

МИКРОФЛЮИДНЫЕ БУМАЖНЫЕ СЕНСОРЫ – "ЛАБОРАТОРИЯ НА ЧИПЕ"

А.Новожилов, к.х.н. alik-nov@yandex.ru, А.Сафонов, к.т.н. asaf@niifp.ru

Микрофлюидные сенсоры на бумажной основе – это альтернативная технология изготовления простых, недорогих, портативных и одноразовых аналитических приборов для многих прикладных областей анализа, включая клиническую диагностику, контроль качества продуктов питания и мониторинг окружающей среды. Уникальные свойства бумаги, позволяющие пассивно перемещать жидкость и обеспечивать совместимость с химическими и биохимическими средами, дают возможность использовать ее в качестве чувствительной аналитической платформы. Методы изготовления и анализа могут быть адаптированы с учетом потребностей конечного пользователя и целей, которые должны быть достигнуты с помощью бумажных датчиков.

В современных датчиках на бумажной основе (рис.1) используются микрофлюидные механизмы доставки жидкости в зону реакции [1]. Несмотря на ограничения по точности и чувствительности, эти датчики считаются весьма перспективными. Предполагается, что в будущем, по мере развития технологии изготовления сенсоров и аналитических методов, датчики на бумажной основе будут широко использоваться в инновационных разработках, особенно в недорогих портативных устройствах с приемлемым уровнем чувствительности и селективности, функционирующих в реальном времени.

КОНСТРУКЦИИ И ТЕХНОЛОГИИ МИКРОФЛЮИДНЫХ БУМАЖНЫХ СЕНСОРОВ

Микрофлюидные бумажные сенсоры (МБС) могут быть одномерными, двух- и трехмерными (2D и 3D). В 1956 году было продемонстрировано [2] первое устройство (одномерный сенсор), в котором бумага

применялась для полуколичественного обнаружения глюкозы в моче. Затем на основе этих сенсоров стали выпускать иммунохроматографические средства анализа (также известные как плоские или щуп-тесты). Они представляют собой бумажную полоску с держателем образца, прокладкой, наполненной реагентом (содержит антитела, конъюгированные с индикатором сигнала, которые являются

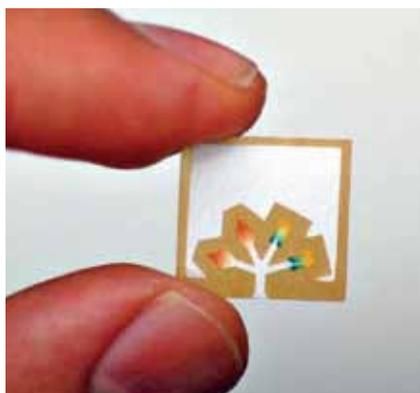


Рис.1. Датчик на бумажной основе

специфическими для антигена-мишени), и тестовой линией (захватывает антитела, иммобилизованные на поверхности). Когда образец вводится в держатель образца, антитела мигрируют вдоль полоски бумаги под действием капиллярных сил в зону, где имеющийся антиген связывается с антителом сигнала. Образовавшийся антиген-антитело продолжает распространяться по полоске бумаги, где впоследствии захватывается иммобилизованными антителами. Индикаторный сигнал обычно окрашивает латексные микросферы или наночастицы золота [3]. Эти надежные, простые и дешевые устройства, как правило, обеспечивают качественную индикацию типа "да/нет".

Для более точных и быстрых анализов подходят двумерные датчики с возможностью создания в них нескольких реакционных камер. С помощью этих датчиков можно не только тестировать аналит на наличие различных компонентов (например, на содержание глюкозы и протеина [4]), но и наблюдать многочисленные градации концентрации аналита. Реакционные камеры датчика соединены между собой гидрофильными каналами. Каналы и камеры ограничиваются гидрофобными барьерами. Методы изготовления барьеров могут быть разные: фотолитография [5-7], аналоговое черчение [2], струйная печать [8] и травление [9], плазменная обработка [10], вырезание бумаги [11], восковая печать [10], флексография [12], трафаретная печать [13] и лазерная модификация поверхности. Выбор метода зависит от используемого материала и типа конструкции. Рассмотрим перечисленные методы.

Фотолитография. При использовании литографии для создания микрофлюидных каналов применяется гидрофобный фоторезист, например, полимер SU-8 (рис.2). Гидрофильные каналы определяют путь проникновения жидкости. Поступившая в гидрофильный канал жидкость проникает через матрицу бумажных волокон под действием капиллярных сил. Была изготовлена топология, состоящая из трех ветвей с камерами (см. рис.2), куда помещались различные реагенты для определения глюкозы и белка. Для получения гидрофильного канала, ограниченного гидрофобным барьером, может применяться и метод физического осаждения через трафарет воска [13, 14] (см. рис.2), полидиметилсилоксана [2] и полистирола [12].

Одна из возможных проблем при использовании фотолитографии для создания микрофлюидных каналов [2] – повреждение фоторезиста в процессе сгибания или складывания. Для ее решения была предложена печать эластомерного

полидиметилсилоксана на бумагу с помощью плоттера. Полученные таким способом бумажные сенсоры складываются без разрушения канала. Кроме того, метод отличается высокой производительностью, позволяет использовать недорогие материалы и подходит для применения в передовых научно-исследовательских лабораториях, где разрабатываются микрофлюидные устройства размерами ~1 мм.

Восковая печать. Топологический рисунок из твердого воска (см. рис.2) наносится на поверхность бумаги и нагревается (в печи, на плите или

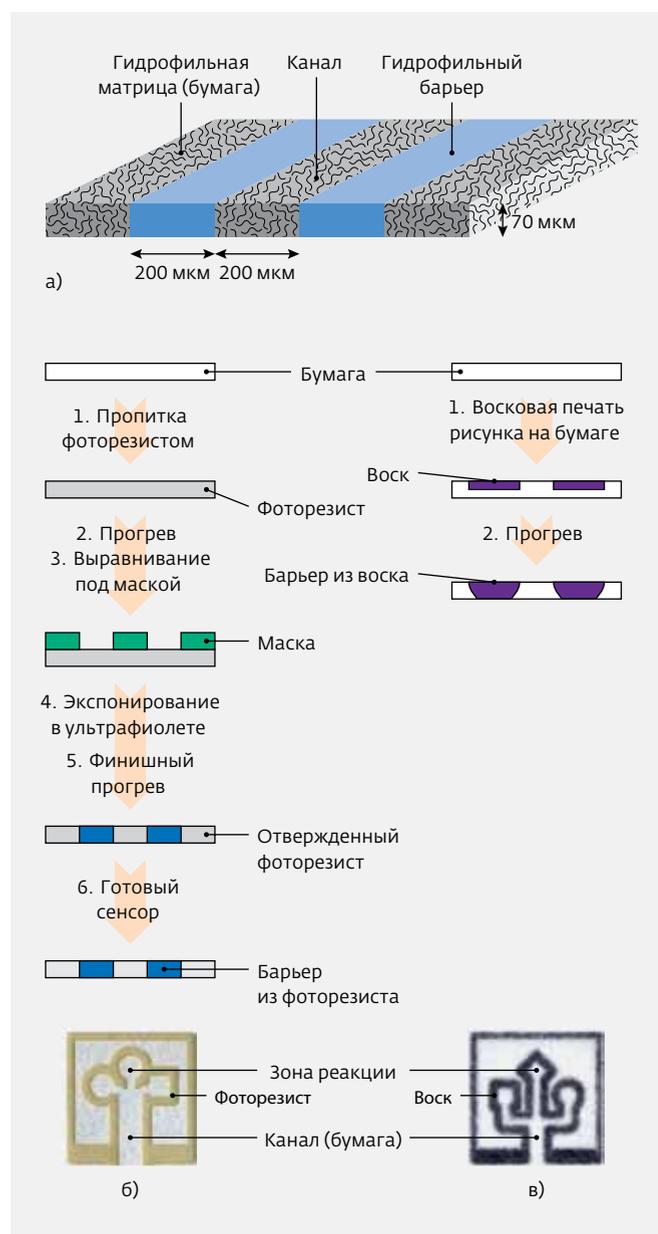


Рис.2. Изготовление МБС (а) методом фотолитографии (б) и восковой печати (в)

с помощью тепловой пушки), чтобы расплавить воск. Данный метод печати особенно эффективен для быстрого (за несколько минут) прототипирования устройства. При изготовлении большого количества датчиков предпочтение отдают методике восковой печати, поскольку по сравнению с фотолитографией выполняется меньше операций при формировании гидрофобного барьера. Нагрев способствует проникновению воска по вертикали и горизонтали в целлюлозную матрицу. Проникновение воска вертикально через бумагу будет ограничивать поток раствора в нужной области. По бумаге с волокнистой структурой воск в горизонтальном направлении распространяется быстрее, поэтому занимает более широкую область по сравнению с первоначальной (сразу после его нанесения). Таким образом, воспроизводимость метода восковой печати в значительной мере зависит от ширины участка нанесения воска и температуры нагрева.

Метод погружения в воск. Вместо восковой печати на бумаге для изготовления датчиков можно использовать метод погружения в воск [14]. К помещенной на предметное стекло бумаге с помощью магнита, расположенного на оборотной стороне стекла, крепится железная форма с рисунком (топологией каналов). Затем бумага опускается в расплавленный воск и выдерживается в течение одной секунды. Как только бумага остынет, железная форма удаляется. В местах, где на форме были полоски, образуются гидрофильные каналы.

Другие методы. Метод *трафаретной печати воском* заключается в том, что через трафарет на бумагу наносится рисунок, который затем расплавляется и воск проникает сквозь бумагу [13].

Метод *струйного травления и плазменной обработки* предусматривает процедуру *селективного удаления или изменения гидрофобного материала* после его

нанесения. Например, гидрофильные каналы формируются на изначально гидрофобизированной бумаге благодаря погружению ее в раствор толуола, содержащий полистирол [9]. Затем гидрофильную бумагу помещают между двумя металлическими масками с рисунком и по окончании процесса травления в плазме гидрофильные каналы готовы. Плазменную обработку можно использовать и для химической модификации поверхности [15]. Фильтровальная бумага погружается в гидрофобизирующий раствор (алкилкетеновый димер, АКД), а затем лист гидрофобной АКД-обработанной бумаги зажимается между двумя металлическими масками, и гидрофильные каналы для жидкости образуются в результате плазменной обработки бумаги.

Вырезание сенсора соответствующей конфигурации – один из простейших методов создания бумажных датчиков (рис.3).

В зависимости от типа анализов, которые должны выполняться на бумажных устройствах, может потребоваться интеграция других элементов. Например, для проведения электрохимического анализа на бумагу методом трафаретной печати были нанесены электроды [16].

При использовании бумаги как цветового индикатора в качестве материала для окрашивания молекул применяются включения наночастиц металлов. Были продемонстрированы сенсоры с наночастицами золота на бумажной основе для обнаружения эндонуклеазы, расщепляющей ДНК [3].

Рассматриваемые технологии применяются для изготовления одномерных, двумерных и трехмерных систем. Трехмерные сенсоры позволяют ускорить доставку образцов аналита и мультиплицировать анализы посредством вертикального измерения [12]. Принципы бумажных сенсоров 2D и 3D были описаны многими исследователями [6, 13, 17]. Как уже отмечалось, в микрофлюидных устройствах 2D рисунок гидрофобных стенок создается с помощью воска или фоторезиста на листе фильтровальной бумаги. Микрофлюидные устройства 3D можно получить путем сложения 2D-устройств [6]. Отверстия между слоями формируются с помощью лазера и заполняются целлюлозой. Такие 3D-устройства позволяют доставлять от одного входного отверстия образцы жидкости микролитрового объема во многие зоны детектирования [17] (рис.4).

Сравнительные конструктивные параметры сенсоров, изготовленных по различным технологиям, приведены в табл.1.

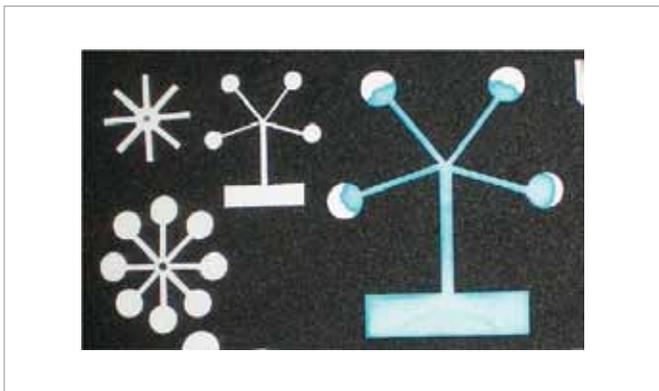


Рис.3. Изготовление МБС вырезанием

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ С ПОМОЩЬЮ МИКРОФЛЮИДНЫХ БУМАЖНЫХ СЕНСОРОВ

Обычные датчики на бумажной основе позволяют пользователям производить простые, массово тиражируемые устройства анализа по доступной цене. Но для создания аналитического прибора необходимы дополнительные реагенты, материалы и приборы, реализующие различные методы количественного анализа (колориметрический [5, 7, 9, 11, 18], электрохимический [15, 16, 19], хемолюминесцентный [20, 21], электрохемолюминесцентный и метод контроля электропроводности [22]).

Колориметрический метод широко используется для получения полуколичественного результата или ответа типа "да/нет" (зачастую этого достаточно для выполнения анализа). Пожалуй, это самый простой метод, поскольку изменение цвета может быть определено "на глаз" для ферментной или химической реакции, например, колориметрического детектирования глюкозы и белка [5]. Изменение цвета фиксируется при распространении образца через зону реакции.

При анализе глюкозы положительный результат устанавливается, когда цвет изменяется от прозрачного до коричневого, что объясняется ферментативным окислением йодида до йода.

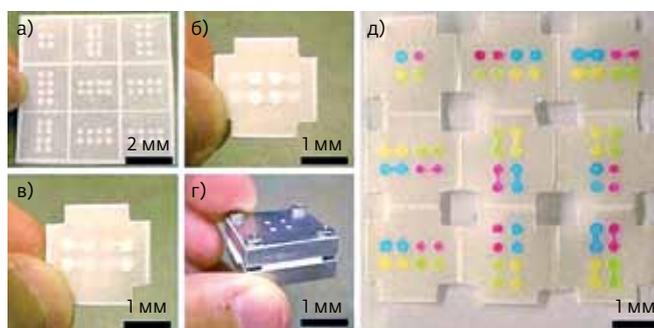


Рис.4. Трехмерный датчик: фильтровальная бумага с каналами, изготовленными методом фотолитографии в развернутом виде (а); функциональный слой с четырьмя входными и выходными резервуарами, вид сверху (б); функциональный слой, вид снизу (в); сложенный многослойный сенсор в держателе (г); развернутый 9-элементный датчик после инъекции одного миллимоля растворов родамина (красный), эриоглицина (голубой), тетразина (желтый) и смеси 1 : 10 эриоглицина и тетразина (зеленый) – (д)

При анализе белка положительный результат подтверждается изменением цвета тетрабромфенола с желтого на синий. В работе [18] рассматривается пример обнаружения меди с использованием наночастиц серебра (AgNP) на бумажной подложке.

Таблица 1. Сравнительные конструктивные параметры сенсоров, изготовленных по различным технологиям

Метод	Канал, мкм	Барьер, мкм	Преимущества	Недостатки
Фотолитография	200	250	Широкий диапазон размеров подложки	Гидрофильные области подвержены воздействию растворителей
Плоттер	1000	1000	Гидрофильные области не подвержены воздействию растворителей, возможность изгиба подложки	Требуется специальный плоттер
Струйная печать	450		Реагенты могут вводиться в тестовые зоны принтером	Гидрофильные области подвержены воздействию растворителей, требуется специальный принтер
Плазменное травление	1500		Быстрое тиражирование	Гидрофильные области подвержены воздействию растворителей, требуется металлическая маска
Вырезание	1000	700	Гидрофильные области не подвержены воздействию растворителей	Подложка должна иметь вид ленты, ограничения по форме рисунка
Восковая печать	550	850	Быстрое тиражирование, гидрофильные области не подвержены воздействию растворителей	Необходимо учитывать динамику проникновения воска через бумагу

Хотя приведенные выше методы анализа не требуют дополнительного оборудования, они уступают в точности методам УФ-спектроскопии и атомно-абсорбционной спектроскопии. Это обусловлено тем, что люди по-разному воспринимают цвет и его интенсивность глазом, дополнительное влияние оказывает не только свет, но и состояние бумажной подложки (сухая или влажная). Для повышения точности и чувствительности метода можно измерять видимые изменения цвета с помощью камеры телефона или сканера. Снимок передается на компьютер, который с помощью программного обеспечения интерпретирует изменение цвета.

Электрохимический метод часто реализуется с помощью трехэлектродной системы, состоящей из счетного, опорного и рабочего электродов. Система создается на бумаге, причем электроды, как правило, выполняются проводящими чернилами, в том числе на основе серебра и золота. Данный метод используется для обнаружения глюкозы, лактозы и мочевой кислоты, тяжелых металлов.

Метод электрической проводимости основан на факте изменения проводимости материала

при наличии химического вещества. Несмотря на простоту и низкое энергопотребление, методика применялась пока только для обнаружения веществ в газовой фазе, например, этанола [22]. Многослойные углеродные нанотрубки, используемые в качестве электродов, добавлялись в порошок наночастиц оксида индия олова, нанесенный на бумагу. Этанол был обнаружен на воздухе в результате приложения к электродам напряжения треугольной формы.

Метод хемолюминесценции, выбранный для обнаружения глюкозы и мочевой кислоты [20], основан на реакции хемилюминесценции между производными родамина и перекиси водорода. Устройство состоит из инжекционного отверстия для введения образца, двух биологически активных каналов с иммобилизованными ферментами (оксидазы глюкозы и уратоксидаза) и двух хемилюминесцентных областей обнаружения, содержащих производные родамина. Бумажная подложка находится между двумя водонепроницаемыми клейкими лентами. Количественный анализ проводится по пиковой интенсивности излучаемого света, которая пропорциональна концентрации анализируемого вещества.

ПРИМЕНЕНИЕ БУМАЖНЫХ ДАТЧИКОВ

Медицинская диагностика. Бумажные микрофлюидные сенсоры представляют интерес прежде всего в качестве базы для устройств типа "лаборатория на чипе" (LOC). Такие устройства, помогающие свести к минимуму объем лабораторных анализов, позволяют проводить диагностику "у постели больного" (point of care, POC) [23]. Выпускаемая продукция LOC основана на технологии микрофлюидных чипов, стеклянных или пластиковых. Эта относительно дорогостоящая технология предусматривает процессы литографии в "чистых" комнатах.

Микрофлюидный чип, функционирующий в качестве аналитического датчика, должен содержать каналы, коннекторы и клапаны с насосами. И хотя последние могут быть вынесены за пределы чипа (внешние насосы), они тем не менее значительно увеличивают стоимость диагностического оборудования. Поэтому многие разработки направлены на преодоление этих ограничений и устранение необходимости применения активных насосов.

Проблема может быть решена, например, за счет использования пористых материалов, которые обеспечивают пассивный транспорт жидкости в диагностическом приборе. В этом случае можно отказаться от внешнего силового оборудования (насосов) для работы, устройства могут быть изготовлены путем быстрого прототипирования. Бумажные микрофлюидные сенсоры в наибольшей степени отвечают функциональным и экономическим требованиям, предъявляемым к "лаборатории на чипе" как массовой продукции.

На сегодняшний день проведен ряд исследований с применением таких сенсоров. В качестве аналитов использовались глюкоза [5-7, 9, 10, 13, 20], мочева кислота [15], белок [5, 7, 17], лактоза [24], нитраты [7, 15, 17], кетон [7, 17], холестерин [25] и нуклеиновая кислота.

В медицинской диагностике выявление заболеваний на ранней стадии очень важно для успешного лечения. С помощью дешевых бумажных микрофлюидных устройств диагностика становится доступной для медицинского персонала разной квалификации, результат можно получить быстро и с небольшими затратами. Примером такого приложения является работа [21]. С помощью трехмерного чипа была продемонстрирована возможность обнаружения в образцах цельной крови методом хемолюминесценции четырех биомаркеров рака (R-фетопrotein (AFP), рак антиген 153 (CA153), рак антиген 199 (CA199) и карциноэмбриональный антиген (CEA)). Важно, что анализ

можно выполнить за один этап (нет необходимости в нескольких процессах промывки, как при использовании других методов).

Определение типа крови также имеет решающее значение для многих медицинских процедур. Тем не менее, нет удобных и дешевых одноразовых тестов для прямого анализа проб крови. В качестве альтернативного материала для недорогих датчиков крови предлагается бумага. Принцип тестирования, предложенный в работе [26], основан на агглютинации эритроцитов при взаимодействии с антителами на иммуноглобулин M. Бумага используется в качестве субстрата, а влажность и проницаемость аналита – в качестве индикатора агглютинации.

Инфекционные бактериальные агенты представляют серьезную опасность для людей и животных. Такие бактерии, как синегнойная палочка и золотистый стафилококк, заражают поврежденные ткани или подавляют иммунную систему, что может привести к опасным для жизни заболеваниям. Простой и быстрый датчик для обнаружения этих бактерий очень востребован, особенно если учесть, что современные методы выявления бактерий требуют применения сложных методов и усилий квалифицированного персонала. При бактериальном анализе бумажный сенсор работает как мембрана. Бактерии обнаруживаются по характеру и динамике интенсивности цвета после введения в мембрану исследуемого вещества. Цвет изменяется в результате реакции на специфические антитела, меченные наночастицами золота. Данный способ позволяет провести быстрый безреагентный анализ и обнаружить бактериальные клетки в диапазоне 5–500 CFU/мл.

Контроль пищевых продуктов. Для обнаружения этанола применяется электрохимический метод, в качестве считывателя используется глюкометр [19], который позволяет непосредственно на месте установить наличие этанола, без отправки образца в лабораторию. Датчик действует по принципу выявления ферментативного этанола и алкогольдегидрогеназы при наличии β -NAD⁺ и феррицианида, выступающих в роли посредника для переноса электрона.

Анализ содержания пестицидов в напитках и пищевых образцах производится датчиком, который состоит из фермента ацетилхолинэстеразы и ацетата индофенола, результат их взаимодействия выражается в оттенках синего цвета. На наличие пестицидов указывает снижение интенсивности голубого цвета, что интерпретируется с помощью цифровой камеры.

Контроль окружающей среды. Датчик для обнаружения золота в промышленных отходах разработан на основе комбинации электрохимического и колориметрического методов. Для определения свинца создан электрохимический бумажный сенсор, использующий фильтрующие свойства бумаги [16]. Предлагаются датчики и для определения таких вредных примесей, как кадмий, ртуть, никель [27]. Достигнутый диапазон линейности составляет 5–100 мг/л для Pb и Hg, 2–100 мг/л для Cd, 5–200 мг/л для Ni.

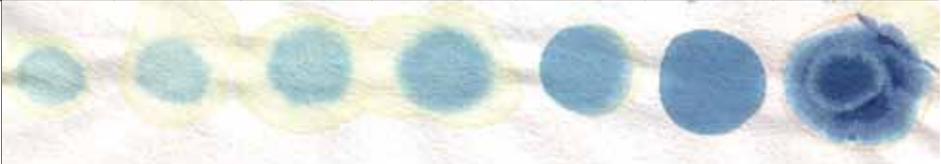
Загрязнение воды – глобальная проблема, затрагивающая не только людей, но и экосистемы. Один из опасных токсинов, микроцистин-LR, производится цианобактериями и приводит к загрязнению воды и массовым отравлениям. Среди многочисленных методов обнаружения загрязнения или токсинов в воде очень нелегко найти простой, недорогой и эффективный способ. Предельно допустимая концентрация микроцистинов в питьевой воде – 1 нг/мл. Для обнаружения токсина создан датчик на основе нанотрубок [28]. Метод анализа оказался весьма чувствительным – предел обнаружения составляет 0,6 нг/мл. Анализ занимает меньше времени по сравнению с применением такого традиционного метода, как ELISA (ферментно-связанный иммуноферментный анализ).

Носимый на одежде датчик предлагается для оперативного обнаружения опасной для жизни концентрации угарного газа в воздухе [29], что особенно актуально при тушении пожаров.

ОТЕЧЕСТВЕННЫЕ РАЗРАБОТКИ

Авторы исследовали возможность создания микрофлюидных устройств на бумажных носителях с применением технологии трафаретной печати – одного из наиболее доступных и производительных методов. Несмотря на ограничения по разрешающей способности, трафаретную печать можно использовать в случаях, когда важно минимизировать стоимость устройства.

Таблица 2. Определение концентрации ионов Fe^{+2}

Номер аналита	1	2	3	4	5	6	7	8
Fe^{+2} г-ион/10мл	0	0,0001	0,00025	0,0005	0,00125	0,0025	0,005	0,05
Калибровочная шкала								

Качество трафаретной печати обеспечивалось путем рационального подбора свойств основы (бумаги), полимера для гидрофобизации стенок каналов, растворителя для приготовления раствора полимера, температуры и времени сушки заготовки в сочетании со свойствами трафарета (высота и ширина окон) для нанесения рисунка.

При проведении исследований использовались четыре сорта фильтровальной бумаги с размерами пор от 2 до 12 мкм. В качестве гидрофобных полимеров применялись полиметилметакрилат (ПММА) с молекулярной массой 25 тыс. и полистирол с молекулярной массой 35 тыс.

Нанесенные через трафарет рисунки для каждого из сортов бумаги при разной концентрации растворов ПММА и ПС высушивались в термостате и визуально анализировались под микроскопом на предмет отклонения ширины стенок каналов от размеров на трафаретной сетке. Гидрофобность стенок каналов и резервуаров проверялась с помощью воды, помещаемой в центральный резервуар тестовой структуры (10 мкл). Нераспространение воды за пределы замкнутого контура свидетельствовало о герметичности системы.

Возможность использования бумажных сенсоров, изготовленных методом трафаретной печати, для проведения количественного экспресс-анализа продемонстрирована на примере определения трехвалентного железа. Каждый сенсор содержал восемь периферийных резервуаров, соединенных с центральным резервуаром.

Определение концентрации ионов Fe^{+2} в растворе основано на взаимодействии солей двухвалентного железа с феррицианидом калия $K_3[Fe(CN)_6]$, в результате чего образуется темно-синий осадок комплексной соли $Fe_3[Fe(CN)_6]_2$. Было приготовлено семь контрольных растворов сернокислого железа $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ объемом по 10 мл с интервалом концентраций (в пересчете на Fe^{+2}) 0,0001–0,05 г·ион/10 мл (табл.2).

Каждый из растворов помещался в периферийный резервуар бумажного сенсора (по 5 мкл),

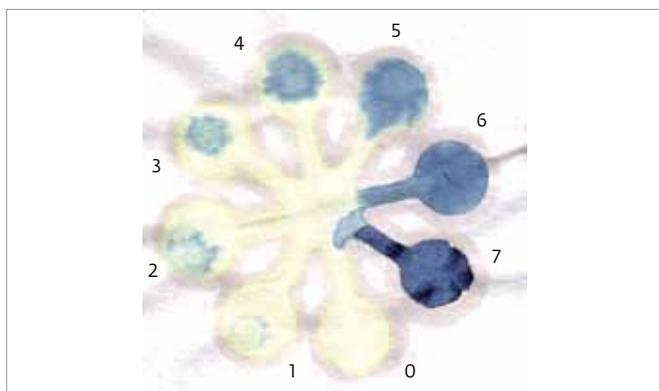


Рис.5. Микрофлюидный бумажный сенсор. Определение концентрации ионов железа колориметрическим методом, номера резервуаров с аналитом 0–7

а в центральный резервуар вводилось 50 мкл 1%-ного раствора феррицианида калия. После поступления раствора реагента в периферийные резервуары их содержимое окрашивалось в синий цвет, интенсивность которого пропорциональна концентрации ионов Fe^{+2} (рис.5).

Видно, что цветовое разрешение сенсоров при наличии эталонной цветовой таблицы достаточно

для определения концентрации компонентов визуально ("на глаз").

* * *

Предполагается, что в будущем по мере развития технологии изготовления сенсоров и аналитических методов датчики на бумажной основе будут широко использоваться в инновационных разработках, особенно в недорогих портативных устройствах с приемлемым уровнем чувствительности и селективности, функционирующих в реальном времени.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Devi D.Liana, Burkhard Raguse J.** Justin Gooding and Edith Chow. Recent advances in paper-based sensors. – *Sensors*, 2012, v. 12, p. 11505–11526.
2. **Bruzewicz D.A., Reches M., Whitesides G.M.** Low-cost printing of poly (dimethylsiloxane) barriers to define microchannels in paper. – *Anal. Chem.*, 2008, v. 80, p. 3387–3392.
3. **Zhao W.A., Ali M.M., Aguirre S.D., Brook M.A., Li Y.F.** Paper-based bioassays using gold nanoparticle colorimetric probes. – *Anal. Chem.*, 2008, v. 80, p. 8431–8437.

4. **An-liang Zhanga and Yan Zha.** Fabrication of paper-based microfluidic device using printed circuit technology, *AIP ADVANCES*, v. 2, 022171, 2012, p. 1-6.
5. **Martinez A.W., Phillips S.T., Butte M.J., Whitesides G.M.** Patterned paper as a platform for inexpensive, low-volume, portable bioassays. – *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2007, v. 46, p. 1318-1320.
6. **Martinez A.W., Phillips S.T., Whitesides G.M.** Three-dimensional microfluidic devices fabricated in layered paper and tape. – *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008, v. 105, p. 19606-19611.
7. **Klasner S.A., Price A.K., Hoeman K.W., Wilson R.S., Bell K.J., Culbertson C.T.** Paper-based microfluidic devices for analysis of clinically relevant analytes present in urine and saliva. – *Anal. Bioanal. Chem.*, 2010, v. 397, p. 1821-1829.
8. **Khan M.S., Fon D., Li X., Tian J.F., Forsythe J., Garnier G., Shen W.** Biosurface engineering through ink jet printing. – *Colloid Surf. B: Biointerfaces*, 2010, v. 75, p. 441-447.
9. **Abe K., Suzuki K., Citterio D.** Inkjet-printed microfluidic multianalyte chemical sensing paper. – *Anal. Chem.*, 2008, v. 80, p. 6928-6934.
10. **Lu Y., Shi W.W., Jiang L., Qin J.H., Lin B.C.** Rapid prototyping of paper-based microfluidics with wax for low-cost, portable bioassay. – *Electrophoresis*, 2009, v. 30, p. 1497-1500.
11. **Wang W., Wu W.Y., Wang W., Zhu J.J.** Tree-shaped paper strip for semiquantitative colorimetric detection of protein with self-calibration. – *J. Chromatogr. A*, 2010, v. 1217, p. 3896-3899.
12. **Olkkonen J., Lehtinen K., Erho T.** Flexographically printed fluidic structures in paper. – *Anal. Chem.*, 2010, v. 82, p. 10246-10250.
13. **Dungchai W., Chailapakul O., Henry C.S.** A low-cost, simple, and rapid fabrication method for paper-based microfluidics using wax screen-printing. – *Analyst*, 2011, v. 136, p. 77-82.
14. **Songjaroen T., Dungchai W., Chailapakul O., Laiwattanapaisal W.** Novel, simple and low-cost alternative method for fabrication of paper-based microfluidics by wax dipping. – *Talanta*, 2011, v. 85, p. 2587-2593.
15. **Li X., Tian J.F., Shen W.** Progress in patterned paper sizing for fabrication of paper-based microfluidic sensors. – *Cellulose*, 2010, v. 17, p. 649-659.
16. **Nie Z.H., Nijhuis C.A., Gong J.L., Chen X., Kumachev A., Martinez A.W., Narovlyansky M., Whitesides G.M.** Electrochemical sensing in paper-based microfluidic devices. – *Lab Chip*, 2010, v. 10, p. 477-483.
17. **Martinez A.W., Phillips S.T., Nie Z.H., Cheng C.M., Carrilho E., Wiley B.J., Whitesides G.M.** Programmable diagnostic devices made from paper and tape. – *Lab Chip*, 2010, v. 10, p. 2499-2504.
18. **Ratnarathorn N., Chailapakul O., Henry C.S., Dungchai W.** Simple silver nanoparticle colorimetric sensing for copper by paper-based devices. – *Talanta*, 2012, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.Talanta.2012.06.033>.
19. **Nie Z.H., Deiss F., Liu X.Y., Akbulut O., Whitesides G.M.** Integration of paper-based microfluidic devices with commercial electrochemical readers. – *Lab Chip*, 2010, v. 10, p.3 163-3169. *Sensors* 2012, v.12, p.11524.
20. **Yu J.H., Ge L., Huang J.D., Wang S.M., Ge S.G.** Microfluidic paper-based chemiluminescence biosensor for simultaneous determination of glucose and uric acid. – *Lab Chip*, 2011, v. 11, p. 1286-1291.
21. **Ge L., Wang S., Song X., Ge S., Yu J.** 3D origami-based multifunction-integrated immunodevice: Low-cost and multiplexed sandwich chemiluminescence immunoassay on microfluidic paper-based analytical device. – *Lab Chip*, 2012, v. 12, p. 3150-3158.
22. **Arena A., Donato N., Saitta G., Bonavita A., Rizzo G., Neri G.** Flexible ethanol sensors on glossy paper substrates operating at room temperature. – *Sens. Actuators B: Chem.*, 2010, v. 145, p. 488-494.
23. **Zhao W.A., van den Berg A.** Lab on paper. – *Lab Chip*, 2008, v. 8, p. 1988-1991.
24. **Dungchai W., Chailapakul O., Henry C.S.** Use of multiple colorimetric indicators for paper-based microfluidic devices. – *Anal. Chim. Acta*, 2010, v. 674, p. 227-233.
25. **Allen P.B., Arshad S.A., Li B., Chen X., Ellington A.** DNA circuits as amplifiers for the detection of nucleic acids on a paperfluidic platform. – *Lab Chip*, 2012, v. 12, p. 2951-2958.
26. **Khan M.S., Thouas G., Shen W., Whyte G., Garnier G.** Paper diagnostic for instantaneous blood typing. – *Anal. Chem.*, 2010, v. 82, p. 4158-4164; *Sensors* 2012, v. 12, p. 11526.
27. **Ngo, Y.H., Li, D., Simon, G.P., Gamier, G.** Paper surfaces functionalized by nanoparticles. – *Adv. Colloid Interface Sci.*, 2011, v. 163, p. 23-38.
28. **Wang L.B., Chen W., Xu D.H., Shim B.S., Zhu Y.Y., Sun F.X., Liu L.Q., Peng C.F., Jin Z.Y., Xu C.L., Kotov N.A.** Simple, rapid, sensitive, and versatile SWNT-paper sensor for environmental toxin detection competitive with ELISA. – *Nano Lett.*, 2009, v. 9, p. 4147-4152.
29. **Yupaporn Sameenoi, Pantila Panymeesamer, Natcha Supalakorn, Kirsten Koehler, Orawon Chailapakul, Charles S. Henry, John Volckens.** Microfluidic. Paper-Based Analytical Device for Aerosol Oxidative Activity *Environ. – Sci. Technol.*, 2013, v. 47 (2), p. 932-940.