

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 805 474**

51 Int. Cl.:

**G01N 27/327** (2006.01)  
**C23C 28/00** (2006.01)  
**A61C 19/04** (2006.01)  
**A61B 5/145** (2006.01)  
**A61B 5/1486** (2006.01)  
**H01M 8/16** (2006.01)  
**A61B 10/00** (2006.01)  
**A61B 5/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.01.2015 PCT/US2015/012309**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **30.07.2015 WO15112638**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.01.2015 E 15740704 (0)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.06.2020 EP 3097411**

54 Título: **Biosensores salivales y células de biocombustible**

30 Prioridad:

**21.01.2014 US 201461929946 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**12.02.2021**

73 Titular/es:

**THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA (100.0%)**  
**1111 Franklin Street, 5th Floor**  
**Oakland, CA 94607-5200, US**

72 Inventor/es:

**WANG, JOSEPH y**  
**MERCIER, PATRICK**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

ES 2 805 474 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

**DESCRIPCIÓN**

Biosensores salivales y células de biocombustible

5 **CAMPO TÉCNICO**

Este documento de patente se refiere a tecnologías de detectores moleculares para detectar sustancias biológicas, sustancias químicas y otras sustancias y tecnologías de células de combustible.

10 **ANTECEDENTES**

Los detectores basados en procesos electroquímicos pueden ser usados para detectar una sustancia química o una sustancia biológica (por ejemplo, un organismo) mediante el uso de un elemento transductor para convertir un evento de detección en una señal para su tratamiento y/o visualización. Los biosensores pueden usar materiales biológicos como un componente biológicamente sensible, por ejemplo, tal como biomoléculas que incluyen enzimas, anticuerpos, ácidos nucleicos, etc., de esta manera como células vivas. Por ejemplo, los biosensores moleculares pueden estar configurados para usar propiedades químicas específicas o mecanismos de reconocimiento molecular para identificar agentes objeto. Los biosensores pueden usar el elemento transductor para transformar una señal resultante de la detección de un analito por el componente biológicamente sensible en una señal diferente que puede ser abordada mediante medios ópticos, electrónicos u otros medios. Por ejemplo, los mecanismos de transducción pueden incluir mecanismos fisicoquímicos, electroquímicos, ópticos, piezoeléctricos, así como otros medios de transducción. Ejemplos de biosensores se describen en las patentes EP 2682745 A1 y US 2011/0319734 A1.

Una célula de combustible es un dispositivo que convierte la energía química de una sustancia (por ejemplo, denominada combustible) en energía eléctrica (por ejemplo, electricidad). Generalmente, la conversión de energía incluye una reacción química con oxígeno u otro agente oxidante. Por ejemplo, el hidrógeno se encuentra entre los combustibles comunes, y los hidrocarburos como el gas natural y los alcoholes pueden ser usados también en las células de combustible. Por ejemplo, las células de combustible difieren de las baterías en que requieren una fuente constante de combustible y oxígeno para funcionar, pero pueden producir electricidad continuamente siempre que las entradas de combustible y oxígeno sean suministradas a la célula de combustible.

30 **COMPENDIO**

Se describen dispositivos y sistemas basados en la boca que funcionan como biosensores y células de biocombustible (BFC). En algunas implementaciones, los dispositivos de biosensor de metabolitos de saliva utilizables incluyen electrodos enzimáticos imprimibles integrados en un protector bucal que exhiben alta sensibilidad, selectividad y estabilidad usando muestras completas de saliva humana para proporcionar información no invasiva y en tiempo real sobre la salud, la conducta y el nivel de estrés del usuario. En algunas implementaciones, los dispositivos utilizables de células de biocombustible usados en la boca incluyen estructuras formadas en la superficie de un protector bucal para extraer energía de la saliva. Las aplicaciones de los dispositivos y sistemas descritos incluyen monitorización biomédica y de estado físico y BFC utilizables para alimentar varios dispositivos utilizables/utilizables.

40 Por un lado, un dispositivo detector electroquímico para detectar analitos en la saliva incluye un sustrato que incluye un material eléctricamente aislante; un primer electrodo dispuesto sobre el sustrato en una primera localización, en la que el primer electrodo incluye una superficie que incluye una sustancia química que incluye un catalizador o un reactivo correspondiente a un analito en saliva; y un segundo electrodo dispuesto sobre el sustrato en una segunda localización separada del primer electrodo por una región de separación, el primer y segundo electrodos que pueden 45 mantener una reacción redox que incluye la sustancia química y el analito para producir una señal eléctrica, de manera que, cuando el dispositivo está presente en la boca de un usuario y acoplado eléctricamente a un circuito eléctrico, el dispositivo es operable para detectar el analito en la saliva del usuario.

50 Por un lado, un método para detectar un analito en la saliva y alimentar un dispositivo a partir de la saliva incluye la extracción de energía eléctrica, en los electrodos de ánodo y cátodo de una célula de biocombustible fijada a un dispositivo basado en la boca que puede ser usado en la boca de un usuario, de una sustancia de biocombustible presente en la saliva convirtiendo la sustancia de biocombustible en un primer producto en un proceso de oxidación que libera electrones capturados en el ánodo y reduciendo una sustancia química en la saliva a un segundo producto en un proceso de reducción química en el que el segundo producto gana electrones en el cátodo; suministrar la energía 55 eléctrica extraída a los electrodos de un detector electroquímico fijado al dispositivo basado en la boca para activar el detector electroquímico; y detectar, en los electrodos del detector electroquímico activado en contacto con la saliva en la boca del usuario, una señal eléctrica producida como resultado de una reacción redox que involucra un analito en la saliva y un agente químico acoplado a un electrodo del detector electroquímico.

60 Por un lado, un dispositivo para detectar un analito en la saliva y alimentar un dispositivo a partir de la saliva incluye un sustrato que incluye un material eléctricamente aislante, en el que el sustrato está estructurado para estar fijado a un dispositivo de uso bucal que puede caber dentro de la boca del usuario; un detector electroquímico para detectar un analito salival; una célula de biocombustible para extraer electroquímicamente energía de la saliva para proporcionar energía eléctrica al dispositivo, y un circuito eléctrico acoplado eléctricamente entre la célula de 65 biocombustible y el detector electroquímico por medio de interconexiones eléctricas para obtener la energía extraída

en forma de energía eléctrica de la célula de biocombustible y suministrar la energía eléctrica al detector electroquímico. El detector electroquímico incluye un primer electrodo dispuesto sobre el sustrato en una primera localización, en la que el primer electrodo incluye una superficie que incluye una sustancia química que incluye un catalizador o un reactivo correspondiente al analito salival; y un segundo electrodo dispuesto sobre el sustrato en una segunda localización separada del primer electrodo por una separación, en la que el primero y el segundo electrodos son operables para mantener una reacción redox que involucra la sustancia química y el analito salival para producir una señal eléctrica detectable por el primero y el segundo electrodos. La célula de biocombustible incluye un ánodo dispuesto sobre el sustrato e incluye un material eléctricamente conductor, el ánodo incluye un catalizador de la célula de combustibles para facilitar la conversión de una sustancia combustible en la saliva a un primer producto en un proceso de oxidación que libera electrones capturados por el ánodo, extrayendo de esta manera la energía de la sustancia combustible, y un cátodo dispuesto en el sustrato adyacente a y separado del ánodo, el cátodo incluye un material que es eléctricamente conductor y que puede reducir una sustancia oxigenada de la saliva a un segundo producto en un proceso de reducción química en el que el segundo producto gana electrones. Cuando el dispositivo está presente en la boca del usuario, el dispositivo es operable para detectar el analito salival en la saliva del usuario.

La materia objeto de este documento de patente puede ser implementada de maneras específicas que proporcionan una o más de las siguientes características. Por ejemplo, los sistemas y dispositivos descritos pueden monitorizar en tiempo real los metabolitos y los componentes electroactivos de la saliva y pueden ofrecer una captación continua de energía para alimentar la electrónica de la boca. La invención presente se expone en las reivindicaciones adjuntas.

#### DESCRIPCIÓN BREVE DE LOS DIBUJOS

La Figura 1A muestra una ilustración esquemática de un dispositivo detector electroquímico salival ejemplar de la tecnología descrita empleada en un protector bucal.

La Figura 1B muestra una ilustración esquemática de una configuración de electrodo ejemplar del dispositivo de la Figura 1A diseñado para la monitorización del lactato salival.

La Figura 1C muestra un diagrama de bloques de una realización ejemplar de un dispositivo celular de biocombustible de la tecnología actual.

La Figura 1D muestra una ilustración esquemática de un biosensor salival integrado y de un dispositivo de célula de combustible de la tecnología descrita empleada en un protector bucal.

La Figura 2 muestra un gráfico de datos cronoamperográficos de resultados ejemplares que representan el intervalo dinámico del dispositivo biosensor electroquímico salival ejemplar en la detección de lactato.

La Figura 3 muestra un gráfico de datos de resultados ejemplares que muestran la selectividad del dispositivo biosensor electroquímico salival ejemplar en presencia de compuestos electroactivos fisiológicamente relevantes.

La Figura 4 muestra un gráfico de datos de resultados ejemplares que muestran la estabilidad de la respuesta electroquímica del biosensor del protector bucal ejemplar al lactato a lo largo del tiempo.

La Figura 5 muestra un gráfico de datos cronoamperográficos de resultados ejemplares que muestran la respuesta del biosensor del protector bucal ejemplar al lactato en una muestra de saliva humana.

La Figura 6 muestra un gráfico de datos de resultados ejemplares que muestran la estabilidad de respuesta del biosensor del protector bucal ejemplar a una muestra de saliva humana.

La Figura 7 muestra una ilustración esquemática de un dispositivo detector electroquímico salival ejemplar empleado en un protector bucal, que incluye una ilustración ampliada de una configuración de electrodo ejemplar del dispositivo diseñado para la monitorización de la glucosa salival.

La Figura 8 muestra un gráfico de datos cronoamperográficos de resultados ejemplares obtenidos para aumentar la concentración de glucosa mediante un dispositivo biosensor electroquímico salival ejemplar.

La Figura 9 muestra un diagrama de bloques de un dispositivo detector electroquímico ejemplar de la tecnología descrita que puede ser implementado en dispositivos protectores bucales ejemplares, tales como los mostrados en las Figuras 1A y la Figura 7A, por ejemplo.

La Figura 10A muestra una ilustración esquemática y un diagrama de un biosensor integrado, una célula de biocombustible y una plataforma de dispositivo electrónico empleada en un protector bucal.

La Figura 10B muestra un diagrama de bloques de una unidad ejemplar de tratamiento electrónico y comunicaciones de la plataforma integrada.

La Figura 11A muestra una fotografía de un detector electroquímico de serigrafía ejemplar de la tecnología descrita integrada en un protector bucal.

La Figura 11B muestra una ilustración esquemática de una configuración de electrodo ejemplar de un biosensor de ácido úrico salival ejemplar que incluye una capa de reactivo del electrodo de trabajo sobre un sustrato.

La Figura 12A muestra datos cronoamperográficos que representan la respuesta de un biosensor de ácido úrico ejemplar obtenido para aumentar las concentraciones de ácido úrico.

La Figura 12B muestra resultados ejemplares de la respuesta del biosensor ejemplar al ácido úrico en presencia de interferencias fisiológicas electroactivas comunes.

La Figura 12C muestra resultados ejemplares de la estabilidad de la respuesta electroquímica del biosensor ejemplar al ácido úrico a lo largo del tiempo muestreado a múltiples intervalos.

La Figura 13A muestra datos cronoamperométricos que representan la respuesta electroquímica de un biosensor de ácido úrico ejemplar en saliva humana no diluida.

La Figura 13B muestra un gráfico de datos que representa la estabilidad de los datos de respuesta en la saliva humana.

La Figura 14A muestra un gráfico de datos de los niveles de ácido úrico salival obtenidos mediante monitorización continua usando un biosensor ejemplar en una persona sana y en un paciente con hiperuricemia.

La Figura 14B muestra un gráfico de datos de los niveles de ácido úrico salival del paciente con hiperuricemia monitorizado por el biosensor ejemplar durante varios días mientras está sometido a tratamiento.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA

Los biosensores utilizables han ganado un interés considerable debido a su promesa de monitorizar en tiempo real la salud y el estado físico del usuario en un amplio intervalo de escenarios biomédicos, deportivos y militares. El trabajo anterior en dispositivos y sistemas de biosensores utilizables se ha centrado típicamente en la monitorización de los signos vitales de las señales físicas, tales como la electrocardiografía y la oximetría de pulso. Sin embargo, los detectores electroquímicos utilizables no invasivos pueden proporcionar información útil sobre el estado de salud general y la conducta de las personas más allá de solamente los parámetros físicos.

Los biosensores pueden ser usados para detectar biomarcadores químicos en fluidos humanos que pueden ser obtenidos de manera no invasiva, por ejemplo, lágrimas, sudor o saliva. De estos fluidos ejemplares, la saliva puede ser extremadamente atractiva para esta monitorización no invasiva, en parte debido a su disponibilidad continua y conveniente. Además, la saliva tiene una buena correlación con las concentraciones de sangre de numerosos analitos. Dicha correlación refleja la penetración de múltiples constituyentes de la sangre a la saliva a través de caminos transcelulares o paracelulares. Por ejemplo, la sialoquímica puede ser una alternativa no invasiva útil en el análisis de sangre para monitorizar los estados hormonales, de estrés y metabólicos de los individuos. Los sistemas de detectores salivales existentes, tales como los detectores de pH y temperatura basados en dentaduras postizas o los citosensores de bacterias, son unidades permanentes que no pueden ser utilizados como biosensores utilizables no invasivos para monitorizar los metabolitos salivales, por ejemplo, a pesar de la alta correlación establecida entre el nivel de metabolitos salivales y su concentración sanguínea correspondiente.

Además, los dispositivos del tipo protector bucal representan un ejemplo para el desafío de la integración 3D de detectores y electrónica dentro de un dispositivo utilizable. Dichos dispositivos ofrecen un potencial único para detectar biomarcadores en tiempo real en la saliva con la capacidad de proporcionar información compleja y continua sobre el bienestar del usuario. Actualmente, hay protectores bucales de monitorización de impacto en el mercado. Sin embargo, estos dispositivos de protección bucal de monitorización de impacto están destinados principalmente a las lesiones relacionadas con impactos en los deportes y no implican la detección química o la captación de energía.

Se describen detectores electroquímicos utilizables y técnicas, sistemas y dispositivos de generación de energía que detectan y utilizan metabolitos en la saliva de la boca de un usuario.

Los dispositivos utilizables de biosensores y células de biocombustible (BFC) de la tecnología descrita pueden incluir electrodos enzimáticos imprimibles integrados en un protector bucal que exhiben alta sensibilidad, selectividad y estabilidad y usan muestras completas de saliva humana para proporcionar información no invasiva y en tiempo real sobre la salud del usuario, rendimiento y nivel de estrés. Los dispositivos biosensores y BFC usados en la boca descritos pueden incluir estructuras formadas en la superficie de un protector bucal para extraer energía de la saliva. Las aplicaciones de los dispositivos y sistemas descritos incluyen monitorización biomédica y de estado físico y BFC utilizables para alimentar varios dispositivos utilizables/portátiles.

Por un lado, la tecnología descrita incluye biosensores electroquímicos no invasivos, que pueden ser empleados en un protector bucal u otro artículo utilizable en la boca de un usuario, para proporcionar una monitorización continua de los metabolitos salivales. En este documento de patente se describen realizaciones ejemplares de los dispositivos detectores electroquímicos descritos, y se realizaron implementaciones ejemplares que demuestran el concepto de biosensor en la boca, que incluye un biosensor enzimático amperométrico imprimible ejemplar integrado en una plataforma de protector bucal fácilmente extraíble para la monitorización no invasiva de analitos salivales, por ejemplo, incluyendo lactato. Por ejemplo, los dispositivos detectores electroquímicos ejemplares pueden emplear uno o más tipos de enzimas en los electrodos que son seleccionados para interactuar con analitos objeto (por ejemplo, el sustrato enzimático correspondiente) en la saliva. El protector bucal que emplea los dispositivos biosensores electroquímicos descritos puede incluir un dispositivo de células de biocombustible a base de saliva para extraer energía a partir de los constituyentes químicos de la saliva, que pueden ser usados para alimentar los dispositivos biosensores electroquímicos y circuitos eléctricos y/o dispositivos electrónicos incorporados en el protector bucal.

Los protectores bucales son ampliamente usados por los atletas en deportes competitivos y recreativos, ya que ofrecen una protección considerable contra las lesiones dentales relacionadas con el deporte. Los protectores bucales son típicamente artículos poliméricos diseñados que se ajustan firme y cómodamente sobre los dientes, y representan una plataforma atractiva con suficiente volumen para montar detectores miniaturizados, electrónica de control/adquisición y transmisores inalámbricos. A diferencia de los detectores de saliva residentes permanentes mencionados anteriormente, la tecnología descrita incluye dispositivos de detectores electroquímicos empleados en un protector

bucal que puede ser usado y reemplazado fácilmente sin ninguna asistencia especializada. Es importante destacar que, dado que el detector y el dispositivo actuador de ejemplo están configurados para estar siempre en contacto directo con la saliva, la información fisiológica puede ser medida en tiempo real sin interrupción, lo que abre una nueva vía para la evaluación continua de los cambios dinámicos de metabolitos.

5 Se describen diseños ejemplares de dispositivos y sistemas y técnicas operativas de biosensores amperométricos basados en protectores bucales y células de biocombustible de la tecnología actual que utilizan metabolitos, especies electroactivas y biocombustibles presentes de forma natural en la saliva.

10 La Figura 1A muestra una ilustración esquemática de un dispositivo detector electroquímico salival 100 de la tecnología descrita empleada en un protector bucal que puede ser usado en la boca de un usuario. El detector electroquímico 100 incluye un sustrato 101 que incluye un material eléctricamente aislante. El detector electroquímico 100 incluye un contingente de electrodo 102 que incluye dos o más electrodos dispuestos sobre el sustrato 101. Por ejemplo, los electrodos del contingente de electrodo 102 pueden incluir un material eléctricamente conductor, que puede incluir un material electrocatalítico. En una realización, el contingente de electrodo 102 incluye un electrodo de trabajo y un contraelectrodo. El electrodo de trabajo está dispuesto sobre el sustrato 101, y el contraelectrodo está dispuesto sobre el sustrato 101 en una localización separada del electrodo de trabajo (por ejemplo, por un espacio). El electrodo de trabajo está configurado en una estructura de electrodo 102a, según se muestra en la Figura 1B. La estructura del electrodo 102a incluye un material conductor de la electricidad 106 dispuesto sobre el sustrato 101, en el que el material conductor de la electricidad 106 está cubierto por una capa de transductor electroquímico 107 que incluye una sustancia química para causar una reacción electroquímica que es detectable en los electrodos del electrodo contingente 102. Por ejemplo, en algunas implementaciones, la sustancia química incluye un catalizador para catalizar selectivamente un analito correspondiente de la saliva para causar o facilitar una reacción que produce una señal detectable en los electrodos 102. En algunas implementaciones, por ejemplo, la sustancia química contenida en la capa 107 incluye un reactivo químico para que reaccione químicamente con el analito correspondiente de la saliva para crear la señal detectable en los electrodos 102. Los electrodos 102 pueden mantener una reacción redox para producir una especie cargada eléctricamente que puede ser transducida en forma de una señal eléctrica en los electrodos, de manera que, cuando el dispositivo detector electroquímico 100 está presente en la boca de un usuario y está acoplado eléctricamente a un circuito eléctrico, el dispositivo detector 100 es operable para detectar el analito químico en la saliva de la boca del usuario. En el ejemplo mostrado en la Figura 1B, la sustancia química contenida en la capa 107 del transductor electroquímico incluye lactato oxidasa (LOx), que puede catalizar una reacción redox con lactato (por ejemplo, el analito seleccionado en la saliva a ser detectado) que genera la señal eléctrica en los electrodos 102.

35 En la realización ejemplar del dispositivo biosensor salival 100 mostrado en las Figuras 1A y 1B, el contingente de electrodo 102 incluye tres electrodos: un electrodo de trabajo que incluye la estructura de electrodo 102a, el contraelectrodo y un electrodo de referencia que incluye la estructura de electrodo 102a situada entre el electrodo de trabajo y el contraelectrodo. En algunas realizaciones, por ejemplo, el dispositivo detector electroquímico 100 puede incluir una matriz de los contingentes de electrodo 102, por ejemplo, tal como una matriz de electrodos de trabajo, contraelectrodos y/o electrodos de referencia.

45 En algunos aspectos, el dispositivo biosensor salival 100 puede estar integrado en una célula de biocombustible salival y en un circuito eléctrico (por ejemplo, que incluye tratamiento de datos y electrónica de comunicación) en el protector bucal u otra plataforma basada en la boca, que genera energía eléctrica para ser suministrada al circuito eléctrico y al dispositivo biosensor de manera que el dispositivo integrado puede proporcionar monitorización autónoma y continua de sustancias en la saliva de un usuario. Las células de biocombustibles son una clase de dispositivos de células de combustible que emplean enzimas o microbios en forma de un contingente de biotratamiento para extraer energía de diversas sustancias combustibles, como compuestos orgánicos, bioquímicos y/o biológicos que pueden ser encontrados en una variedad de medios biológicos. Las células de biocombustible de la tecnología actual pueden proporcionar una fuente de suministro de energía segura y sostenible para alimentar el biosensor salival y la electrónica, al tiempo que aumentan mínimamente la huella de la plataforma general del dispositivo empleada en el protector bucal u otro dispositivo bucal utilizado. Las células de biocombustible de la tecnología actual incluyen materiales biocompatibles para convertir de forma segura la energía química del entorno en el que son empleados en energía eléctrica suministrada a dispositivos detectores que monitorizan continuamente el mismo entorno. Las células de biocombustibles descritas pueden ser ventajosas respecto a las baterías u otras fuentes de alimentación desplegadas en el campo porque proporcionan una mayor densidad de energía (por ejemplo, en el caso de las baterías y la energía fotovoltaica), una vida útil más larga y un peso más ligero (por ejemplo, en el caso de las baterías). Por ejemplo, al emplear los dispositivos de células de biocombustibles descritos para alimentar el detector salival y la electrónica del dispositivo basado en la boca, se eliminan los riesgos peligrosos asociados con la extracción química de las unidades de batería. La tecnología descrita incluye dispositivos de células de biocombustible que pueden transferir electrones directamente de biocatalizadores seleccionados en la saliva, que los dispositivos de células de biocombustible integran con los dispositivos de biosensores en una plataforma basada en la boca.

65 La Figura 1C muestra un diagrama de bloques de una realización ejemplar de un dispositivo celular de biocombustible 120 de la tecnología actual. El dispositivo de célula de biocombustible 120 incluye un electrodo de ánodo 122 y un

electrodo de cátodo 123 en un sustrato (por ejemplo, el sustrato 101 del dispositivo detector electroquímico 100), en el que el electrodo de ánodo 122 y el electrodo de cátodo 123 están dispuestos adyacentes y separados uno de otro por una región de separación. El electrodo de ánodo 122 incluye una capa de catalizador 127 que contiene un catalizador para una sustancia de biocombustible (por ejemplo, que se encuentra en la saliva), en la que la capa de catalizador 127 puede estar configurada respecto al ánodo 122 al menos en una de las siguientes configuraciones: (1) la capa de catalizador 127 está integrada dentro del electrodo de ánodo 122, es decir, el catalizador está disperso dentro del material anódico del electrodo de ánodo 122; (2) el catalizador está cubriendo la superficie del electrodo de ánodo 122 para formar la capa catalizadora 127, que puede estar electrostáticamente anclada o covalentemente unida a la superficie del electrodo de ánodo 122; y (3) la capa de catalizador 127 está estructurada para incluir un polímero conductor electropolimerizado formado en la superficie del electrodo de ánodo 122 para atrapar el catalizador dentro de la película de polímero, y/o la capa de catalizador 127 está estructurada para incluir una estructura de armadura selectivamente permeable, por ejemplo, tal como Nafion o quitosano, formada en la superficie del electrodo de ánodo 122 para atrapar el catalizador dentro de la armadura. El dispositivo de biocombustible 120 incluye interconexiones individuales 124 que están acopladas eléctricamente al ánodo y a los electrodos de cátodo 122 y 123, respectivamente, para conectar eléctricamente los electrodos de ánodo y de cátodo a la carga a la que se suministra la energía extraída, por ejemplo, el dispositivo detector electroquímico 100

Durante la operación, el fluido de saliva electrolítica que contiene la sustancia combustible hace contacto con la superficie de la célula de biocombustible 120 de manera que la saliva puede sumergir el espacio entre el electrodo de ánodo 122 y el electrodo de cátodo 123. El catalizador es seleccionado para facilitar la conversión de una sustancia combustible correspondiente (por ejemplo, constituyente de biocombustible) en la saliva a un primer producto mediante un proceso de oxidación que libera electrones capturados en el ánodo, extrayendo de esta manera la energía de la sustancia combustible, en la que el cátodo puede reducir una sustancia oxigenada en el fluido biológico a un segundo producto en un proceso de reducción química en el que el segundo producto gana electrones, en el que el dispositivo de biocombustible 120 obtiene la energía extraída en forma de energía eléctrica. El fluido electrolítico puede incluir diversos componentes de biocombustibles, por ejemplo, tales como glucosa, ácido láctico, ácido úrico u otros. Por ejemplo, el catalizador contenido en la capa de catalizador 127 puede incluir LOx, GOx o uricasa, u otro catalizador (por ejemplo, oxidasa o deshidrogenasa) correspondiente a una sustancia de biocombustible en la saliva. En algunas realizaciones del dispositivo de células de biocombustible 120, el dispositivo de células de biocombustible puede incluir un separador de membrana de intercambio de protones fijado al sustrato 101 empleado en la región de separación para inhibir la conducción de electrones a través del medio electrolítico.

La Figura 1D muestra una ilustración esquemática de un biosensor salival integrado y un dispositivo de célula de combustible de la tecnología descrita empleado en un protector bucal que puede ser llevado en la boca de un usuario. El dispositivo integrado de célula de combustible con detector puede incluir el dispositivo de detector electroquímico 100 (por ejemplo, en una configuración de dos o tres electrodos) y el dispositivo de célula de biocombustible 120 que hace eléctricamente de interfaz a un circuito eléctrico 150. El circuito 150 puede incluir elementos de circuito eléctrico (por ejemplo, elementos de impedancia, diodos, transistores, etc.) y/o componentes electrónicos (por ejemplo, procesadores, convertidores A/D, transmisor/receptor inalámbrico, electrónica de instrumentación, etc.) para proporcionar acondicionamiento de señales, tratamiento de señales y datos, almacenamiento, y/o comunicación. Por ejemplo, el circuito 150 puede estar configurado para controlar las técnicas de análisis electroquímico para detectar el analito salival o análisis de interés mediante el detector 100, por ejemplo, incluyendo pero no estando limitado a la cronoamperometría, cronopotentiometría, voltamperometría, voltametría cíclica, técnicas electroquímicas de barrido lineal, polarografía, técnicas de análisis electroquímico pulsado, espectroscopía de impedancia, etc.

En el ejemplo mostrado en la Figura 1D, el dispositivo de célula de biocombustible ejemplar 120 incluye una matriz interdigitada de los electrodos de ánodo y cátodo 122 y 123 configurados sobre el sustrato 101. Los electrodos de ánodo y cátodo 122 y 123 forman una matriz y están conectados a los conductos 124 que están eléctricamente conectados al circuito 150. En algunas implementaciones del dispositivo de célula de biocombustible 120, la matriz de células de biocombustible puede incluir además una capa subyacente eléctricamente conductora, por ejemplo, formada por un material eléctricamente conductor tal como plata o cobre, en el sustrato 101 y debajo de la matriz interdigitada de los electrodos de ánodo y cátodo 122 y 123 y conductos 124. En algunas implementaciones, el dispositivo de célula de biocombustible 120 puede incluir además una región de depósito en el sustrato 101 estructurada para contener el fluido biológico en una región que rodea la matriz interdigitada de los electrodos de ánodo y cátodo 122 y 123.

#### Biosensores de lactato ejemplares

En una realización, se describe un dispositivo biosensor basado en un protector bucal no invasivo para la monitorización salival continua del ácido láctico (o lactato) del metabolito salival mediante monitorización amperométrica. Por ejemplo, las concentraciones de lactato salival se corresponden bien con los niveles de lactato en sangre y han sido usadas in vitro para monitorizar los niveles de aptitud física. Por tanto, la saliva puede ser adecuada como fluido para la monitorización continua no invasiva de los niveles de lactato durante las actividades deportivas. El sistema biosensorial oral utilizable ejemplar descrito en esta memoria incluye un transductor imprimible de azul de Prusia (PB) y una capa de reactivo de poli-ortofenilendiamina (PPD)/lactato-oxidasa (LOx). Por ejemplo, el transductor de azul de Prusia puede actuar como "peroxidasa artificial", que ofrece una detección altamente selectiva del producto

- de peróxido de hidrógeno de las reacciones biocatalíticas de la oxidasa. El PB puede ser usado para el tratamiento oral de la intoxicación por metales pesados, por ejemplo, talio y cesio, y su uso parece ser muy seguro en condiciones fisiológicas, incluso después de altas dosis orales. La polorthofenilendiamina (PPD) es empleada para el atrapamiento electropolimérico de oxidasas, el rechazo de posibles interferencias y la protección de la superficie del biosensor. El acoplamiento de la detección de potencial extremadamente bajo del producto de peróxido que proporciona el transductor PB y la exclusión de los componentes electroactivos de la saliva completa conduce a una alta selectividad y estabilidad. Una realización del dispositivo detector de lactato salival ejemplar puede incluir el dispositivo detector electroquímico 100 mostrado en las Figuras 1A y 1B.
- 5 A continuación, se describen diseños ejemplares y caracterizaciones in vitro del biosensor basado en un protector bucal ejemplar usado en implementaciones de monitorización continua de lactato en la boca. El biosensor enzimático protector bucal ejemplar, que incluye un electrodo enzimático imprimible que incluye lactato de oxidasa inmovilizada, puede detectar bajos potenciales del producto de peróxido y exhibe alta sensibilidad, selectividad y estabilidad usando muestras completas de saliva humana. El dispositivo ejemplar puede ser usado para ofrecer información útil en tiempo real sobre la salud, la conducta y el nivel de estrés de un usuario y, por tanto, es muy prometedor para diversas aplicaciones biomédicas y de aptitud física. Otros compuestos bioquímicos presentes en la saliva pueden ser usados además en otras implementaciones ejemplares de los dispositivos biosensores descritos.
- 10 Las implementaciones ejemplares del biosensor de lactato protector bucal ejemplar incluyeron los siguientes productos químicos y reactivos. Se obtuvo L-lactato oxidasa (LOx) (actividad: 101 U/mg). Se obtuvieron 1,2-fenilendiamina (o-Pd), ácido L-láctico, ácido L-ascórbico (AA), ácido úrico (AU), sulfato de sodio, fosfato de potasio monobásico, fosfato de potasio dibásico y cloruro de sodio y fueron usados sin purificación o modificación adicional. Se empleó agua ultrapura (18,2 M  $\Omega$ -cm) en las implementaciones ejemplares.
- 15 Las implementaciones ejemplares del biosensor de lactato protector bucal ejemplar incluyeron la instrumentación siguiente. Se empleó un analizador modelo 440 de CH Instruments para las mediciones electroquímicas. Se realizaron estudios cronoamperométricos para evaluar la respuesta de los detectores de protección bucal. Por ejemplo, los potenciales aplicados en las implementaciones ejemplares fueron contra el electrodo de referencia pseudo Ag/AgCl impreso mediante serigrafía a temperatura ambiente (por ejemplo, 22 °C). Se usó una impresora de pantalla semiautomática MPM SPM para imprimir electrodos. Los patrones de detectores ejemplares fueron diseñados usando AutoCAD, y las plantillas fueron pautadas en plantillas de acero inoxidable de 75  $\mu$ m de espesor.
- 20 El dispositivo detector electroquímico basado en la boca ejemplar mostrado en las Figuras 1A y 1B puede ser fabricado usando las siguientes técnicas de fabricación e integrado en un protector bucal. En un ejemplo, los biosensores de protector bucal fueron fabricados mediante serigrafía de tres capas separadas en un sustrato de PET flexible, por ejemplo, tereftalato de polietileno. En la primera capa, se imprimió primero una tinta conductora Ag/AgCl (por ejemplo, 124 - 36, grado médico, de Creative Materials Inc., MA USA) para proporcionar el electrodo de referencia, así como los contactos para conectar los tres electrodos al analizador electroquímico. Se imprimió una segunda capa, por ejemplo, aplicada a los electrodos de trabajo y auxiliares, a partir de una tinta de grafito de azul de Prusia (por ejemplo, C2070424P2, de Gwent Inc., Torfaen, UK). En algunas implementaciones, una tercera capa, que sirvió como capa aislante, puede ser impresa sobre el sustrato 101 con aberturas en la capa aislante que exponen ciertas regiones de los electrodos para facilitar la detección electroquímica (por ejemplo, usando pasta DuPont 5036 Dielectric). Por ejemplo, la capa aislante fue usada para cubrir los contactos expuestos de plata-epoxi y Ag/AgCl. Después de cada paso de impresión, las capas impresas fueron curadas a 80 °C. durante 20 min. Posteriormente, el sistema de electrodo impreso fue fijado al sustrato de PET del cuerpo del protector bucal en la región interior del protector bucal, según se muestra en la Figura 1A, usando un adhesivo de doble cara. En esta implementación ejemplar, el analizador electroquímico fue conectado a cables dispuestos a través de orificios dentro del cuerpo del protector bucal que se fijaron a los contactos Ag/AgCl por medio de un epoxi plateado.
- 25 El lactato de oxidasa (LOx) fue inmovilizado en la superficie del electrodo de trabajo mediante atrapamiento electropolimérico en una película de poli(o-fenilendiamina) (PPD). Esto se consiguió, por ejemplo, usando una solución tampón de fosfato 0,1 M (pH 7,0) que contenía o-Pd 10 mM, sulfato de sodio 5 mM y LOx 800 U/ml, que fue purgado con nitrógeno durante 20 minutos. El transductor imprimible de protección bucal fue sumergido en la solución de polimerización. En este ejemplo, se aplicó posteriormente un potencial de 0,55 V (contra Ag/AgCl) durante 1 minuto para hacer que creciera la película PPD atrapada en LOx. Después del proceso de electropolimerización, el detector ejemplar fue enjuagado y sumergido en una solución tampón de fosfato 0,1 M (pH 7,0) durante 20 minutos para eliminar los residuos monoméricos de la superficie del electrodo, así como cualquier enzima no unida. La Figura 1B muestra el esquema del transductor de electrodo de trabajo modificado ejemplar en la plataforma del protector bucal para la monitorización de lactato salival.
- 30 Se realizaron caracterizaciones electroquímicas ejemplares usando el dispositivo detector electroquímico salival ejemplar en una matriz tampón. Por ejemplo, la conducta electroquímica del detector de lactato protector bucal ejemplar fue evaluada en una solución tampón de 0,1 M de fosfato (pH 7,0) que contenía 20 mM de NaCl (PBS) (imitando la concentración de Cl en la saliva humana). Las mediciones cronoamperométricas de lactato en el dispositivo biosensor PB-PPD-LOx ejemplar fueron realizadas aumentando el potencial a 0,042V (contra Ag/AgCl)
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65

durante 60 s después de 2 minutos de incubación en la solución de muestra. La corriente fue muestreada después de 60 s. En estas implementaciones, el potencial aplicado fue elegido basándose en la voltamperometría cíclica del transductor PB-carbono, donde la reducción del peróxido de hidrógeno produjo la corriente máxima. Se examinó la estabilidad del biosensor en lactato 0,5 mM a intervalos de 10 min durante una operación de 2 h. El detector ejemplar se mantuvo en 0,1 M de PBS entre dichas mediciones sucesivas.

Se recogieron muestras de saliva humana de voluntarios sanos en condiciones de ayuno (por ejemplo, al menos 8 horas) usando, por ejemplo, el "método de babeo pasivo". Las muestras recogidas se mantuvieron a temperatura ambiente para permitir que precipitaran sus sedimentos y el sobrenadante se usó directamente (sin dilución) para mediciones electroquímicas. Debido a la alta viscosidad de las muestras completas de saliva, fueron mezclados 50  $\mu$ L alícuotas de saliva sin diluir con diferentes concentraciones de lactato y fueron agitados en remolino durante un minuto. La concentración de lactato en las muestras de saliva fue determinada por medio del método de adición estándar.

Se realizaron mediciones electroquímicas de muestras de saliva enriquecida utilizando las mismas condiciones utilizadas en la matriz tampón (por ejemplo,  $E_{APP} = 0,042V$  durante 60 s). Las mediciones prolongadas de dichas muestras de saliva entera fueron realizadas cambiando la muestra cada 10 minutos para imitar el flujo de saliva reabastecido en la boca (no estimulado: 1 ml/min, estimulado: 2 ml/min). El detector ejemplar fue mantenido en la saliva entre dichas mediciones sucesivas.

Se describen resultados ejemplares de estas implementaciones. La concentración de lactato de la saliva humana varía según el metabolismo y la conducta física de una persona, con altas correlaciones observadas entre la sangre (hasta  $17,3 \pm 1,9$  mM) y los niveles de lactato salival (hasta  $1,6 \pm 0,4$ ). Por tanto, un amplio intervalo de detección lineal de lactato y un tiempo de respuesta rápido son esenciales para realizar una monitorización continua en la boca del lactato en la saliva. Para abordar las posibles interferencias en muestras complejas de saliva cruda, por ejemplo, la enzima LOx comúnmente utilizada fue inmovilizada en un transductor imprimible basado en PB por atrapamiento dentro de una película de PPD. El biosensor ejemplar PB-PPD-LOx, montado en el protector bucal, fue evaluado primero en un medio tampón de fosfato.

El intervalo de concentración dinámica fue examinado en respuesta al aumento de los niveles de lactato en el intervalo del lactato 0,1 - 1,0 mM usando un bajo potencial de 0,042V (contra Ag/AgCl). La Figura 2 muestra cronoamperogramas para aumentar las concentraciones de lactato en incrementos de 0,1 mM en un medio PBS (mostrado por las formas de onda 200b - 200k en el gráfico de datos). Estos datos ejemplares indican que el biosensor del protector bucal PB-PPD-LOx ejemplar muestra una sensibilidad muy alta hacia el lactato, con cronoamperogramas bien definidos y señales de corriente proporcionales a la concentración de lactato. El gráfico de calibración resultante (mostrado en el recuadro de la Figura 2) exhibe alta linealidad (pendiente,  $0,553\mu A/mM$ ; coeficiente de correlación, 0,994). También se observa que había una corriente de fondo notablemente baja (mostrada por la forma de onda 200a del gráfico de datos) asociada al potencial operativo extremadamente bajo. Por tanto, se puede estimar una detección baja de alrededor de 0,050 mM a partir de las características favorables de señal a ruido de la respuesta para 0,1 mM de lactato (por ejemplo, forma de onda 200b) ( $S/N = 3$ ). El detector de protección bucal PBPPD-LOx ejemplar puede detectar el lactato de manera efectiva en el intervalo fisiológico del lactato de saliva. Para las formas de onda de datos ejemplares representadas en el cronoamperograma de la Figura 2, las implementaciones ejemplares se realizaron con  $E_{APP} = 0,042 V$  (contra Ag/AgCl) y un tiempo de muestreo de corriente de 60 s.

Dado que el biosensor protector bucal ejemplar está expuesto a medios de saliva cruda complejos en implementaciones del mundo real, debería ofrecer una respuesta selectiva en presencia de componentes electroactivos (por ejemplo, ácido L-ascórbico, ácido úrico) que con frecuencia interfieren con la detección amperométrica del lactato. El sistema ejemplar de la capa de reactivo-transductor PB-PPD-LOx está diseñado para minimizar las posibles interferencias electroactivas al acoplar el muy bajo potencial de detección, por ejemplo, ofrecido por la superficie PB, con el comportamiento permselectivo efectivo de la capa PPD. La Figura 3 muestra la respuesta cronoamperométrica para 0,5 mM de lactato en presencia y ausencia de dichas concentraciones fisiológicas de ácido ascórbico y ácido úrico. La selectividad del lactato fue evaluada en presencia de niveles fisiológicos de los componentes electroactivos relevantes de la saliva humana, por ejemplo, 100  $\mu$ M de ácido úrico (forma de onda 340 en la Figura 3) y 20  $\mu$ M de ácido ascórbico (forma de onda 330 en la Figura 3). La selectividad del lactato fue evaluada en ausencia de AA y AU (forma de onda 320 en la Figura 3). La forma de onda 310 muestra solo la respuesta de PBS. Estos datos ejemplares indican claramente que estas posibles interferencias tienen un efecto insignificante sobre la respuesta del lactato (alrededor del 5% tanto para el AA como para el AU) y, por tanto, el nuevo sistema biosensor del protector bucal ofrece una alta selectividad. En el gráfico de datos de la Figura 3, los resultados ejemplares muestran la respuesta ejemplar a 0,5 mM de lactato en 0,1 PBS y en presencia de interferencias fisiológicas electroactivas comunes AA y AU, en las condiciones ejemplares como en la Figura 2)

La alta estabilidad es otro requisito importante para la operación continua en la boca del nuevo biosensor de lactato del protector bucal. La Figura 4 muestra un gráfico de datos de resultados ejemplares que muestran la estabilidad de la respuesta electroquímica del biosensor del protector bucal ejemplar al lactato 0,5 mM. En estas implementaciones ejemplares, la estabilidad fue evaluada inicialmente durante una operación continua de dos horas con mediciones repetitivas de 0,5 mM realizadas cada 10 min. El recuadro muestra el perfil de curso de tiempo de la corriente relativa,

basado en la respuesta de corriente original (con el resultado inicial en  $t = 0$  min normalizado al 100%). Para las implementaciones ejemplares, el detector ejemplar fue mantenido en 0,1 M de PBS entre dichas mediciones sucesivas. Estos datos ejemplares indican una respuesta de corriente altamente estable durante toda la operación de 2 horas. Otras implementaciones han demostrado la estabilidad a largo plazo del detector.

Después de la evaluación del biosensor del protector bucal en una matriz de tampón sintético, se realizaron implementaciones ejemplares usando muestras de saliva humana. La respuesta del biosensor ejemplar empleado en el protector bucal a los niveles cambiantes de lactato fue examinada usando saliva humana no estimulada enriquecida con 0,1 – 0,5 mM de lactato. Según se indica a partir de los cronoamperogramas bien definidos de la Figura 5, por ejemplo, el detector ejemplar respondió favorablemente a dichos cambios del nivel de lactato (por ejemplo, mostrado por las formas de onda 500b - 500f). El gráfico de calibración resultante (mostrado en el recuadro) exhibió una buena linealidad (pendiente, 0,202  $\mu\text{A}/\text{mM}$ ; coeficiente de correlación, 0,988). Otras condiciones ejemplares fueron como en la Figura 2. El nivel de lactato endógeno puede ser estimado por tanto en 0,010 mM, que está dentro del intervalo normal de la saliva humana en reposo sin estimulación. Los pequeños incrementos de corriente debidos a las adiciones de lactato (contra los observados en los medios de tampón) pueden ser atribuidos a la viscosidad de las muestras de saliva que conduce a una difusión más lenta, por ejemplo. No se observaron cambios aparentes en la sensibilidad o en el intervalo lineal cuando se probaron los detectores a 37 °C (por ejemplo, no se muestra la temperatura corporal).

Las implementaciones ejemplares incluyeron evaluaciones de estabilidad de la exposición continua del sistema biosensorial oral ejemplar a medios salivales complejos y la degradación potencial de la respuesta del detector por proteínas coexistentes. La Figura 6 muestra un gráfico de datos que muestra la estabilidad de la respuesta del biosensor del protector bucal ejemplar a la muestra de saliva humana enriquecida con 0,5 mM de lactato a lo largo del tiempo. En las implementaciones, se realizaron mediciones repetitivas a intervalos de 10 minutos durante un período de 2 horas, reemplazando la saliva en cada medición para imitar el entorno oral dinámico. El recuadro de la Figura 6 muestra la corriente relativa basada en la respuesta de corriente original ( $t = 0$ ). El detector ejemplar fue mantenido en la saliva entre dichas mediciones sucesivas. Otras condiciones ejemplares fueron como las de la Figura 2. Solo se observaron pequeñas variaciones de la señal en curso (por ejemplo, entre el 90% y el 106% de la respuesta original), por ejemplo, en esta implementación ejemplar. Dicha buena estabilidad refleja la acción protectora del recubrimiento PPD contra constituyentes de incrustación coexistentes. Siempre que sea necesario, el sistema del detector del protector bucal descrito puede ser fácilmente reemplazado durante la operación real en la boca para abordar una mayor degradación de la respuesta del detector por la matriz de saliva.

Las implementaciones ejemplares de una realización ejemplar de los dispositivos biosensores del protector bucal no invasivos (mostrados en las Figuras 1A y 1B) demuestran una monitorización continua en la boca de los metabolitos salivales. En una de estas implementaciones, se realizaron mediciones amperométricas de lactato usando la plataforma ejemplar de biosensores PB-PPD-LOx. La tecnología descrita puede proporcionar una respuesta al lactato altamente sensible, selectiva y estable en muestras de saliva, por ejemplo, reflejando su transducción de señal de bajo potencial y el rechazo de componentes electroactivos y proteicos coexistentes. Por ejemplo, un rendimiento tan atractivo de la plataforma de biosensores basada en protectores bucales para detectar lactato en muestras salivales humanas sin diluir pone de manifiesto el potencial como un dispositivo utilizable práctico para la monitorización fisiológica continua no invasiva del estado físico de los individuos.

Otros elementos bioquímicos presentes en la saliva pueden ser usados también en otras implementaciones ejemplares de los dispositivos biosensores descritos. En algunos ejemplos, la glucosa puede ser detectada electroquímicamente y utilizada también en una aplicación impresa de células de biocombustible.

#### Biosensores de glucosa ejemplares

La Figura 7 muestra una ilustración esquemática del dispositivo detector electroquímico salival ejemplar 100 empleado en un protector bucal y una ilustración de expansión de una configuración 702 de electrodo ejemplar del dispositivo biosensor 100 para la monitorización de la glucosa salival. Según se muestra en la Figura 7, el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia del dispositivo biosensor ejemplar 100 están configurados en una estructura de electrodo 702. La estructura de electrodo 702 incluye el material conductor de la electricidad 106 dispuesto sobre el sustrato 101, en el que el material conductor de la electricidad 106 está cubierto por una capa de transductor electroquímico 707 que incluye un catalizador correspondiente a la glucosa para causar una reacción electroquímica que es detectable en los electrodos 102. Por ejemplo, en algunas implementaciones, la sustancia química incluye un catalizador para catalizar selectivamente un analito correspondiente de la saliva para causar o facilitar una reacción que produce una señal detectable en los electrodos 102. En el ejemplo mostrado en la Figura 7, la sustancia química catalítica contenida en la capa 707 del transductor electroquímico incluye glucosa oxidasa (GOx), que puede catalizar una reacción redox con glucosa (por ejemplo, el analito seleccionado en la saliva a ser detectado) que genera la señal eléctrica en los electrodos 102.

La Figura 8 muestra un gráfico de datos cronoamperográfico de resultados ejemplares obtenidos para aumentar la concentración de glucosa en incrementos (mostrados por las formas de onda 800a - 800i). En las implementaciones ejemplares realizadas para obtener los datos, la capa 702 del transductor incluía la enzima GOx inmovilizada en un transductor basado en PB imprimible por atrapamiento dentro de una película PPD. Las condiciones ejemplares en

estas implementaciones ejemplares fueron similares a las asociadas a la Figura 2. Según se muestra en la Figura 8, el detector de protector bucal PB-PPD-GOx ejemplar puede detectar por tanto la glucosa de manera efectiva en el intervalo fisiológico del lactato de saliva.

5 Detectores electroquímicos integrados, células de biocombustible y electrónica.

La Figura 9 muestra un diagrama de bloques del dispositivo detector electroquímico ejemplar 100, que puede ser implementado en un protector bucal, según se muestra en las Figuras 1A y 1B y la Figura 7, por ejemplo. El dispositivo detector electroquímico 100 incluye el sustrato 101, que incluye un material eléctricamente aislante, y que puede estar configurado en un protector bucal u otro dispositivo de protección bucal. En el ejemplo mostrado en la Figura 9, el dispositivo detector electroquímico 100 incluye un electrodo de trabajo 172 y un segundo electrodo 173 dispuesto sobre el sustrato 101, en el que el electrodo de trabajo 172 y el segundo electrodo 173 están separados entre sí por un espacio 179. El dispositivo de detección electroquímica 100 puede incluir una capa o estructura aislante 176, por ejemplo, que puede proporcionar soporte estructural adicional al dispositivo 100 y proteger la integridad de la señal eléctrica de las señales eléctricas conducidas a través de los electrodos e interconexiones o conductos 175. Por ejemplo, la configuración del electrodo de los dispositivos detectores electroquímicos descritos puede haber sido diseñada basándose en el tipo de analito objetivo que ha de ser detectado y en el tipo de metodología de detección, por ejemplo, amperometría, voltamperometría, potenciometría y/o espectroscopía de impedancia electroquímica u otra técnica de análisis electroquímico a ser empleada. En algunos ejemplos, el dispositivo detector electroquímico 100 puede estar configurado para detectar analitos cargados, por ejemplo, usando la potenciometría. En algunos ejemplos, el dispositivo detector electroquímico 100 puede estar configurado para detectar analitos autooxidantes en un electrodo de trabajo desguarnecido 172, en el que el dispositivo 100 incluye un tercer electrodo dispuesto entre el electrodo de trabajo 172 y el segundo electrodo 173; y el segundo electrodo 173 y el tercer electrodo pueden servir como un contraelectrodo y un electrodo de referencia, respectivamente. En algunas realizaciones, por ejemplo, el dispositivo detector electroquímico incluye una matriz de contingentes de electrodos, por ejemplo, tal como una matriz de electrodos de trabajo y electrodos de referencia, y/o contraelectrodos.

En algunos ejemplos, según se muestra en el diagrama de la Figura 9, el electrodo de trabajo 172 incluye una capa de detección electroquímica 174 para mantener una reacción redox para producir una señal eléctrica detectable que puede ser detectada usando, por ejemplo, amperometría y/o voltamperometría. La capa de detección electroquímica 172 proporciona un agente de reacción (por ejemplo, un catalizador) que puede facilitar una reacción redox con un analito objetivo (por ejemplo, tal como una molécula o sustancia particular) en el fluido (por ejemplo, saliva) que produce portadores de carga detectados por el electrodo de trabajo 172. La capa de detección electroquímica 172 puede estar estructurada para que incluya un catalizador y un mediador redox electroactivo. En algunos ejemplos, el analito objetivo puede ser oxidado por el catalizador, liberando electrones en el proceso, lo que da lugar a una corriente eléctrica que puede ser medida entre el electrodo de trabajo 172 y el segundo electrodo 173. Por ejemplo, el mediador redox electroactivo puede facilitar la transferencia de electrones entre el electrodo de trabajo 172 y el sitio activo del catalizador. La capa de detección electroquímica 174 puede estar configurada al electrodo de trabajo 172 mediante, por ejemplo: (i) el catalizador está disperso dentro del material del electrodo de trabajo 172; (ii) el catalizador está cubierto con una capa sobre la superficie del electrodo de trabajo 172, por ejemplo, en el que el catalizador está unido covalentemente o anclado electrostáticamente a la superficie; o (iii) el catalizador está atrapado por un polímero conductor electropolimerizado formado en la superficie del electrodo de trabajo 172, y/o por una estructura de bastidor selectivamente permeable, por ejemplo, tal como Nafion o quitosano, formada en la superficie del electrodo de trabajo 172. En implementaciones ejemplares que incluyen el mediador redox electroactivo, por ejemplo, el mediador redox electroactivo puede estar configurado en la capa de detección electroquímica 174 junto con el catalizador mediante la misma configuración ejemplar.

Según se muestra en el diagrama de la Figura 9, el dispositivo detector electroquímico puede estar acoplado eléctricamente al circuito detector eléctrico 150 a los electrodos por medio de las interconexiones eléctricas 175. Por ejemplo, el circuito detector 150 puede estar configurado para aplicar ondas de excitación y/o transducir las señales eléctricas generadas por los electrodos electroquímicos del dispositivo detector electroquímico 100 tras la excitación. En algunos ejemplos, el circuito detector 150 puede incluir una unidad de acondicionamiento de señal y una unidad de comunicación para transmitir los datos adquiridos a un dispositivo exterior que, por ejemplo, puede incluir una pantalla u otra interfaz para mostrar los resultados al usuario del protector bucal o a otro usuario, por ejemplo, tal como un entrenador deportivo, instructor o médico, en tiempo real. El circuito detector 150 puede estar estructurado para incluir, pero no para estar limitado a, un potencióstato (por ejemplo, para realizar mediciones amperométricas y voltamperométricas) o un galvanostato (por ejemplo, para realizar mediciones potenciométricas). En algunas realizaciones, por ejemplo, el dispositivo detector electroquímico 100 puede incluir almohadillas de contacto eléctricamente conductoras acopladas a las interconexiones 175 para proporcionar una superficie conductora para hacer eléctricamente de interfaz con un circuito o dispositivo exterior a los electrodos del dispositivo detector electroquímico 100.

La tecnología descrita puede ser usada para la monitorización continua de analitos salivales en la boca en una plataforma integrada, que puede incluir la miniaturización e integración de los circuitos amperométricos y la electrónica para la adquisición, tratamiento y transmisión inalámbrica de datos, así como para la evaluación crítica de todos los posibles problemas de toxicidad y biocompatibilidad. El concepto de biosensores de protector bucal amperométrico

puede ser fácilmente implementado para la monitorización salival de otros metabolitos y marcadores de estrés clínicamente relevantes, por tanto, ofrece información útil sobre la salud y la conducta del usuario y una promesa considerable para diversas aplicaciones biomédicas y de aptitud física.

5 Por ejemplo, la plataforma electrónica integrada de célula de combustible con detector descrita puede ser utilizada para la monitorización del rendimiento electroquímico en tiempo real. En algunas realizaciones, por ejemplo, la plataforma integrada descrita incluye etiquetas de biosensores utilizables avanzadas en un protector bucal con componentes funcionales integrados dentro de un factor de forma adecuado para el cuerpo humano, por ejemplo, que incluye una estructura que soporta elementos funcionales y transmite el elemento a ser detectado, los propios detectores, circuitos microelectrónicos para procesar y para transmitir la señal del detector, un suministro de energía y cableado para interconectar los diversos componentes. En algunos ejemplos, la electrónica discreta y los electrodos microfabricados pueden ser usados en dichos dispositivos.

15 La Figura 10A muestra una ilustración esquemática y un diagrama de un biosensor integrado ejemplar, célula de biocombustible y plataforma electrónica 1000 que pueden ser empleados en un protector bucal. La plataforma 1000 incluye una realización ejemplar del dispositivo biosensor electroquímico 100 y una realización ejemplar del dispositivo de célula de biocombustible 120, que tienen una interfaz eléctrica mediante un circuito eléctrico ejemplar 150. En algunas implementaciones, por ejemplo, el circuito eléctrico 150 puede incluir un convertidor CC/CC que rastrea la energía proveniente de la célula de biocombustible 150, por ejemplo, que está relacionada con la concentración de analito subyacente para la detección por el biosensor 100, para lograr el funcionamiento autoalimentado de la plataforma integrada de célula de combustible del detector 1000. Por ejemplo, el dispositivo biosensor 100 ejemplar y el dispositivo de células de biocombustible 120 pueden estar integrados en el protector bucal fabricando uno o más biosensores de analitos salivales (por ejemplo, para detectar glucosa, lactato y/o ácido úrico u otro elemento) y células de biocombustible para extraer energía de una o más sustancias de combustible químico salivales, por ejemplo, como se ha descrito anteriormente. En el diseño integrado ejemplar, los materiales de tinta del transductor y las capas de reactivos bioelectrónicos pueden ser optimizados durante dichos procesos de fabricación. El biosensor integrado ejemplar, la célula de biocombustible y la plataforma integrada de dispositivos electrónicos 1000, pueden incluir dispositivos discretos basados en componentes e interfaces, por ejemplo, incluyendo el diseño de dispositivos electrónicos para un analizador electroquímico anatómicamente miniaturizado y las interfaces electrónicas asociadas, circuitos de digitalización y comunicaciones. El conjunto global de la electrónica puede ser producido como un factor de forma del protector bucal.

35 La Figura 10B muestra un diagrama de bloques de una unidad de tratamiento y comunicaciones electrónicas ejemplar 1050 de la plataforma integrada 1000. Por ejemplo, la unidad de tratamiento y comunicaciones 1050 de la Figura 10B puede ser incluida en o utilizada como el circuito eléctrico 150, por ejemplo, tal como se muestra en la Figura 10 A. Según se muestra en la Figura 10B, la unidad de tratamiento y comunicaciones 1050 incluye convertidores analógico/digital y circuitos de acondicionamiento y tratamiento de señales, que pueden hacer de interfaz con el dispositivo de biocombustible 120 como fuente de energía para la unidad 1050. La unidad de tratamiento y comunicaciones 1050 incluye una unidad de tratamiento de datos que puede procesar señales y comunicaciones (por ejemplo, a dispositivos exteriores) y convertidores CC/CC y/o circuitos de acondicionamiento de señales. La unidad de tratamiento de datos y comunicaciones 1050 incluye una unidad de transmisor/receptor inalámbrico para transmitir de forma inalámbrica datos procesados por la unidad de tratamiento de datos o condicionados por los circuitos de acondicionamiento de señal a un dispositivo exterior.

45 La unidad de tratamiento de datos de la unidad 1050 puede incluir un procesador para procesar datos y una memoria en comunicación con el procesador para almacenar datos. Por ejemplo, el procesador puede incluir una unidad central de tratamiento (CPU) o una unidad de microcontrolador (MCU). Por ejemplo, la memoria puede incluir y almacenar código ejecutable mediante procesador, que cuando es ejecutado por el procesador, configura la unidad de tratamiento de datos para realizar varias operaciones tales como, por ejemplo, recibir información, comandos y/o datos, procesar información y datos, y transmitir o proporcionar información/datos a otra entidad o a un usuario. En algunas implementaciones, la unidad de tratamiento de datos puede ser implementada mediante un sistema informático o una red de comunicación accesible por medio de Internet (denominada "la nube") que incluye uno o más dispositivos de tratamiento informático remotos (por ejemplo, servidores en la nube). Para dar soporte a varias funciones de la unidad de tratamiento de datos, la memoria puede almacenar información y datos, como instrucciones, software, valores, imágenes y otros datos procesados o referenciados por el procesador. Por ejemplo, pueden ser usados varios tipos de dispositivos de memoria de acceso aleatorio (RAM), dispositivos de memoria de solo lectura (ROM), dispositivos de memoria flash y otros medios de almacenamiento adecuados para implementar las funciones de almacenamiento de la unidad de memoria. La unidad de tratamiento de datos puede incluir una unidad de entrada/salida (I/O) que puede ser conectada a una interfaz exterior, fuente de almacenamiento de datos o dispositivo de visualización. Por ejemplo, pueden ser usados varios tipos de interfaces cableadas o inalámbricas compatibles con los estándares típicos de comunicación de datos en las comunicaciones de la unidad de tratamiento de datos por medio de la unidad transmisora/receptora inalámbrica, por ejemplo, incluyendo, pero no estando limitados al Universal Serial Bus (USB), IEEE 1394 (FireWire), Bluetooth, IEEE 802.111, Wireless Local Area Network (WLAN), Wireless Personal Area Network (WPAN), Wireless Wide Area Network (WWAN), WiMAX, IEEE 802.16 (Worldwide Interoperability for Microwave Acces (WiMAX)), celular communication methods 3G/4G/LTE e interfaces paralelas. El I/O de la unidad de

tratamiento de datos también puede hacer de interfaz con otras interfaces exteriores, fuentes de almacenamiento de datos y/o dispositivos de presentación visual o de audio, etc. para recuperar y transferir datos e información que el procesador puede procesar, almacenados en la unidad de memoria, o exhibidos en una unidad de salida de un dispositivo exterior. Por ejemplo, un dispositivo de visualización exterior puede estar configurado para estar en comunicación de datos con la unidad de tratamiento de datos, por ejemplo, por medio del I/O, que puede incluir un dispositivo de visualización, un dispositivo de visualización de audio y/o un dispositivo sensorial, por ejemplo, que puede incluir un teléfono inteligente, tableta y/o dispositivo de tecnología utilizable, entre otros.

En algunas implementaciones, por ejemplo, la unidad de tratamiento de datos puede incluir un analizador electroquímico a bordo de la unidad de tratamiento y comunicación 1050. Por ejemplo, el analizador electroquímico puede incluir componentes eléctricos o electrónicos que pueden adquirir y procesar los datos provenientes de un dispositivo de potencióstato o dispositivo de galvanostato. En algunas implementaciones de la unidad de tratamiento y comunicación 1050, por ejemplo, la unidad 1050 puede incluir un suministro de energía interna o adicional tal como una batería para alimentar los módulos de la unidad 1050.

Algunas especificaciones ejemplares de dos formas de realización ejemplares de la plataforma integrada 1000 se proporcionan en la Tabla 1. Otras formas de los biosensores integrados, célula de biocombustible y plataforma de dispositivos electrónicos 1000, pueden estar configuradas para una o más de las especificaciones ejemplares mostradas en la Tabla 1 o configuradas con otras especificaciones que no se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1

Métrica del rendimiento ejemplar	Requisitos Ejemplo 1	Requisitos Ejemplo 2
Metabolitos	Glucosa, lactato	Glucosa, lactato
Adquisición de datos	<15 s	<5 s
Consumo de energía (sistema)	< 5mW	<1mW
Almacenamiento	6 meses RT	>6 meses RT
Temperatura de operación	10 - 50C	5 - 60C
Temperatura de almacenamiento	5 - 60C	0 -70C
Sensibilidad	>0,4 µA / mM (metabolito)	>1 µA / mM (metabolito)
Estabilidad	> 8 hrs de detección continua	> 24 hrs de detección continua
Selectividad	< 10% desviación del nivel de corriente de cualquier interferencia física	< 5% desviación del nivel de corriente de cualquier interferencia física
Tiempo de respuesta	< 5 s	<1 s
Límite de detección	Nivel fisiológico más bajo	Nivel fisiológico más bajo
Detección RSD & R <sup>2</sup>	< 10%, >0,90	< 5%, >0,95
Histéresis	<10%	<5%
Precisión	<10%	<5%
Variación lote a lote	<10%	<5%

La plataforma integrada descrita puede ser fabricada usando procesos para la fabricación aditiva de dispositivos de protección bucal ejemplares de la tecnología descrita para la forma y configuración exactas del usuario y la tarea de biosensores deseada. Por ejemplo, una plataforma de fabricación aditiva puede ser aplicable a una variedad de dispositivos utilizables que son fabricados, bajo demanda, con un factor de forma y configuración arbitraria. Por ejemplo, una plataforma de fabricación general que puede ser ensamblada digital y aditivamente puede ampliar el intervalo de sistemas utilizables. Dicha plataforma de fabricación puede permitir una transición rápida del diseño al dispositivo para muchos tipos diferentes de detectores, así como permitir la personalización.

**Biosensores de ácido úrico ejemplares**

En algunas implementaciones; los biosensores salivales utilizables basados en la boca pueden ser utilizados para detectar el ácido úrico salival para el diagnóstico y la monitorización del tratamiento de la hiperuricemia. A continuación, se describen diseños ejemplares y caracterizaciones in vitro del biosensor basado en protector bucal ejemplar utilizado en implementaciones de monitorización continua de ácido úrico en la boca.

La Figura 11A muestra una fotografía de un detector electroquímico de serigrafía ejemplar integrado en un protector bucal. En el ejemplo mostrado en la Figura 11A, el detector electroquímico 100 es producido en forma de un detector electroquímico impreso en pantalla sobre el sustrato 101 que puede estar fijado o integrado en el protector bucal. Según se muestra en la Figura 11A, el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia del dispositivo biosensor 100 están configurados en una estructura de electrodo 1102.

La Figura 11B muestra una ilustración esquemática de una configuración de electrodo ejemplar 1102, que puede ser utilizada como electrodo de trabajo de los electrodos 102 del dispositivo 100. El ejemplo mostrado en la Figura 11B puede ser incluido en realizaciones de un biosensor de ácido úrico salival de la tecnología descrita. La estructura del electrodo modificado 1102 puede incluir un electrodo 1105 que incluye un material eléctricamente conductor que es electroquímicamente inerte, por ejemplo, carbono de azul de Prusia, dispuesto sobre un sustrato (por ejemplo, sustrato de PET). El electrodo modificado 1102 puede incluir una capa de reactivo 1107 de la enzima inmovilizada (por ejemplo, uricase, mezclada con BSA y Glut) en el electrodo 1105. El electrodo modificado 1102 puede incluir una capa de atrapamiento 1109 (por ejemplo, OPD) para mantener la enzima inmovilizada al electrodo.

Implementaciones ejemplares del biosensor de ácido úrico ejemplar protector bucal incluyeron los siguientes productos químicos y reactivos. Uricase, 1,2-fenilendiamina (o-Pd), ácido L-láctico, ácido L-ascórbico (AA), ácido úrico (AU), sulfato de sodio, cloruro de sodio, cloruro de calcio, cloruro de potasio, ácido cítrico, tiocianato de potasio, fueron obtenidos y fueron usados cloruro de amonio, monobásico de potasio, dibásico de potasio, solución de albúmina de suero bovino (BSA) y glutaraldehído (Glut) sin purificación o modificación adicional. Se empleó agua ultrapura (18,2 MΩ·cm) en las implementaciones ejemplares.

Las implementaciones ejemplares del biosensor de lactato del protector bucal ejemplar incluyeron la instrumentación siguiente. Se usó una impresora de pantalla semiautomática MPM SPM para imprimir los electrodos. Las pautas del detector fueron diseñadas usando AutoCAD, y las plantillas fueron pautadas en plantillas de acero inoxidable de 75 μm de espesor. Se empleó un analizador electroquímico modelo 621A de CH Instruments para las mediciones electroquímicas.

El dispositivo detector electroquímico salival ejemplar a base de protector bucal mostrado en las Figuras 11A y 11B puede ser fabricado usando las técnicas de fabricación descritas anteriormente e integrado en un protector bucal. Para esta realización, por ejemplo, el electrodo de trabajo está químicamente modificado con una enzima y una membrana antibioincrustante. Por ejemplo, la enzima uricase es inmovilizada de la siguiente manera. Primero, la uricase (por ejemplo, 3,0 mg) puede ser mezclada con BSA (por ejemplo, 2 mg) y glutaraldehído (por ejemplo, 1 μl de solución madre) en tampón de fosfato de potasio (por ejemplo, 200 μl). La solución mezclada (por ejemplo, 3 μL de la solución mezclada) puede ser fundida en el electrodo de trabajo y dejada secar (por ejemplo, durante 30 minutos). A continuación, la ofenilendiamina (OPD) puede ser electropolimerizada para rechazar la bioincrustación y el efecto de interferencia de la saliva. Esto puede ser logrado aplicando 0,6 V (contra Ag/AgCl) durante 5 minutos a una solución tampón de fosfato 0,1 M (pH 7,0) que contiene o-Pd 10 mM, sulfato de sodio 5 mM, que puede ser purgada con nitrógeno (por ejemplo, durante 20 minutos antes de ser usada). El esquema de la Figura 11B muestra la constitución química del electrodo de trabajo modificado ejemplar en la plataforma del protector bucal.

El rendimiento electroquímico del biosensor de ácido úrico salival ejemplar integrado con el protector bucal fue evaluado en saliva artificial, que tiene una concentración electrolítica similar a la saliva humana. Por ejemplo, el nivel normal de ácido úrico salival es de 250 μM a 350 μM. Para cubrir el nivel de ácido úrico del paciente con hiperuricemia, se examinó el intervalo de concentración dinámica en la respuesta de la corriente sobre el ácido úrico 0 - 1 mM medido en pasos de -0,3V (contra Ag/AgCl). Por ejemplo, la saliva artificial fue preparada disolviendo 5 mM de NaCl, 1 mM de CaCl<sub>2</sub>, 15 mM de KCl, 1 mM de ácido cítrico, 1,1 mM de KSCN, 4 mM de NH<sub>4</sub>Cl en agua destilada. Las mediciones cronoamperométricas de ácido úrico en el biosensor ejemplar PB-PPD-Uricase fueron realizadas aumentando el potencial a -0,3V (contra Ag/AgCl) durante 60 segundos después de 1 minuto de incubación en la solución de muestra. En las implementaciones ejemplares, el potencial aplicado fue elegido de la voltametría cíclica del biosensor donde la respuesta del ácido úrico mostró una respuesta de corriente distinguible dentro del intervalo fisiológico de la saliva. La estabilidad del biosensor fue examinada en 350 μM de ácido úrico a intervalos de 10 minutos durante una operación de 2 horas. El detector ejemplar fue mantenido en saliva artificial entre dichas mediciones sucesivas. La selectividad fue evaluada en 350 μM de ácido úrico en saliva artificial en presencia de interferentes fisiológicos electroactivos relevantes.

La Figura 12A muestra un gráfico de datos cronoamperográficos que representa la respuesta del biosensor ejemplar obtenido para aumentar las concentraciones de ácido úrico con incrementos de 50 μM hasta 1 mM (mostrado por las formas de onda 1200a - 1200u). La curva de calibración resultante se muestra en el recuadro de la Figura 12A. La Figura 12B muestra resultados ejemplares de un ensayo de selectividad que representa la respuesta a 350 μM de ácido úrico en presencia de interferencias fisiológicas electroactivas comunes. La Figura 12C muestra resultados ejemplares que representan la estabilidad de la respuesta electroquímica a 350 μM de ácido úrico durante una operación de 2 h con intervalos de 10 min. El recuadro de la Figura 12C muestra la corriente relativa, basada en la respuesta de corriente original (t = 0s). El detector ejemplar fue mantenido en saliva artificial entre dichas mediciones sucesivas. Las implementaciones fueron realizadas con E<sub>app</sub> = -0,3 V (contra Ag/AgCl) y con un tiempo de muestreo de corriente de 60 s.

Los datos ejemplares indican que el biosensor ejemplar PB-PPD-Uricase es muy sensible al ácido úrico y tiene un amplio intervalo lineal, con cronoamperogramas bien definidos y una respuesta de corriente proporcional a la concentración de ácido úrico (según se muestra en el gráfico de calibración de la Figura 12A). Por ejemplo, dado que una matriz de saliva tiene tantos interferentes, se debe asegurar la selectividad para la aplicación real en una muestra

de saliva humana. La selectividad fue evaluada en presencia de niveles fisiológicos de las especies electroactivas relevantes de saliva humana, incluyendo glucosa, lactato, ácido ascórbico y acetaminofeno. Según se muestra en la Figura 12B, el biosensor ejemplar mostró una respuesta favorable a 0,35 mM de ácido úrico, mientras que la respuesta a otras especies interferentes electroactivas fue insignificante. Para algunas implementaciones, por ejemplo, para monitorizar continuamente el efecto del tratamiento en la gota aguda, se examinó la estabilidad del biosensor durante 2 horas con intervalos de 10 minutos en respuesta a 0,35 mM de ácido úrico. La Figura 12C muestra la respuesta retenida después de 2 horas de operación, la respuesta estable se atribuye a la reacción de interconexión de BSA y glutaraldehído, así como a la capa de PPD, que ayudan a la inmovilización intacta de la enzima incluso para la medición de 2 horas.

Implementaciones ejemplares del biosensor de ácido úrico protector bucal ejemplar incluyeron mediciones en saliva humana sin diluir. Debido a las proteínas como la mucina y la viscosidad de la saliva humana no tratada, en la medición electroquímica puede ser bastante difícil rechazar la bioincrustación en la superficie del electrodo. Se recogieron muestras de voluntarios sanos utilizando la técnica de "la baba pasiva" para obtener medidas ejemplares en saliva humana sin diluir. Las muestras recogidas fueron usadas directamente para la medición electroquímica sin ningún tratamiento. La concentración de ácido úrico en las muestras de saliva fue determinada por medio del método de adición estándar mediante la aplicación de las mismas condiciones usadas en la saliva artificial (por ejemplo,  $E_{APP} = -0,3V$  durante 60 s). Para la medición continua de la muestra de saliva real, la señal fue medida cada 20 minutos, y la muestra se reemplazó en cada medición teniendo en cuenta el caudal de saliva en la boca (por ejemplo, no estimulado: 1 mL/min, estimulado: 2 mL/min). Por ejemplo, el detector fue sumergido en saliva entre dichas operaciones sucesivas. La respuesta cronoamperométrica de la saliva humana al ácido úrico es obtenida al agregar 0,1 – 0,5 mM de ácido úrico por medio del método de adición estándar.

La Figura 13A muestra datos cronoamperométricos que representan la respuesta electroquímica del biosensor ejemplar PB-PPD-Uricase en saliva humana no diluida enriquecida con diferentes concentraciones de ácido úrico con incrementos de 0,2 mM (mostrado por las formas de onda 1300a - 1300f). La curva de calibración resultante se muestra en el recuadro de la Figura 13A. La Figura 13B muestra un gráfico de datos que representa la estabilidad de la respuesta en una muestra de saliva humana enriquecida con 350  $\mu M$  de ácido úrico. Las mediciones repetitivas fueron realizadas a intervalos de 20 minutos durante un período de 2 horas. El recuadro en la Figura 13B es la corriente relativa basada en la respuesta de corriente original ( $t = 0s$ ). El detector ejemplar fue mantenido en saliva entre dichas mediciones sucesivas, y las condiciones ejemplares incluyeron  $E_{APP} = -0,3 V$  (contra Ag/AgCl) y  $t = 60 s$ .

Según se ilustra en la Figura 13A, el biosensor responde favorablemente a diferentes concentraciones de ácido úrico en la saliva humana no diluida. Por ejemplo, el gráfico de calibración resultante en el recuadro de la Figura 13A exhibió buena sensibilidad y linealidad. El nivel de ácido úrico salival fue estimado en el intervalo normal de la saliva humana sin ninguna estimulación. Aunque, debido a interferencias como las proteínas en la saliva, la sensibilidad en la saliva real disminuyó ligeramente en comparación con la de la saliva artificial, sin embargo, la respuesta de corriente estuvo bien definida y distinguible al nivel fisiológico del ácido úrico. Además, se evaluó la estabilidad en la saliva humana para confirmar el antibioincrustante de las proteínas de la saliva, según se muestra en la Figura 13B, en el que los resultados ejemplares indicaron que el presente biosensor de ácido úrico puede ser ampliado para utilizar, por ejemplo, el tratamiento de monitorización de la gota aguda. Por ejemplo, la gota aguda debe incluir una monitorización en tiempo real y tratamiento rápido, que puede ser abordada por el biosensor ejemplar PB-PPD-Uricase. En particular, el nivel de ácido úrico salival muestra una respuesta más rápida a la medicación que su nivel en sangre. El biosensor de ácido úrico salival protector bucal ejemplar muestra una buena respuesta lineal y una respuesta estable en la saliva humana no diluida y esto implica un uso clínico práctico para pacientes con hiperuricemia.

Las implementaciones ejemplares del biosensor PB-PPD-Uricase incluyeron la monitorización de los niveles de ácido úrico salival de un paciente con hiperuricemia en tratamiento con medicamentos. El biosensor del protector bucal desarrollado comparó el nivel de ácido úrico salival entre una persona sana y un paciente con hiperuricemia (ya diagnosticada por un médico). Para verificar la fluctuación del nivel de ácido úrico salival durante el día, se recogió saliva y se midió en cada sujeto (persona normal y paciente con hiperuricemia) sin ningún tratamiento para la muestra de saliva a cada hora durante 5 horas. Cada muestra fue medida según el método de adición estándar para conocer la cantidad de ácido úrico en la muestra de saliva.

El nivel normal de ácido úrico salival se considera que está entre 250  $\mu M$  y 350  $\mu M$ , y una persona que tiene más de 350  $\mu M$  puede ser considerada como que tiene hiperuricemia. Para verificar el uso práctico en la clínica, se midió el nivel de ácido úrico salival y se comparó con una persona normal y un paciente que ya había sido diagnosticado de hiperuricemia por un médico. Cuando el paciente con hiperuricemia tenía un nivel de ácido úrico salival más alto que el nivel normal, tomaba el medicamento Allopurinol® durante 4 días seguidos y se medía el nivel de ácido úrico salival diariamente para confirmar el efecto del tratamiento del medicamento (por ejemplo, Allopurinol®). El Allopurinol® es un medicamento que inhibe una xantina oxidasa, que puede tratar la hiperuricemia y sus síntomas relacionados, incluida la gota. Para estas implementaciones ejemplares, fue recogida saliva todos los días, tres veces al día, y se realizó el método de adición estándar.

La Figura 14A muestra un gráfico de datos de los niveles de ácido úrico salival obtenidos mediante monitorización continua usando el biosensor ejemplar durante 5 horas en una persona normal (“•”, círculos negros) y en un paciente con hiperuricemia (“•”, cuadrados rojos). La Figura 14B muestra un gráfico de datos de los niveles de ácido úrico salival del paciente con hiperuricemia monitorizada usando el biosensor ejemplar durante 5 días mientras está sometido a tratamiento para la hiperuricemia con Allopurinol®. El resultado ejemplar se obtiene por promedio de tres mediciones.

Según se muestra en el gráfico de datos de la Figura 14A, el valor estable de ácido úrico salival se monitorizó continuamente usando el biosensor ejemplar PB-PPD-Uricase. Los resultados ejemplares indicaron que los niveles de ácido úrico salival no fluctúan dependiendo del tiempo, independientemente de la persona o paciente normal. Además, el alto y reproducible valor de ácido úrico en la saliva del paciente demostró la viabilidad del detector de protección bucal ejemplar como una herramienta de diagnóstico para la hiperuricemia.

El medicamento Allopurinol es usado para devolver el nivel de ácido úrico al intervalo normal. Se observa que este medicamento fue usado para controlar los niveles de ácido úrico del paciente con hiperuricemia. Según se muestra en la Figura 14B, se confirmó un alto nivel de ácido úrico salival en el primer día (es decir, día 0), y el sujeto comenzó a tomar medicamentos con Allopurinol 4 días seguidos. Después de tomar la medicación durante 4 días, el nivel de ácido úrico salival volvió a un nivel normal, todo ello fue monitorizado por el biosensor ejemplar PB-PPD-Uricase.

Otros elementos bioquímicos presentes en la saliva pueden ser detectados y utilizados también para extraer energía mediante la plataforma de dispositivos de biocombustibles y biosensores con base en la boca. En un ejemplo, el cortisol puede ser detectado electroquímicamente (por ejemplo, dentro de un intervalo de 0,05 µg/dL a 0,5 µg/dL) usando el biosensor salival descrito, a partir del cual los datos pueden ser usados para indicar o determinar marcadores o trastornos de estrés físico o psicológico tal como, por ejemplo, el Síndrome de Cushing. En una realización ejemplar de un biosensor de cortisol salival, la estructura de electrodo modificada 102a del biosensor 100 puede incluir una capa (por ejemplo, la capa 107) que incluye anticuerpos de cortisol (por ejemplo, Cortisol Ag-Ab/AP) atrapados en el electrodo 106.

En otro ejemplo, la alfa-amilasa puede ser detectada electroquímicamente (por ejemplo, dentro de un intervalo de 10 U/mL a 250 U/mL) usando el biosensor salival descrito, a partir del que los datos pueden ser usados para indicar o determinar física o psicológicamente marcadores de estrés o trastornos. En una realización ejemplar de un biosensor de alfa-amilasa salival, la estructura de electrodo modificada 102a del biosensor 100 puede incluir una capa (por ejemplo, la capa 107) que incluye glucosa oxidasa (GOx) con glucosidasa (GD) atrapada en el electrodo 106.

En otro ejemplo, el fosfato salival puede ser electroquímicamente detectado (por ejemplo, dentro de un intervalo micromolar) usando el biosensor salival descrito, a partir del cual los datos pueden ser usados para indicar diversas afecciones como, por ejemplo, hiperfosfatemia u ovulación, o pueden ser usados en el curso del cuidado dental. En una realización ejemplar de un biosensor de fosfato salival, la estructura de electrodo modificada 102a del biosensor 100 puede incluir una capa (por ejemplo, la capa 107) que incluye lactato oxidasa (LOx) o piruvato oxidasa (PyOx) atrapada en el electrodo 106 (por ejemplo, carbón de azul de Prusia).

En otro ejemplo, el cadmio puede ser detectado electroquímicamente (por ejemplo, a niveles de hasta 100 µg/L o más) utilizando el biosensor salival descrito, a partir del que los datos pueden ser usados para diversas aplicaciones como, por ejemplo, la biomonitorización de factores ambientales presentes en el entorno de un usuario o de fumar. En otro ejemplo, el fluoruro salival o el calcio pueden ser electroquímicamente detectados (por ejemplo, dentro de un intervalo de 0,05 ppm a 0,01 ppm, o incluso en intervalos menores de 0,01 ppm) usando el biosensor salival descrito, a partir del cual los datos pueden ser usados en odontología (por ejemplo, para identificar la presencia de caries). En otro ejemplo, los niveles de pH pueden ser detectados usando el biosensor salival descrito, a partir del cual los datos pueden ser usados para indicar diversas afecciones relacionadas con la salud bucal o para determinar la presencia de marcadores de estrés.

#### Ejemplos

Los siguientes ejemplos son ilustrativos de varias realizaciones de la tecnología actual. Otras realizaciones ejemplares de la tecnología actual pueden haber sido presentadas antes de los siguientes ejemplos enumerados, o después de los siguientes ejemplos enumerados.

En un ejemplo de la tecnología actual (ejemplo 1), un dispositivo detector electroquímico para detectar analitos en la saliva incluye un sustrato que incluye un material eléctricamente aislante; un primer electrodo dispuesto sobre el sustrato en una primera localización, en la que el primer electrodo incluye una superficie que incluye una sustancia química que incluye un catalizador o un reactivo correspondiente a un analito en la saliva; y un segundo electrodo dispuesto sobre el sustrato en una segunda localización separada del primer electrodo por una región de separación, el primer y segundo electrodos pueden mantener una reacción redox que incluye la sustancia química y el analito para producir una señal eléctrica, de manera que, cuando el dispositivo está presente en la boca de un usuario y acoplado eléctricamente a un circuito eléctrico, el dispositivo es operable para detectar el analito en la saliva del usuario.

El ejemplo 2 incluye el dispositivo como en el ejemplo 1, en el que la superficie del primer electrodo está estructurada para incluir la sustancia química inmovilizada en la superficie del primer electrodo por atrapamiento electropolimérico en una película de polímero o de bastidor selectivamente permeable.

El ejemplo 3 incluye el dispositivo como en el ejemplo 2, en el que la película de polímero incluye poli(o-fenilendiamina).

El ejemplo 4 incluye el dispositivo como en el ejemplo 2, en el que el bastidor selectivamente permeable incluye Nafion o quitosano.

El ejemplo 5 incluye el dispositivo como en el ejemplo 1, en el que la superficie del primer electrodo está estructurada para incluir la sustancia química dispersada dentro de un material que forma el primer electrodo.

El ejemplo 6 incluye el dispositivo como en el ejemplo 1, en el que la superficie del primer electrodo está estructurada para incluir una capa que contiene la sustancia química fijada a la superficie de manera electrostática o covalente.

El ejemplo 7 incluye el dispositivo como en el ejemplo 1, en el que la sustancia química incluye lactato oxidasa (LOx), y el analito para la detección mediante el dispositivo incluye lactato.

El ejemplo 8 incluye el dispositivo como en el ejemplo 1, en el que la sustancia química incluye glucosa oxidasa (GOx), y el analito para la detección mediante el dispositivo incluye glucosa.

El ejemplo 9 incluye el dispositivo como en el ejemplo 1, en el que la sustancia química incluye ácido úrico oxidasa (uricasa), y el analito para detección mediante el dispositivo incluye ácido úrico.

El ejemplo 10 incluye el dispositivo como en el ejemplo 1, en el que el primer electrodo, el segundo electrodo, o ambos incluyen un material eléctricamente conductor que incluye un electrocatalizador.

El ejemplo 11 incluye el dispositivo como en el ejemplo 10, en el que el primer electrodo, el segundo electrodo, o ambos incluyen un conductor eléctrico que incluye carbono de azul de Prusia.

El ejemplo 12 incluye el dispositivo como en el ejemplo 1, en el que el sustrato está incluido en un protector bucal conformado para caber dentro de la boca del usuario, en el que las localizaciones primera y segunda del primer y segundo electrodos están dispuestas en una región interior del protector bucal cercano a la lengua del usuario.

El ejemplo 13 incluye el dispositivo como en el ejemplo 1, que incluye además un primer componente de interfaz de electrodo dispuesto en el sustrato y acoplado eléctricamente al primer electrodo por medio de un primer conducto que es eléctricamente conductor; y un segundo componente de interfaz de electrodo dispuesto sobre el sustrato y acoplado eléctricamente al segundo electrodo por medio de un segundo conducto que es eléctricamente conductor, en el que los componentes de interfaz del electrodo primero y segundo están acoplados eléctricamente al circuito eléctrico.

El ejemplo 14 incluye el dispositivo como en el ejemplo 1, en el que el primer electrodo es operable como un electrodo de trabajo y el segundo electrodo es operable como un contraelectrodo para mediciones de amperometría, y el dispositivo incluye además un electrodo de referencia situado entre el electrodo de trabajo y el contraelectrodo en el sustrato y que tienen una superficie que incluye la sustancia química.

El ejemplo 15 incluye el dispositivo como en el ejemplo 1, que incluye además una célula de biocombustible dispuesta en el sustrato para extraer electroquímicamente energía a partir de la saliva para proporcionar energía al dispositivo, en el que la célula de biocombustible incluye un ánodo dispuesto en el sustrato e incluye un material eléctricamente conductor, el ánodo incluye un catalizador de la célula de combustible para facilitar la conversión de una sustancia combustible de la saliva a un primer producto en un proceso de oxidación que libera electrones capturados en el ánodo, extrayendo de esta manera la energía de la sustancia combustible, y un cátodo dispuesto en el sustrato adyacente y separado del ánodo, el cátodo incluye un material que es eléctricamente conductor y que puede reducir una sustancia oxigenada de la saliva a un segundo producto en un proceso de reducción química en el que el segundo producto gana electrones; y el circuito eléctrico acoplado eléctricamente entre la célula de biocombustible y el primer y segundo electrodos, por medio de interconexiones eléctricas, para obtener la energía extraída en forma de energía eléctrica de la célula de biocombustible y suministrar la energía eléctrica al primer y segundo electrodos del dispositivo.

El ejemplo 16 incluye el dispositivo como en el ejemplo 15, en el que el catalizador de la célula de combustible está encerrado en la superficie del ánodo en una estructura de bastidor porosa formada por un polímero conductor.

El ejemplo 17 incluye el dispositivo como en el ejemplo 17, en el que el polímero conductor incluye al menos uno de polianilina, polipirrol, politiofeno, poli(3,4-etilendioxitiofeno), poli(sulfuro de p-fenileno), polifluorina, polifenileno, polipireno, poliazuleno, polinaftaleno, poli(acetileno), poli(p-fenilen vinileno) o polifenildiamina.

El ejemplo 18 incluye el dispositivo como en el ejemplo 15, en el que el catalizador de la célula de combustible está atrapado en una membrana selectivamente permeable acoplada a la superficie del ánodo.

El ejemplo 19 incluye el dispositivo como en el ejemplo 18, en el que la membrana selectiva permeable incluye al menos uno de Nafion o de quitosano.

El ejemplo 20 incluye el dispositivo como en el ejemplo 15, en el que el catalizador de la célula de combustible está unido electrostática o covalentemente a la superficie del ánodo.

El ejemplo 21 incluye el dispositivo como en el ejemplo 15, en el que el ánodo está estructurado para incluir un mediador electroactivo para facilitar la transferencia de electrones entre un sitio activo del catalizador de la célula de combustible y la superficie del ánodo.

El ejemplo 22 incluye el dispositivo como en el ejemplo 15, en el que el catalizador de la célula de combustible incluye LOx, GOx o uricasa.

El ejemplo 23 incluye el dispositivo como en el ejemplo 15, en el que el cátodo incluye un mediador electroactivo que puede reducir una sustancia no oxigenada en la saliva al segundo producto en el proceso de reducción química en el que el segundo producto gana electrones.

5 El ejemplo 24 incluye el dispositivo como en el ejemplo 15, en el que el circuito eléctrico incluye un circuito de acondicionamiento de señal para modificar la energía eléctrica extraída por la célula de biocombustible, o para amplificar la señal eléctrica detectada por el primer y segundo electrodos, o por ambos.

El ejemplo 25 incluye el dispositivo como en el ejemplo 15, en el que el circuito eléctrico incluye una unidad de tratamiento de datos que incluye un procesador para procesar datos basados en la señal eléctrica detectada y una memoria o una memoria intermedia para almacenar los datos.

10 En un ejemplo de la tecnología actual (ejemplo 26), un método para detectar un analito en la saliva y alimentar un dispositivo a partir de la saliva incluye la extracción de energía eléctrica, en los electrodos de ánodo y de cátodo de una célula de biocombustible fijada a un dispositivo con base en la boca utilizable en la boca de un usuario, a partir de una sustancia de biocombustible presente en la saliva al convertir la sustancia de biocombustible en un primer producto mediante un proceso de oxidación que libera electrones capturados en el ánodo y reduce una sustancia química en la saliva a un segundo producto a una sustancia química mediante un proceso de reducción en el que el segundo producto gana electrones en el cátodo; suministrar la energía eléctrica extraída a los electrodos de un detector electroquímico fijado al dispositivo basado en la boca para activar el detector electroquímico; y detectar, en los electrodos del detector electroquímico activado en contacto con la saliva en la boca del usuario, una señal eléctrica producida como resultado de una reacción redox que involucra un analito en la saliva y un agente químico acoplado a un electrodo del detector electroquímico.

15 El ejemplo 27 incluye el método como en el ejemplo 26, en el que la señal eléctrica es detectada usando amperometría, voltamperometría o potenciometría.

El ejemplo 28 incluye el método como en el ejemplo 26, que incluye además procesar la señal eléctrica para determinar un parámetro del analito.

20 El ejemplo 29 incluye el método como en el ejemplo 28, en el que el parámetro incluye un nivel de concentración del analito.

El ejemplo 30 incluye el método como en el ejemplo 26, que incluye además la transmisión inalámbrica de la señal eléctrica detectada a un dispositivo exterior.

30 En un ejemplo de la tecnología actual (ejemplo 31), un dispositivo para detectar un analito en la saliva y alimentar un dispositivo a partir de la saliva incluye un sustrato que incluye un material eléctricamente aislante, en el que el sustrato está estructurado para ser fijado a un dispositivo de uso bucal que puede caber dentro de la boca de un usuario; un detector electroquímico para detectar un analito salival; una célula de biocombustible para extraer electroquímicamente energía de la saliva para proporcionar energía eléctrica al dispositivo, y un circuito eléctrico acoplado eléctricamente entre la célula de biocombustible y el detector electroquímico por medio de interconexiones eléctricas para obtener la energía extraída en forma de energía eléctrica de la célula de biocombustible y suministrar la energía eléctrica al detector electroquímico. El detector electroquímico incluye un primer electrodo dispuesto sobre el sustrato en una primera localización, en la que el primer electrodo incluye una superficie que incluye una sustancia química que incluye un catalizador o un reactivo correspondiente al analito salival; y un segundo electrodo dispuesto sobre el sustrato en una segunda localización separada del primer electrodo por un espacio, en el que el primer y el segundo electrodos son operables para mantener una reacción redox que involucra la sustancia química y el analito salival para producir una señal eléctrica detectable por el primero y el segundo electrodos. La célula de biocombustible incluye un ánodo dispuesto sobre el sustrato e incluye un material eléctricamente conductor, el ánodo incluye un catalizador de la célula de combustible para facilitar la conversión de una sustancia combustible de la saliva en un primer producto en un proceso de oxidación que libera electrones capturados en el ánodo, extrayendo de esta manera energía de la sustancia combustible, y un cátodo dispuesto en el sustrato adyacente y separado del ánodo, el cátodo incluye un material que es eléctricamente conductor y que puede reducir una sustancia oxigenada en la saliva a un segundo producto en una sustancia química mediante un proceso de reducción en el que el segundo producto gana electrones. Cuando el dispositivo está presente en la boca del usuario, el dispositivo es operable para detectar el analito salival en la saliva del usuario.

35 El ejemplo 32 incluye el dispositivo como en el ejemplo 31, en el que el circuito eléctrico incluye un circuito de acondicionamiento de señal para modificar la energía eléctrica extraída por la célula de biocombustible, o para amplificar la señal eléctrica detectada por el primer y segundo electrodos, o por ambos.

40 El ejemplo 33 incluye el dispositivo como en el ejemplo 31, en el que el circuito eléctrico incluye una unidad de procesamiento de datos, un procesador para procesar datos basados en la señal eléctrica detectada y una memoria o una memoria intermedia para almacenar los datos.

45 El ejemplo 34 incluye el dispositivo como en el ejemplo 31, en el que el circuito eléctrico incluye una unidad de comunicaciones inalámbricas para transmitir de forma inalámbrica la señal eléctrica detectada a un dispositivo exterior.

50 El ejemplo 35 incluye el dispositivo como en el ejemplo 31, en el que la superficie del primer electrodo está estructurada para incluir la sustancia química inmovilizada en la superficie del primer electrodo por atrapamiento electropolimérico en una película de polímero o bastidor selectivamente permeable; o la sustancia química dispersada dentro de un material que forma el primer electrodo; o una capa que contiene la sustancia química unida a la superficie de forma electrostática o covalente.

60

El Ejemplo 36 incluye el dispositivo como en el ejemplo 35, en el que la película de polímero incluye poli(o-fenilendiamina), o en el que el bastidor selectivamente permeable incluye Nafion o quitosano.

El ejemplo 37 incluye el dispositivo como en el ejemplo 31, en el que el detector electroquímico está configurado por uno o más de los siguientes: la sustancia química incluye lactato oxidasa (LOx), y el analito para la detección por el detector electroquímico incluye lactato; la sustancia química incluye glucosa oxidasa (GOx), y el analito para la detección por el detector electroquímico incluye glucosa; la sustancia química incluye ácido úrico oxidasa (uricasa), y el analito para la detección por el detector electroquímico incluye ácido úrico; la sustancia química incluye un anticuerpo de cortisol, y el analito para la detección por el detector electroquímico incluye cortisol; la sustancia química incluye GOx y glucosidasa (GD), y el analito para la detección por el detector electroquímico incluye alfa-amilasa; y/o la sustancia química incluye LOx o piruvato oxidasa (PyOx), y el analito para la detección por el detector electroquímico incluye fosfato.

El ejemplo 38 incluye el dispositivo como en el ejemplo 31, en el que el sustrato está incluido en un protector bucal conformado para caber dentro de la boca del usuario, en el que las localizaciones primera y segunda del primero y el segundo electrodos están situadas en una región interior del protector bucal cercano a la lengua del usuario.

El ejemplo 39 incluye el dispositivo como en el ejemplo 31, en el que el primer electrodo es operable como un electrodo de trabajo y el segundo electrodo es operable como un contraelectrodo para mediciones de amperometría, y el detector electroquímico incluye además un electrodo de referencia situado entre el electrodo de trabajo y el contraelectrodo en el sustrato y tienen una superficie que incluye la sustancia química.

El ejemplo 40 incluye el dispositivo como en el ejemplo 31, en el que el catalizador de la célula de combustible está encerrado en la superficie del ánodo en una estructura de bastidor porosa formada por un polímero conductor; o el catalizador de la célula de combustible está atrapado en una membrana selectivamente permeable acoplada a la superficie del ánodo; o el catalizador de la célula de combustible está unido electrostática o covalentemente a la superficie del ánodo.

El ejemplo 41 incluye el dispositivo como en el ejemplo 40, en el que el polímero conductor incluye al menos uno de polianilina, polipirrol, politiofeno, poli(3,4-etilendioxitiofeno), poli(sulfuro de p-fenileno), polifluorina, polifenileno, polipireno, poliazuleno, polinaftaleno, poli(acetileno), poli(p-fenilen vinileno) o polifenildiamina

El ejemplo 42 incluye el dispositivo como en el ejemplo 40, en el que la membrana selectiva permeable incluye al menos uno de Nafion o quitosano.

El ejemplo 43 incluye el dispositivo como en el ejemplo 31, en el que el ánodo está estructurado para incluir un mediador electroactivo para facilitar la transferencia de electrones entre un sitio activo del catalizador de la célula de combustible y la superficie del ánodo.

El ejemplo 44 incluye el dispositivo como en el ejemplo 31, en el que el catalizador de la célula de combustible incluye LOx, GOx o uricasa.

Las implementaciones de la materia objeto y las operaciones funcionales descritas en este documento de patente pueden ser implementadas en varios sistemas, circuitos electrónicos digitales o en software, firmware o hardware de ordenador, incluidas las estructuras descritas en esta memoria y sus equivalentes estructurales, o en combinaciones de uno o más de ellos. Las implementaciones de la materia descrita en esta memoria pueden estar implementadas como uno o más productos de programas de ordenador, es decir, uno o más módulos de instrucciones de programas de ordenador codificados en un medio legible por ordenador tangible y no transitorio para ser ejecutados por, o para controlar la operación de, un aparato de procesamiento de datos. El medio legible por ordenador puede ser un dispositivo de almacenamiento legible por máquina, un sustrato de almacenamiento legible por máquina, un dispositivo de memoria, una composición de materia que efectúa una señal propagada legible por máquina, o una combinación de uno o más de ellos. La expresión "aparato de procesamiento de datos" abarca todos los aparatos, dispositivos y máquinas para procesar datos, incluyendo a modo de ejemplo un procesador programable, un ordenador o múltiples procesadores u ordenadores. El aparato puede incluir, además del hardware, un código que crea un entorno de ejecución para el programa informático en cuestión, por ejemplo, código que constituye el firmware del procesador, una célula de protocolos, un sistema de gestión de bases de datos, un sistema operativo o una combinación de uno o más de ellos.

Un programa de ordenador (también conocido como programa, software, aplicación de software, script o código) puede ser escrito con cualquier forma de lenguaje de programación, incluidos los lenguajes compilados o interpretados, y puede ser implementado con cualquier forma, incluso como programa independiente o como módulo, componente, subrutina u otra unidad adecuada para ser usado en un entorno informático. Un programa de ordenador no necesariamente se corresponde con un archivo de un sistema de archivos. Un programa puede estar almacenado en una porción de un archivo que contiene otros programas o datos (por ejemplo, uno o más scripts almacenados en un documento de lenguaje de marcado), en un archivo único dedicado al programa en cuestión o en múltiples archivos coordinados (por ejemplo, archivos que almacenan uno o más módulos, subprogramas o porciones de código). Un programa de ordenador puede ser implementado para ser ejecutado en un ordenador o en varios ordenadores que se encuentran en un sitio o distribuidos en varios sitios e interconectados por una red de comunicaciones.

Los procesos y flujos lógicos descritos en esta especificación pueden ser realizados por uno o más procesadores programables que ejecutan uno o más programas de ordenador para realizar funciones operando con datos de entrada y generando la salida. Los procesos y los flujos lógicos pueden ser realizados también y el aparato puede ser

implementado también como un circuito lógico de propósito especial, por ejemplo, un FPGA (matriz de compuerta programable en el campo) o un ASIC (circuito integrado específico de la aplicación).

5 Los procesadores adecuados para la ejecución de un programa informático incluyen, a modo de ejemplo, microprocesadores de propósito general y especial, y uno o más procesadores de cualquier tipo de ordenador digital. Generalmente, un procesador recibe instrucciones y datos de una memoria de solo lectura o de una memoria de acceso aleatorio o de ambas. Los elementos esenciales de un ordenador son un procesador para realizar instrucciones y uno o más dispositivos de memoria para almacenar instrucciones y datos. En general, un ordenador incluye, o está operativamente acoplado además para recibir datos o transferir datos, o ambas cosas, a uno o más dispositivos de almacenamiento masivo para almacenar datos, por ejemplo, discos magnéticos, magnetoópticos o discos ópticos. Sin embargo, un ordenador no necesita tener tales dispositivos. Los medios legibles por ordenador adecuados para almacenar instrucciones y datos de programas de ordenador incluyen todas las formas de memoria no volátil, medios y dispositivos de memoria, incluidos, por ejemplo, dispositivos de memoria semiconductores, por ejemplo, EPROM, EEPROM y dispositivos de memoria flash. El procesador y la memoria pueden complementarse o estar incorporados en un circuito lógico de propósito especial.

20 Si bien este documento de patente contiene muchos detalles, éstos no deben ser interpretados como limitaciones del alcance de ninguna invención o de lo que puede ser reivindicado, sino más bien como descripciones de características que pueden ser específicas de realizaciones particulares de invenciones particulares. Ciertas características que se describen en este documento de patente en el contexto de realizaciones separadas pueden ser implementadas también combinadas en una sola realización. Por el contrario, varias características que se describen en el contexto de una sola realización pueden ser implementadas también en múltiples realizaciones por separado o en cualquier subcombinación adecuada.

25 De manera similar, aunque las operaciones están representadas en los dibujos en un orden particular, esto no debe ser entendido como que se requiere que dichas operaciones sean realizadas en el orden particular mostrado o en orden secuencial, o que todas las operaciones ilustradas sean realizadas, para lograr resultados deseables. Además, la separación de varios componentes del sistema en las realizaciones descritas en este documento de patente no debe ser entendida como que dicha separación es requerida en todas las realizaciones.

30 Solamente han sido descritas algunas implementaciones y ejemplos, y se pueden hacer otras implementaciones, mejoras y variaciones basadas en lo que se describe e ilustra en este documento de patente.

REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo detector electroquímico (100) para detectar analitos en la saliva, comprendiendo:

5 un sustrato (101) que incluye un material eléctricamente aislante, en donde el sustrato está configurado en un dispositivo de uso bucal que puede caber dentro de la boca de un usuario;  
 un primer electrodo (172) operable como electrodo de trabajo y dispuesto sobre el sustrato (101) en una primera localización;  
 10 una capa de detección (174) fijada a una superficie del primer electrodo (172), en donde la capa de detección incluye una sustancia química que incluye un catalizador o un reactivo correspondiente a un analito de la saliva, en donde la capa de detección está dispuesta sobre una superficie del primer electrodo; y  
 un segundo electrodo (173) dispuesto sobre el sustrato (101) en una segunda localización separada horizontalmente sobre el sustrato del primer electrodo (172) por una región de separación (179), el primero y el segundo electrodos pueden mantener una reacción redox que incluye la sustancia química y el analito para  
 15 producir una señal eléctrica, en donde, cuando el dispositivo (100) está presente en la boca de un usuario y está acoplado eléctricamente a un circuito eléctrico (150), el dispositivo (100) es operable para detectar el analito en la saliva del usuario, **caracterizado por que** el dispositivo de uso bucal incluye un protector bucal conformado para caber dentro de la boca del usuario, en donde las localizaciones primera y segunda del primero y segundo electrodos están  
 20 situadas en una región interior del protector bucal cercano a la lengua del usuario para hacer de interfaz con la saliva.

2. El dispositivo según la reivindicación 1, en donde la sustancia química de la capa de detección está inmovilizada sobre la primera superficie del electrodo por atrapamiento electropolimérico en una película de polímero o bastidor selectivamente permeable, en donde la película de polímero incluye poli(o-fenilendiamina), y en donde el bastidor selectivamente permeable incluye Nafion o quitosano.

3. El dispositivo según la reivindicación 1, en donde el primer electrodo está estructurado para incluir la sustancia química dispersada dentro de un material que forma el primer electrodo.

4. El dispositivo según la reivindicación 1, en donde la capa de detección que incluye la sustancia química está fijada a la superficie del primer electrodo electrostática o covalentemente, en donde la sustancia química incluye lactato oxidasa (LOx), y el analito a ser detectado por el dispositivo incluye lactato, o en donde la sustancia química incluye glucosa oxidasa (GOx), y el analito a ser detectado por el dispositivo incluye glucosa, o en donde la sustancia química incluye ácido úrico oxidasa (uricasa), y el analito a ser detectado por el dispositivo incluye ácido úrico.

5. El dispositivo según la reivindicación 1, en donde el primer electrodo, el segundo electrodo, o ambos, incluyen un material eléctricamente conductor que incluye un electrocatalizador.

6. El dispositivo según la reivindicación 1, que comprende además:  
 un primer componente de interfaz de electrodo dispuesto sobre el sustrato y acoplado eléctricamente al primer electrodo por medio de un primer conducto que es eléctricamente conductor; y  
 un segundo componente de interfaz de electrodo dispuesto en el sustrato y acoplado eléctricamente al segundo electrodo por medio de un segundo conducto que es eléctricamente conductor,  
 45 en donde los componentes de interfaz de electrodo primero y segundo están acoplados eléctricamente al circuito eléctrico.

7. El dispositivo según la reivindicación 1, en donde el segundo electrodo es operable como un contraelectrodo para mediciones de amperometría, y el dispositivo comprende además: un electrodo de referencia situado entre el electrodo de trabajo y el contraelectrodo en el sustrato y que tiene una superficie que incluye la sustancia química.

8. El dispositivo según la reivindicación 1, que comprende además:  
 una célula de biocombustible (120) dispuesta en el sustrato para extraer electroquímicamente energía de la saliva para proporcionar energía al dispositivo, la célula de biocombustible comprende:  
 un ánodo (122) dispuesto sobre el sustrato que incluye un material eléctricamente conductor, el ánodo incluye un catalizador de la célula de combustible para facilitar la conversión de una sustancia combustible de la saliva a un primer producto en un proceso de oxidación que libera electrones capturados en el ánodo, extrayendo de esta manera la energía de la sustancia combustible, y  
 un cátodo (123) dispuesto en el sustrato adyacente y separado del ánodo, el cátodo incluye un material que es eléctricamente conductor y que puede reducir una sustancia oxigenada de la saliva a un segundo producto en un proceso de reducción química en donde el segundo producto gana electrones; y  
 el circuito eléctrico acoplado eléctricamente entre la célula de biocombustible y el primer y segundo electrodos,  
 65 por medio de interconexiones eléctricas, para obtener la energía extraída en forma de energía eléctrica a partir

de la célula de biocombustible y suministrar la energía eléctrica al primero y al segundo electrodos del dispositivo.

- 5 9. El dispositivo según la reivindicación 8, en donde el catalizador de la célula de combustible está encerrado en la superficie del ánodo en una estructura de bastidor porosa formada por un polímero conductor, o en donde el catalizador de la célula de combustible está atrapado en una membrana selectivamente permeable acoplada a la superficie del ánodo, o en donde el catalizador de la célula de combustible está unido electrostática o covalentemente a la superficie del ánodo.
- 10 10. El dispositivo según la reivindicación 8, en donde el ánodo está estructurado para incluir un mediador electroactivo para facilitar la transferencia de electrones entre un sitio activo del catalizador de la célula de combustible y la superficie del ánodo.
- 15 11. El dispositivo según la reivindicación 8, en donde el cátodo incluye un mediador electroactivo que puede reducir una sustancia no oxigenada de la saliva al segundo producto en el proceso de reducción química en donde el segundo producto gana electrones.
- 20 12. El dispositivo según la reivindicación 8, en donde el circuito eléctrico incluye un circuito de acondicionamiento de señal para modificar la energía eléctrica extraída por la célula de biocombustible, o para amplificar la señal eléctrica detectada por el primero y el segundo electrodos, o por ambos.
- 25 13. El dispositivo según la reivindicación 8, en donde el circuito eléctrico incluye una unidad de procesamiento de datos que incluye un procesador para procesar datos basados en la señal eléctrica detectada y una memoria o una memoria intermedia para almacenar los datos
- 30 14. Un método para detectar un analito en la saliva usando el dispositivo de la reivindicación 1 y alimentar dicho dispositivo a partir de la saliva, comprendiendo:  
extraer energía eléctrica, en los electrodos del ánodo (122) y del cátodo (123) de una célula de biocombustible (120) fijada a dicho dispositivo, a partir de una sustancia de biocombustible presente en la saliva al convertir la sustancia de biocombustible en un primer producto en un proceso de oxidación que libera electrones capturados en el ánodo y reducir una sustancia química de la saliva a un segundo producto en un proceso de reducción química en donde el segundo producto gana electrones en el cátodo;  
35 suministrar la energía eléctrica extraída a los electrodos del dispositivo detector electroquímico como en la reivindicación 1 para activar el dispositivo detector electroquímico; y detectar, en los electrodos del dispositivo detector electroquímico activado en contacto con la saliva en la boca del usuario, una señal eléctrica producida como resultado de una reacción redox que involucra un analito en la saliva y un agente químico acoplado a un electrodo del dispositivo detector electroquímico.
- 40 15. Método según la reivindicación 14, que comprende además:  
procesar la señal eléctrica detectada para determinar un parámetro del analito, en donde el parámetro incluye un nivel de concentración del analito, o que además comprende: transmitir de forma inalámbrica la señal eléctrica detectada a un dispositivo exterior.
- 45

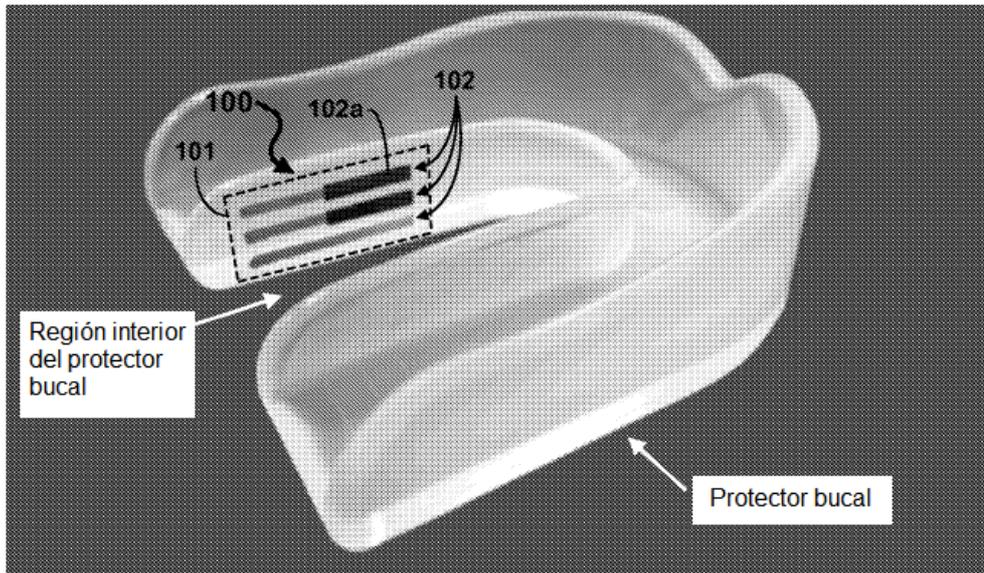


FIG. 1A

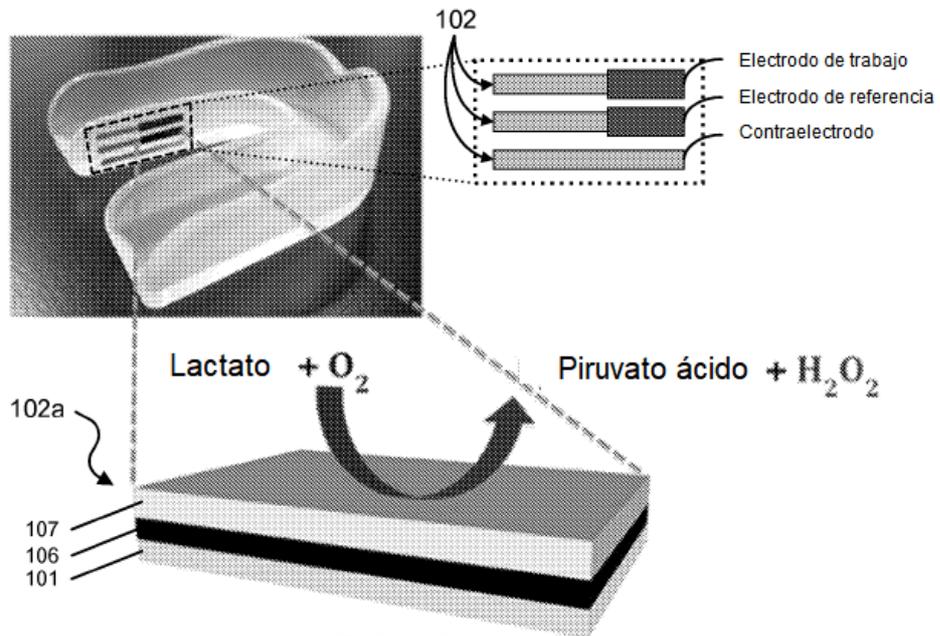


FIG. 1B

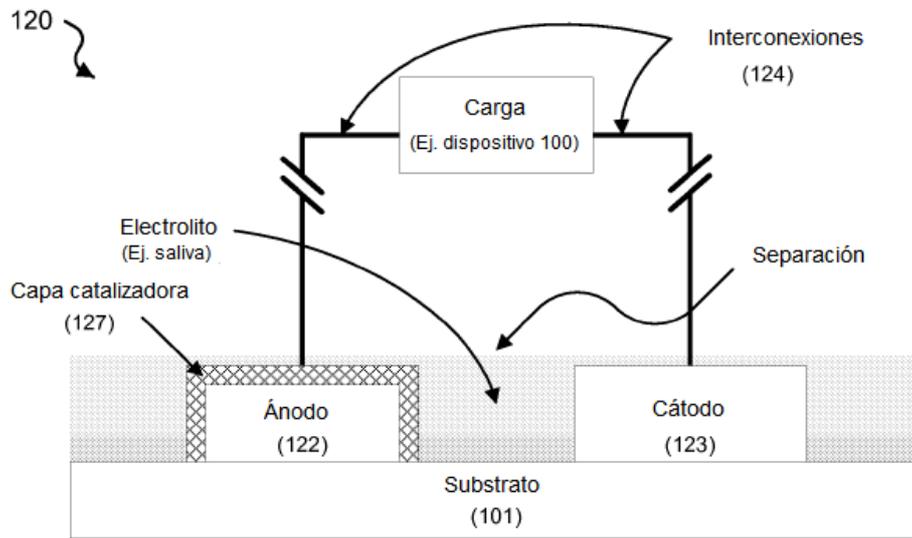


FIG. 1C

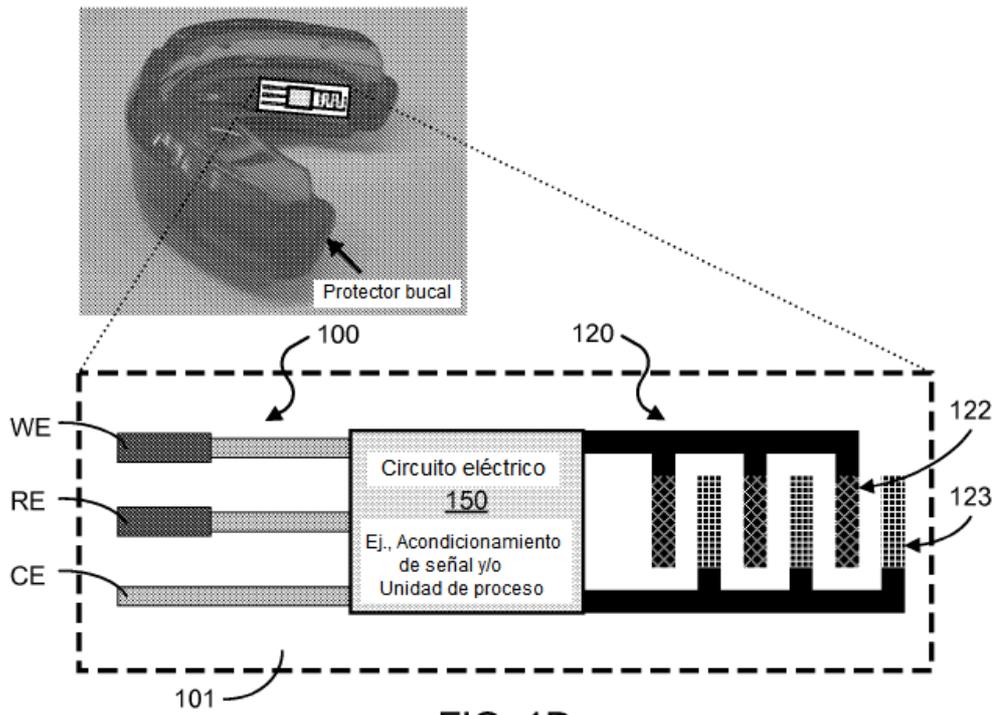


FIG. 1D

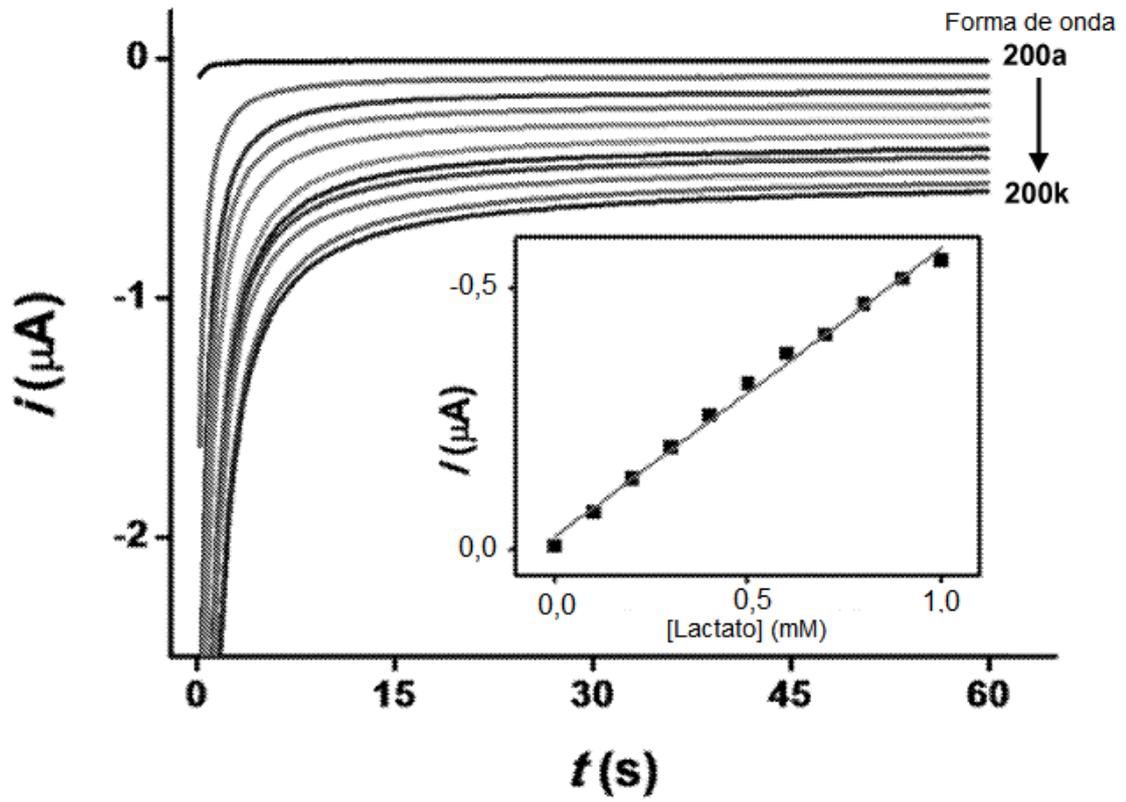


FIG. 2

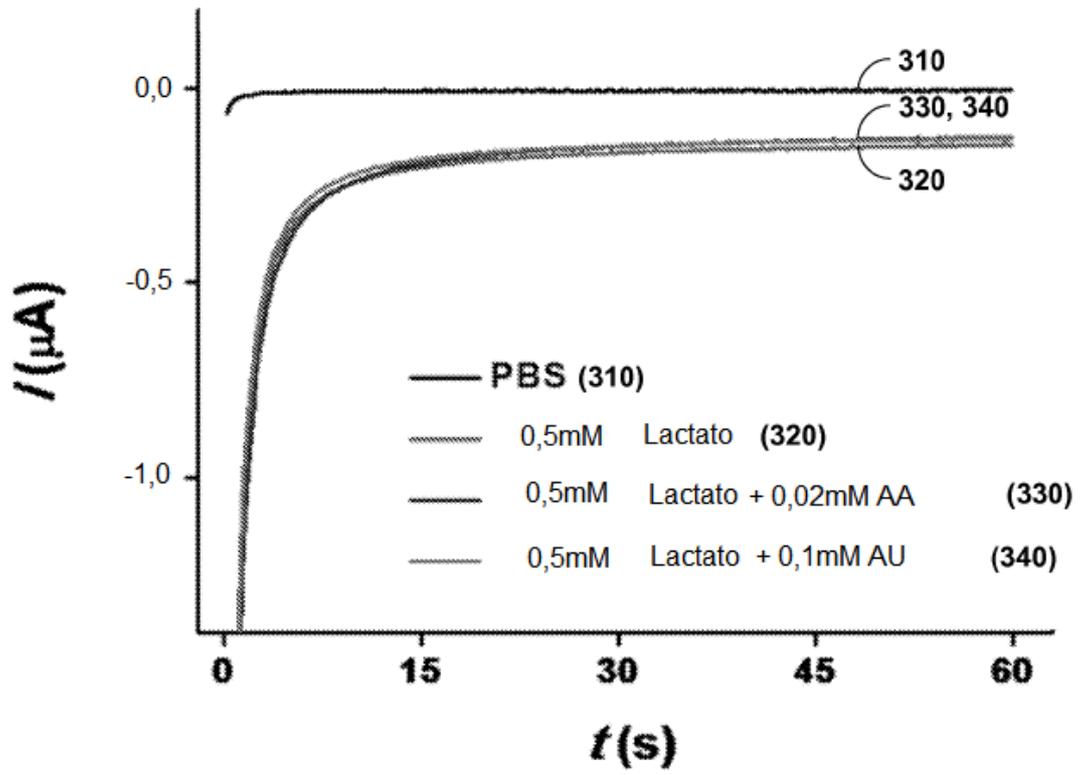


FIG. 3

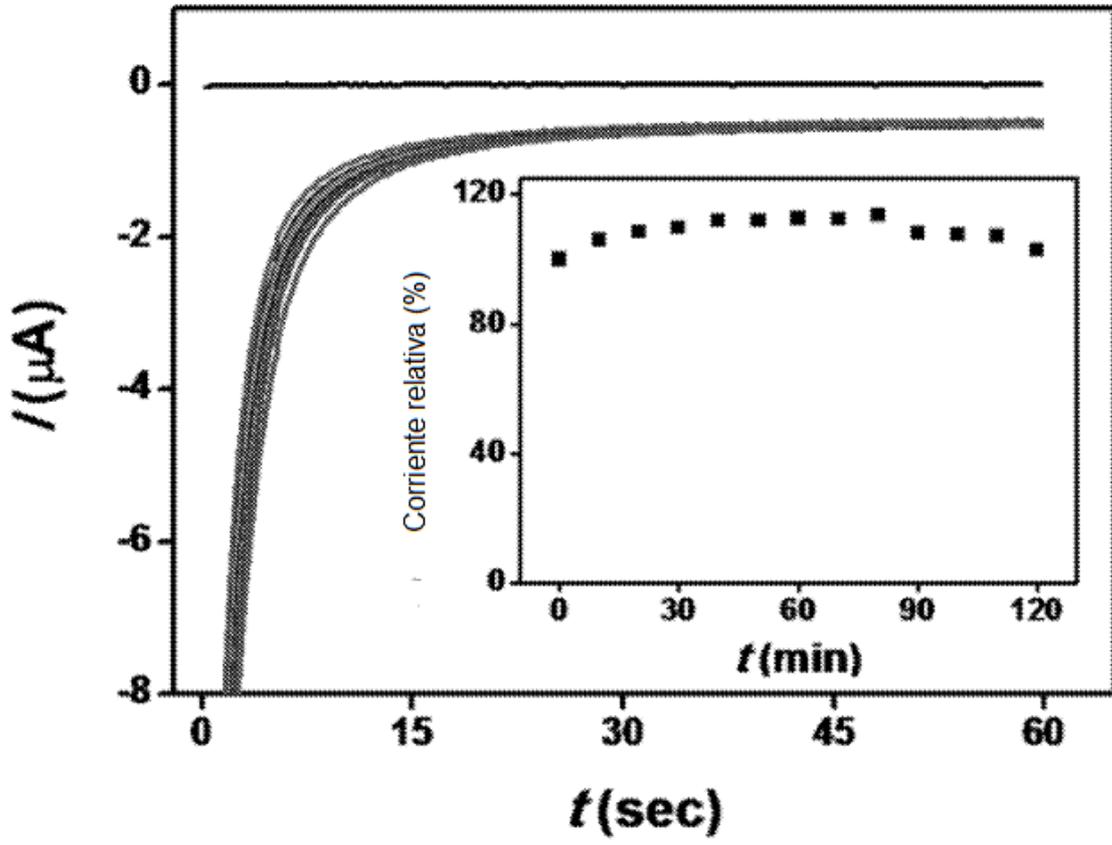


FIG. 4

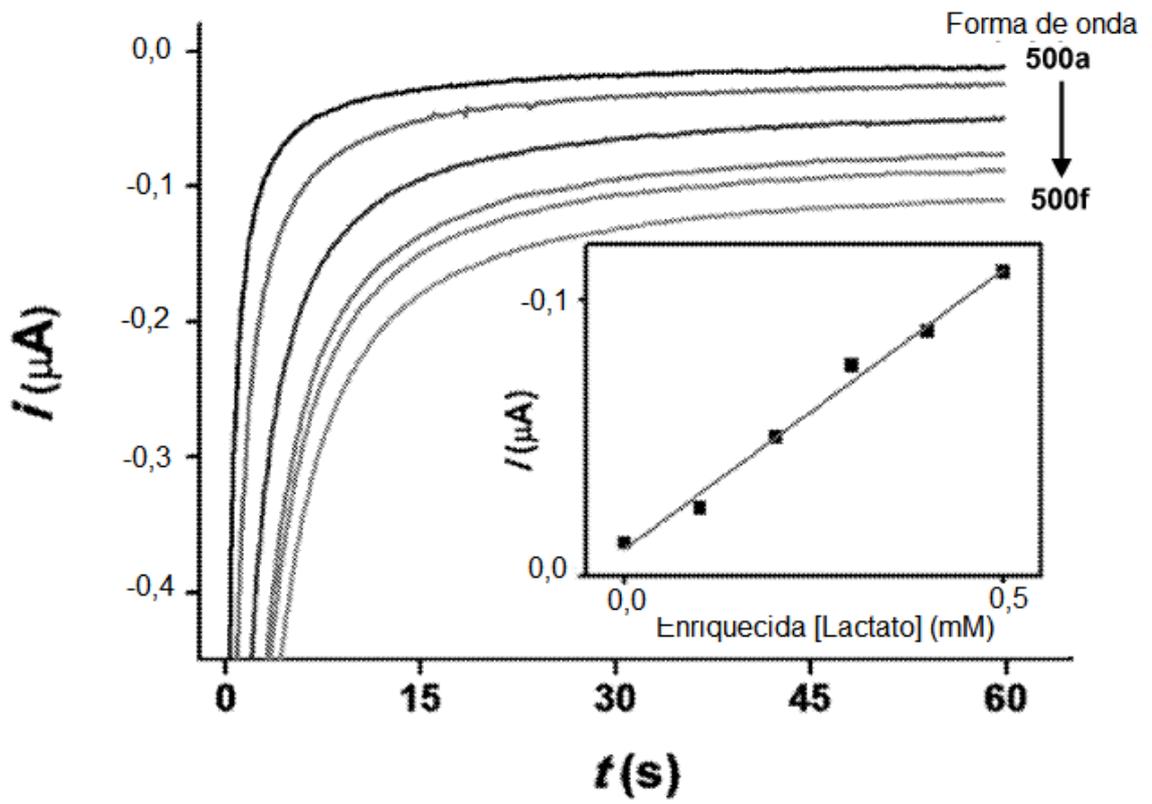


FIG. 5

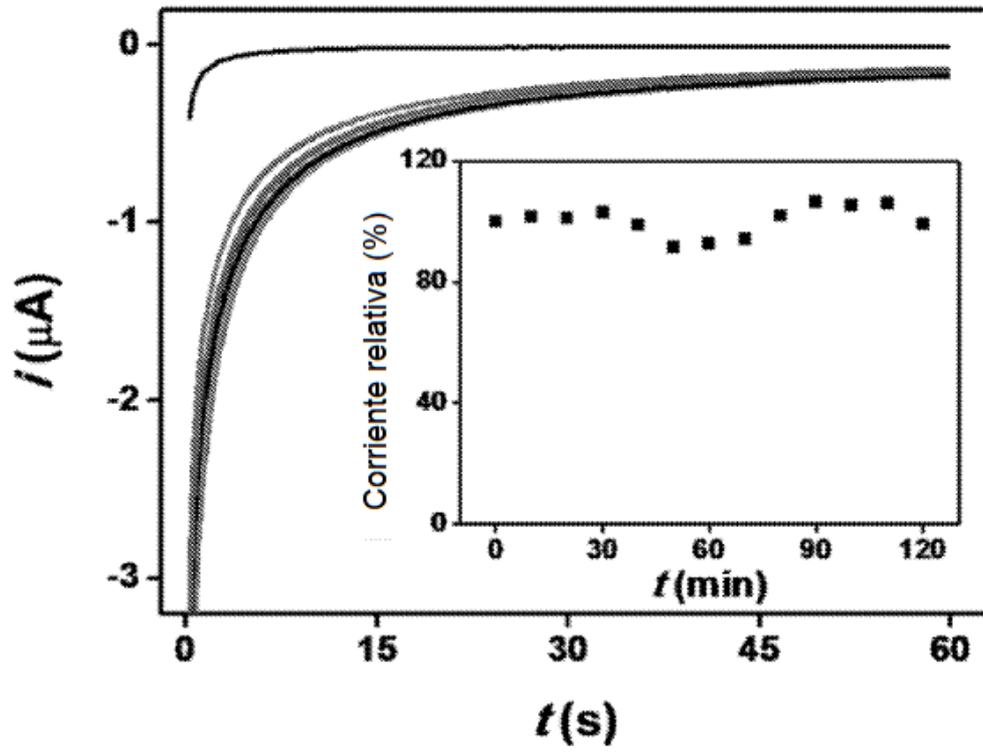


FIG. 6

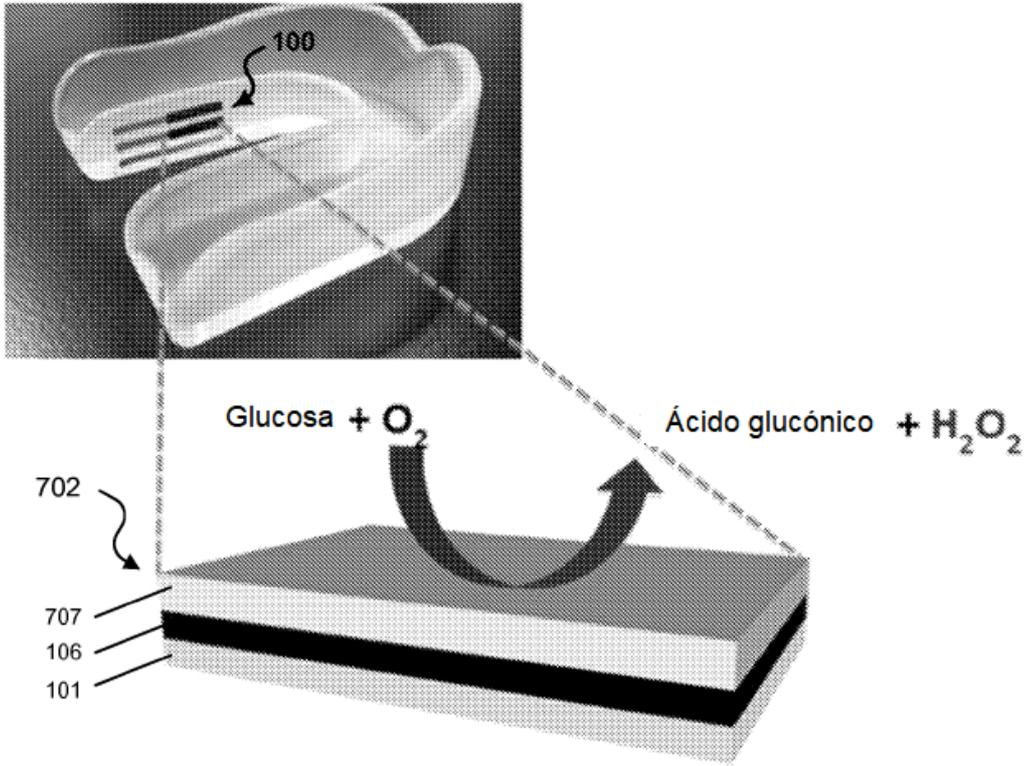


FIG. 7

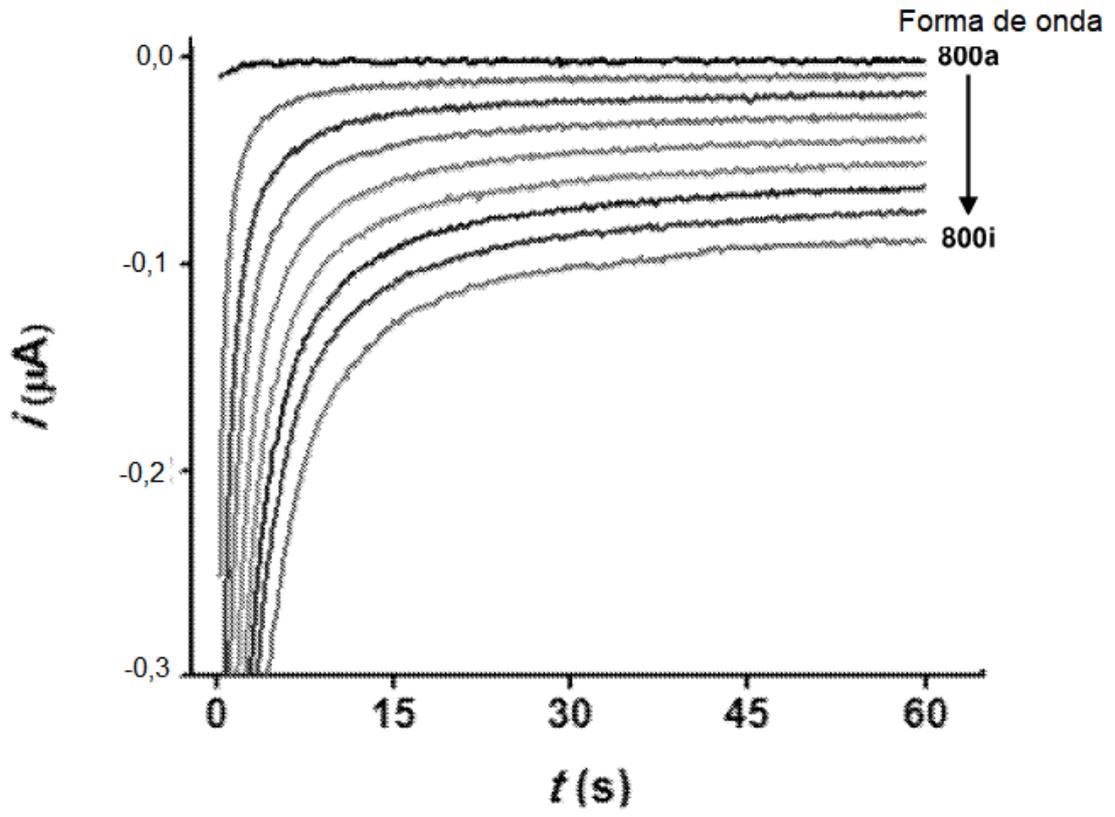


FIG. 8

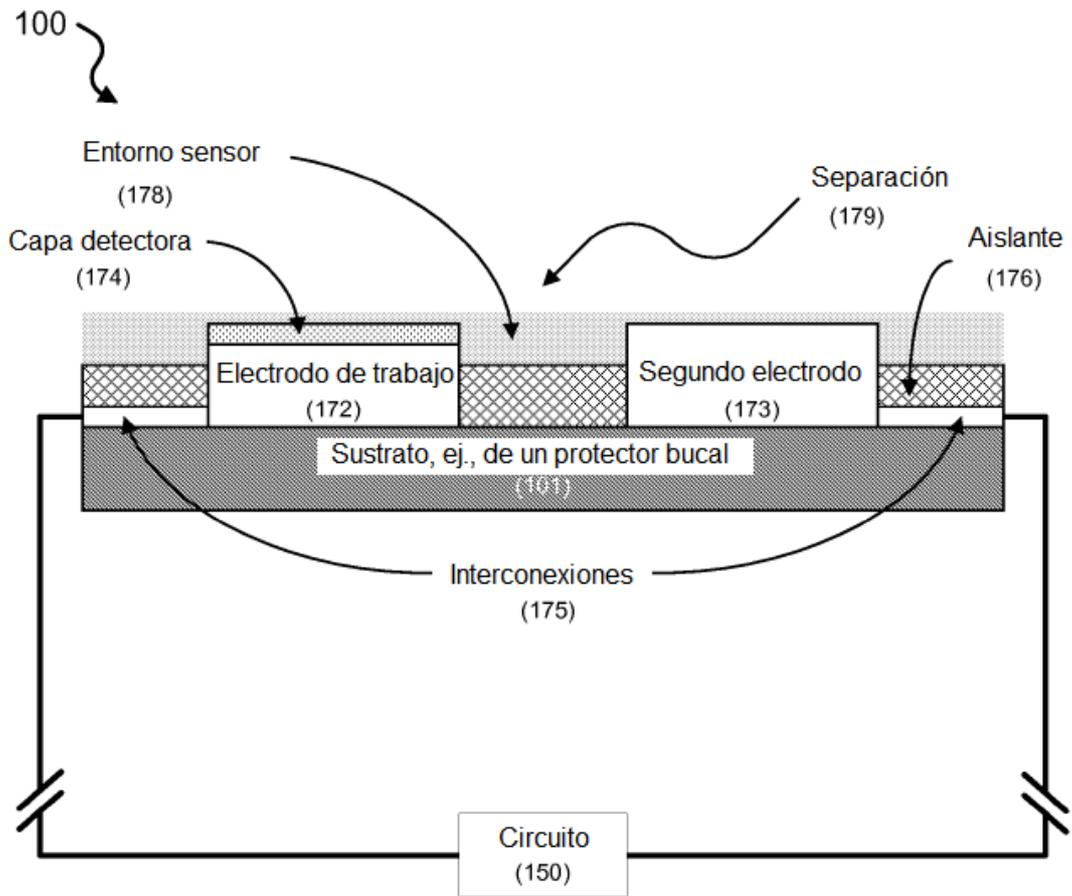


FIG. 9

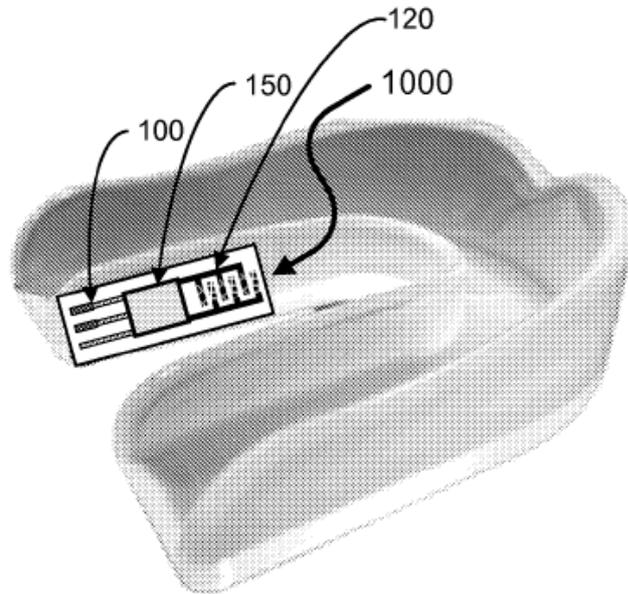


FIG. 10A

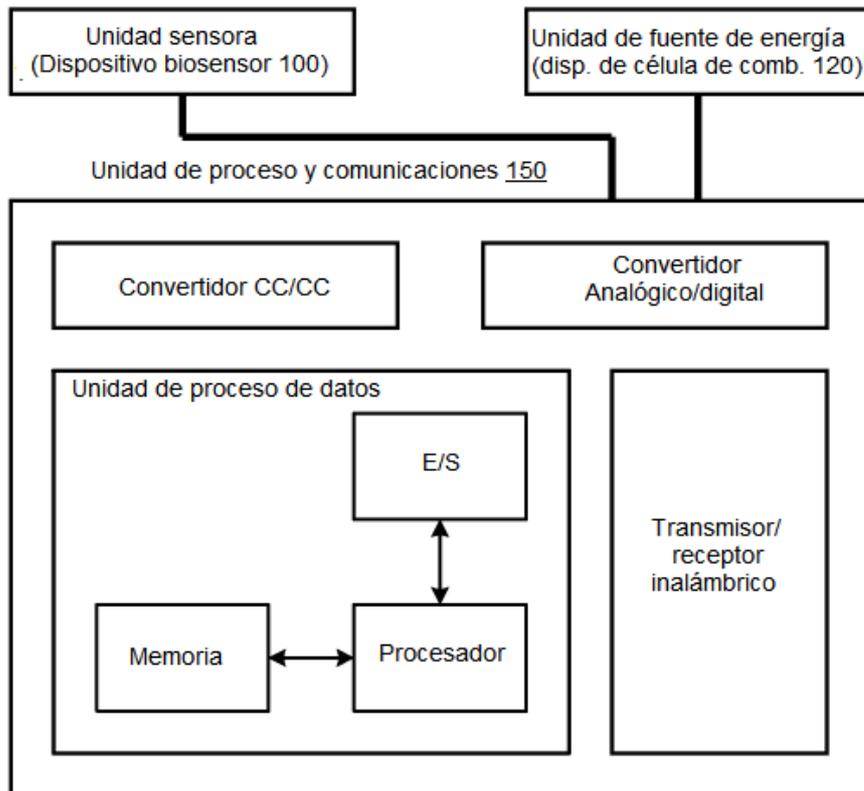


FIG. 10B

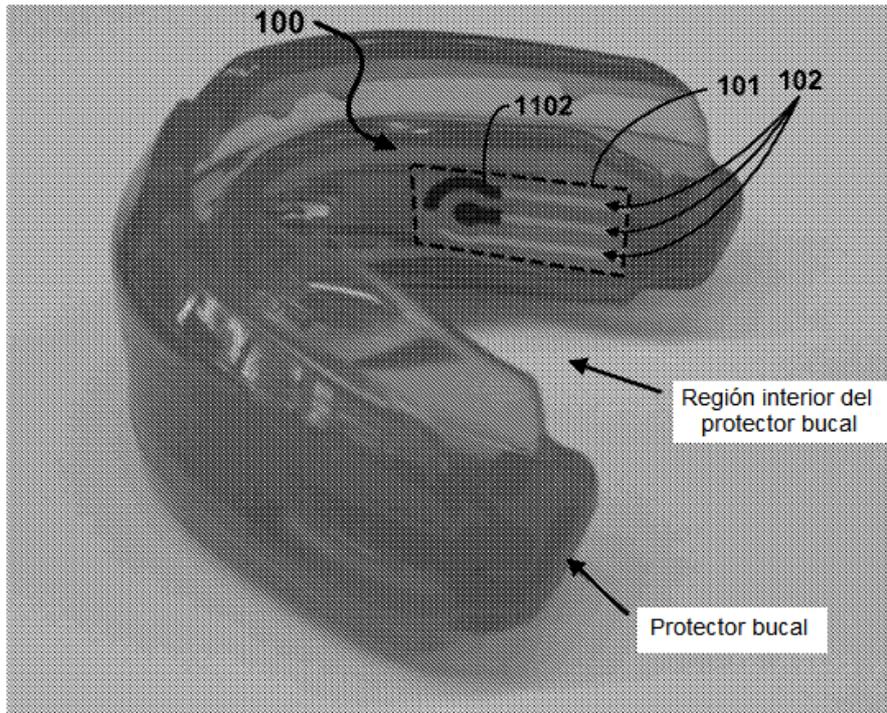


FIG. 11A

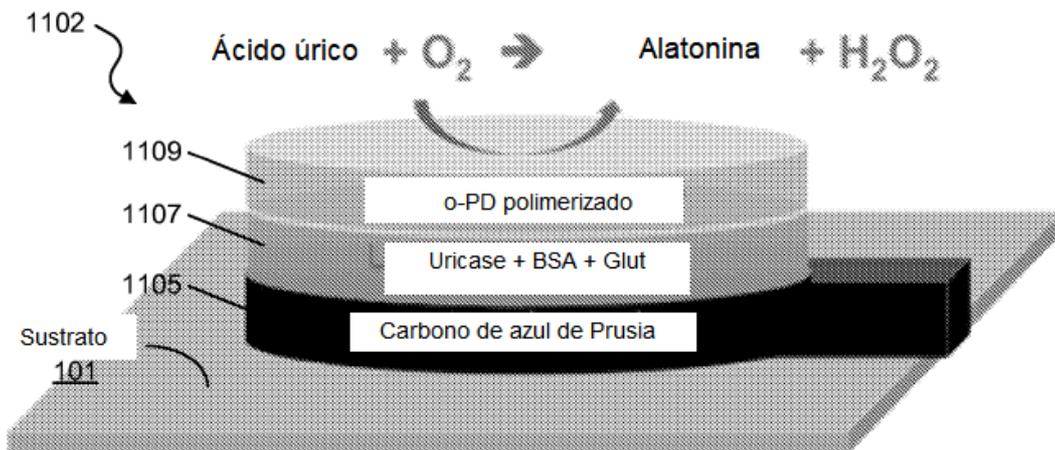


FIG. 11B

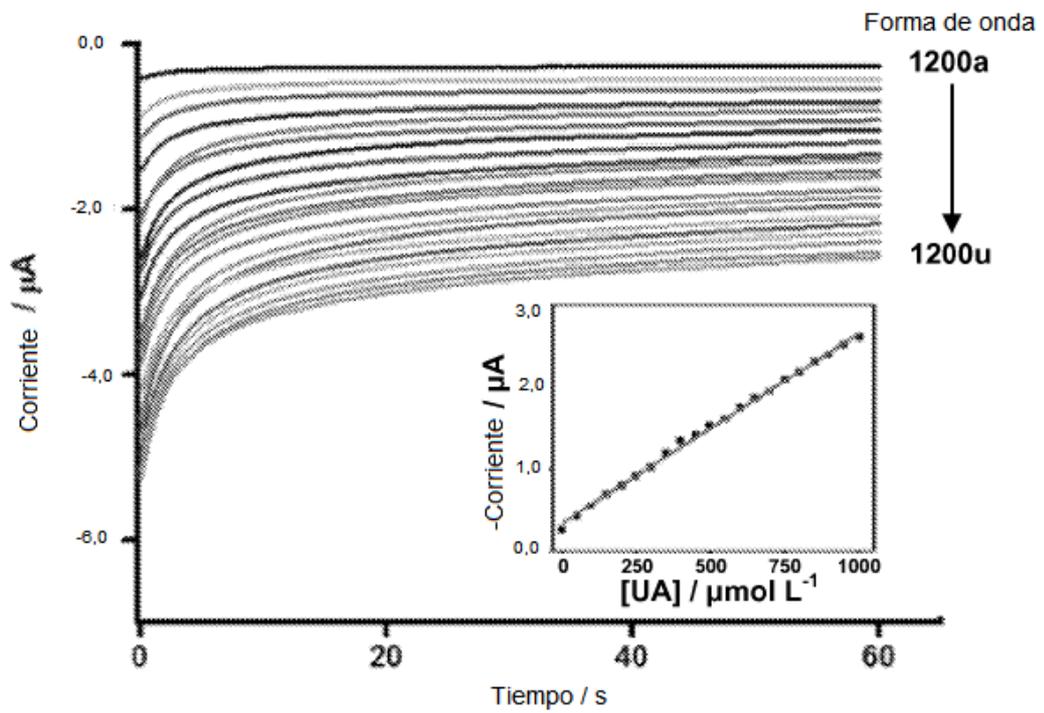


FIG. 12A

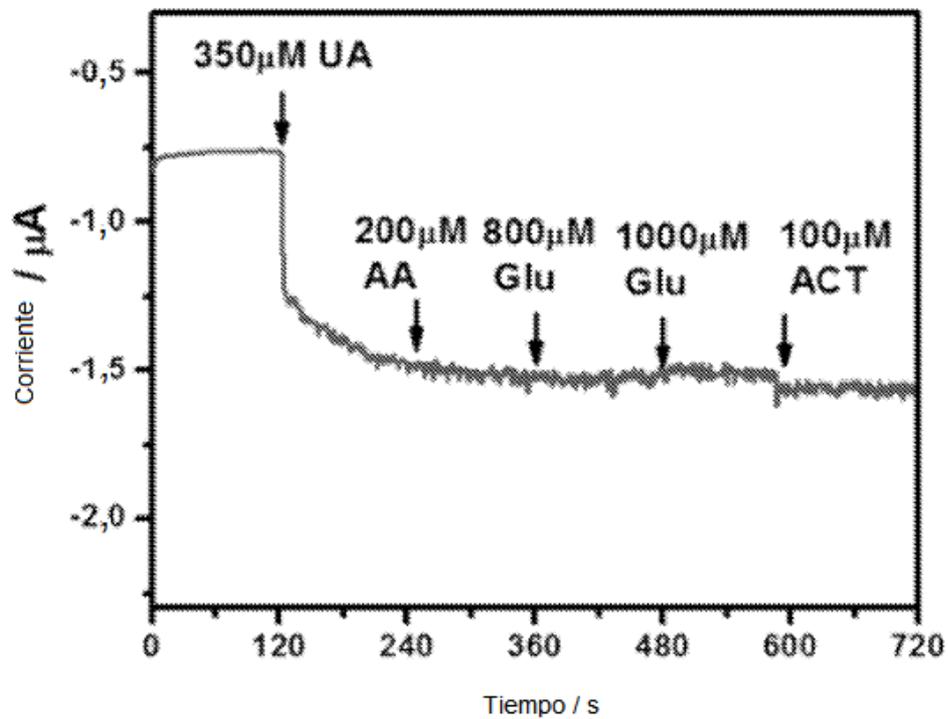


FIG. 12B

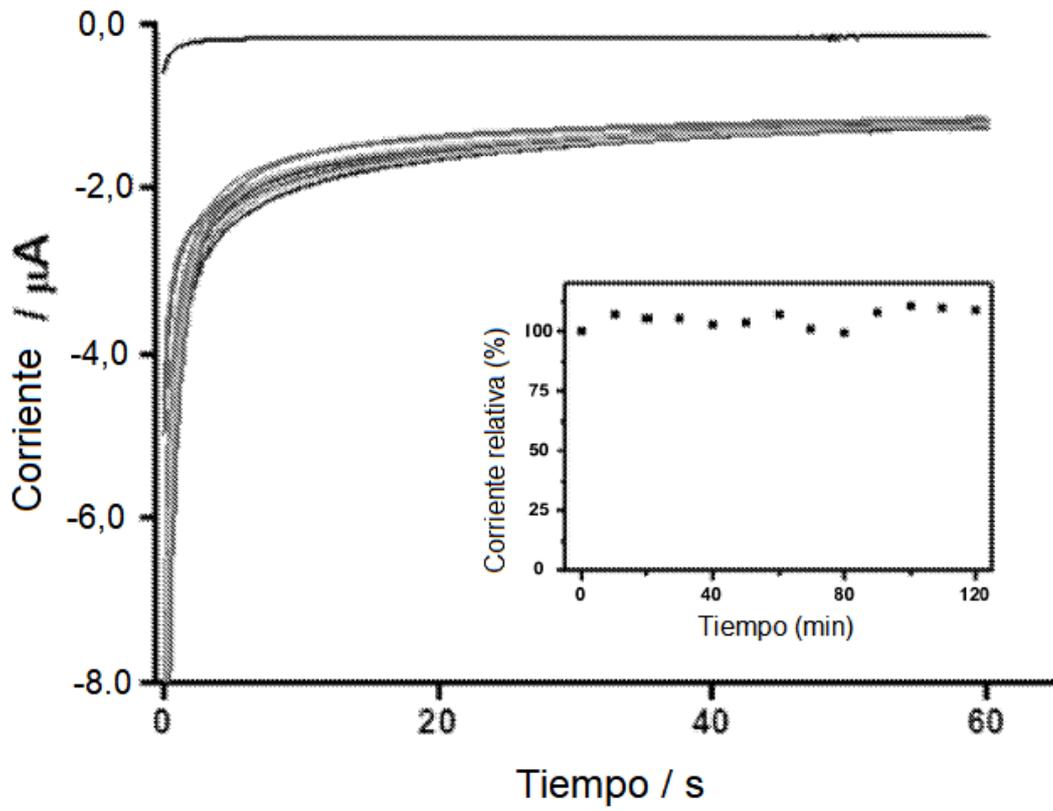


FIG. 12C

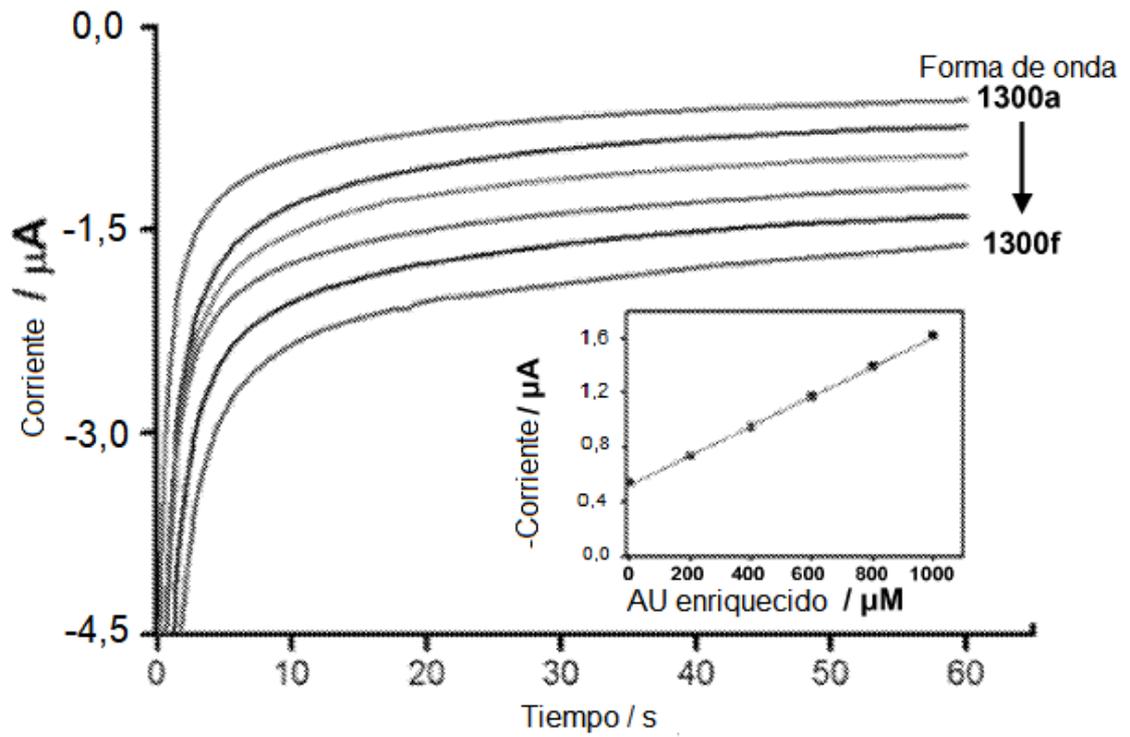


FIG. 13A

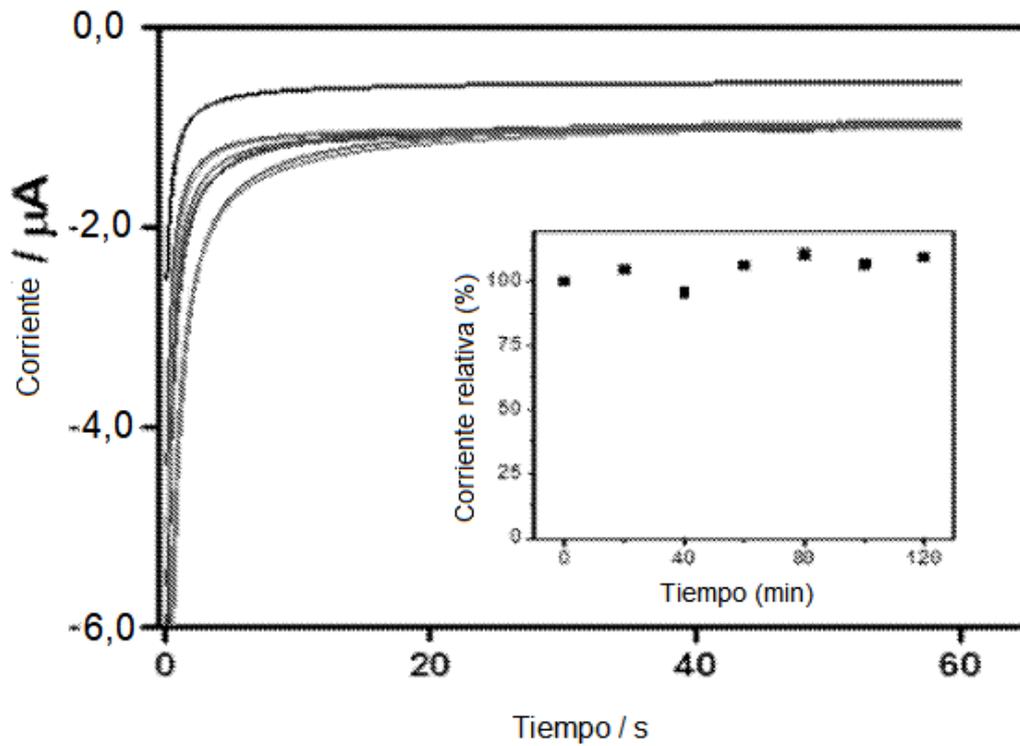


FIG. 13B

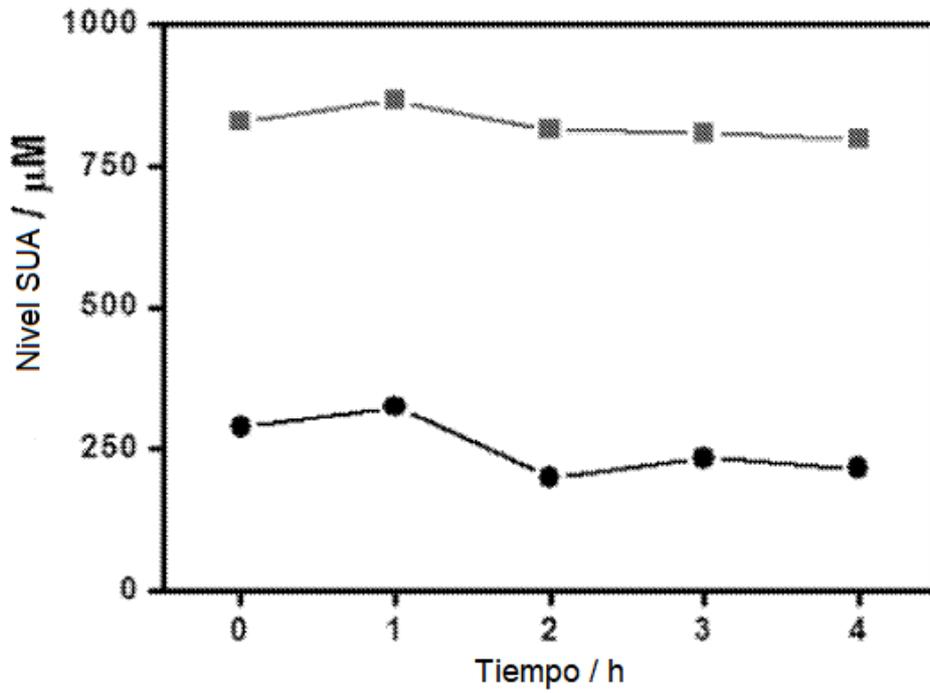


FIG. 14A

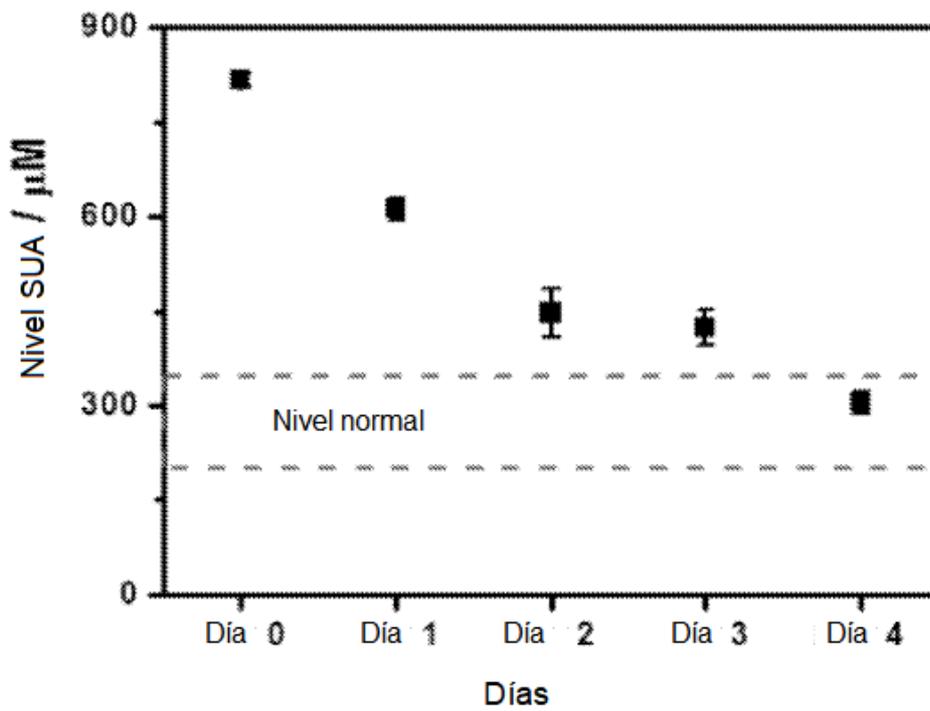


FIG. 14B