43, n.º 3, págs. 350-365, 2025. DOI: 10.1016/j.tibtech.2024.08.007.
- [38] M. Naseri et al., «Recent advancements in paper-based point-of-care diagnostic devices for the detection of human diseases,» *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 176, pág. 112905, 2021. DOI: 10.1016/j.bios.2020.112905.
- [39] M. Sajid, A. N. Kawde y M. Daud, «Designs, formats and applications of lateral flow assay: A literature review,» *Journal of Saudi Chemical Society*, vol. 19, n.º 6, págs. 689-705, 2015. DOI: 10.1016/j.jscs.2014.09.001.
- [40] E. B. Bahadır y M. K. Sezgintürk, «Lateral flow assays: Principles, designs and labels,» *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 82, págs. 286-306, 2016. DOI: 10.1016/j.trac.2016.06.006.
- [41] The Royal Society of Chemistry, *Lateral flow tests: How do they work and what are their limitations?* <https://www.rsc.org/learn-chemistry/resource/res00002244/lateral-flow-tests-how-do-they-work-and-what-are-their-limitations>, Consultado el 25 de octubre de 2025, 2025.
- [42] V. Kishnani, S. Kumari y A. Gupta, «A Chemometric-Assisted Colorimetric-Based Inexpensive Paper Biosensor for Glucose Detection,» *Biosensors*, vol. 12, n.º 11, pág. 1008, 2022, Consultado el 6 de noviembre de 2025. DOI: 10.3390/bios12111008. dirección: <https://doi.org/10.3390/bios12111008>.
- [43] Q. Yong, J. Chang, Q. Liu, F. Jiang, D. Wei y H. Li, «Matt Polyurethane Coating: Correlation of Surface Roughness on Measurement Length and Gloss,» *Polymers*, vol. 12, n.º 2, pág. 326, 2020, Consultado el 24 de octubre de 2025. DOI: 10.3390/polym12020326.
- [44] D. Ahmad, I. Van Den Boogaert, J. Miller, R. Presswell y H. Jouhara, «Hydrophilic and hydrophobic materials and their applications,» *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*, vol. 40, págs. 2686-2725, 2018, Consultado el 24 de octubre de 2025. DOI: 10.1080/15567036.2018.1511642.
- [45] M. Willett, *An introduction to image processing using ImageJ [Slide show; Online]*, University of Southampton, Consultado el 24 de octubre de 2025, n.d. dirección: <https://www.southampton.ac.uk/~assets/doc/Processing%20workshop.pdf>.
- [46] T. Lam, J. Devadhasan, R. Howse y J. Kim, «A Chemically Patterned Microfluidic Paper-based Analytical Device (C- μ PAD) for Point-of-Care Diagnostics,» *Scientific Reports*, vol. 7, 2017, Consultado el 24 de octubre de 2025. DOI: 10.1038/s41598-017-01343-w.
- [47] C. Gallibu, C. Gallibu, A. Avoundjian y F. Gomez, «Easily Fabricated Microfluidic Devices Using Permanent Marker Inks for Enzyme Assays,» *Micromachines*, vol. 7, 2016, Consultado el 24 de octubre de 2025. DOI: 10.3390/mi7010006.
- [48] N. Roustaei, «Application and interpretation of linear-regression analysis,» *Medical Hypothesis, Discovery and Innovation in Ophthalmology*, vol. 13, págs. 151-159, 2024, Consultado el 24 de octubre de 2025. DOI: 10.51329/mehdiophthal1506.

