



## การพัฒนาไบโอเซนเซอร์แบบกระดาษสู่ระบบการวินิจฉัยโรคใกล้ชิดผู้ป่วย

### Development of Paper-Based Biosensors

#### for Point of Care Diagnostics

ภัทรสุดา รักษ์ทอง<sup>1,2</sup> และ รินา ภัทรมานนท์<sup>1,2\*</sup>

#### บทคัดย่อ

กระดาษเป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติที่มีการนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ สามารถดัดแปลงคุณสมบัติให้ตรงกับลักษณะการใช้งาน นำไปใช้เป็นวัสดุยึดเกาะสำหรับไบโอเซนเซอร์ซึ่งเป็นอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์สารตัวอย่างขนาดเล็กแต่มีประสิทธิภาพสูง ไบโอเซนเซอร์แบบกระดาษถูกพัฒนาเป็นเครื่องมือตรวจวิเคราะห์และวินิจฉัยได้หลากหลายโดยการปรับเปลี่ยนตัวตรวจจับสารชีวภาพและตัววัดสัญญาณที่เป็นองค์ประกอบหลักสามารถออกแบบเครื่องมือเพื่อการวิเคราะห์ผลในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ อีกทั้งยังเป็นเครื่องมือแบบพกพาสามารถนำไปใช้นอกห้องปฏิบัติการหรือภาคสนามได้ ในทางการแพทย์มีการพัฒนาไบโอเซนเซอร์ให้ผู้ใช้สามารถอ่านวิเคราะห์ผลได้ด้วยตนเองที่บ้านโดยการพัฒนาโปรแกรมคอมพิวเตอร์และแอปพลิเคชันบนโทรศัพท์มือถือเพื่อการรายงานผลการวินิจฉัยโรค เพื่อเพิ่มศักยภาพของไบโอเซนเซอร์แบบกระดาษทดแทนเครื่องมือในรูปแบบเดิมที่มีขนาดใหญ่ ราคาแพง นำเข้าจากต่างประเทศและต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญในการอ่านผลการวิเคราะห์ เป็นประโยชน์สำหรับระบบการวินิจฉัยโรคใกล้ชิดผู้ป่วยเป็นระบบที่จะยกระดับการสาธารณสุขของประเทศให้เข้าถึงประชาชนทั่วไปหรือที่อยู่ในพื้นที่ห่างไกลได้มีสุขภาพที่ดี

<sup>1</sup>ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40002

<sup>2</sup>ศูนย์วิจัยโปรตีนและโปรตีโอมิกส์เพื่อการพาณิชย์และอุตสาหกรรม (ศปพ.) มหาวิทยาลัยขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40002

\*Corresponding Author; E-mail: narin@kku.ac.th

## ABSTRACT

The natural paper products are used in various fields including diagnostics by applying the properties to match with the interface of biosensors, the highly effective device for analyzing biological samples. Paper-based biosensors are developed as a tool for analyze and diagnose a wide range of biological compounds by modifying the recognition element and transducer that can be combined for qualitative or quantitative analysis. They are also portable and are able to use outside the laboratory and for the field study. Some paper-based biosensors have been engineered for patients to read the result on their own at home. The diagnosis can be reported by computer software or mobile applications. Paper-based biosensor might replace the original equipments that are large, expensive, and imported from abroad, and requires an expert to read the analysis. Paper-based biosensors are also useful for point of care diagnosis system that can be accessed in the remote or isolated regions for proper healthcare.

**คำสำคัญ:** ไบโอสเซนเซอร์ ตัวบ่งชี้ด้านชีวภาพ ไบโอสเซนเซอร์แบบกระดาษ ชุดวินิจฉัยโรค

**Keywords:** Biosensors, Biomarkers, Paper-based biosensors, Diagnostic kit

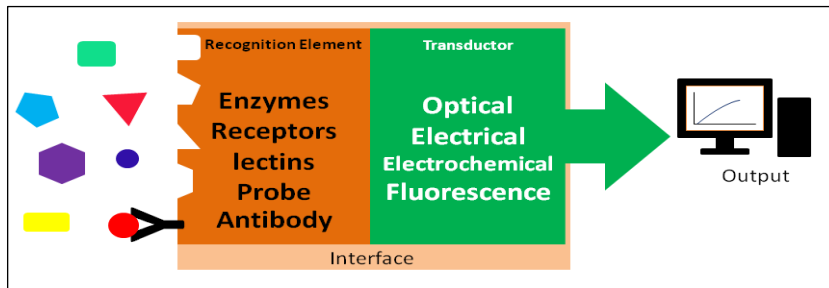
### 1. ไบโอสเซนเซอร์ (biosensor)

การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างในทางชีวภาพมีแนวโน้มที่จะตรวจวิเคราะห์สารในระดับโมเลกุลเพื่อต้องการทราบความเป็นไปของสิ่งมีชีวิตภายใต้เงื่อนไขของความแม่นยำและความรวดเร็วสูงสุด ก่อนหน้านี้มีการใช้เครื่องมือประสิทธิภาพสูงในการวิเคราะห์ตัวอย่างทางชีวภาพหรือทางการแพทย์ที่สามารถวิเคราะห์ได้ถึงระดับโมเลกุล ซึ่งแน่นอนว่าเครื่องมือประสิทธิภาพสูง นำเข้าจากต่างประเทศต้องมีราคาที่สูงควบคู่กัน หวังปฏิบัติการทั่วไปไม่สามารถติดตั้งและใช้งานได้ การกระจายตัวของเครื่องมือไปยังส่วนภูมิภาคเพื่อให้ประชาชนสามารถเข้าถึงเครื่องมือเหล่านั้นเป็นไปได้ยาก ทำได้เพียงส่งตัวอย่างไปยังส่วนกลางเพื่อตรวจวิเคราะห์ผล อาจทำให้ทราบผลล่าช้า แพทย์ไม่สามารถวินิจฉัยโรคได้ทันที่และเครื่องมือมีการใช้ตัวอย่างส่งตรวจในปริมาณมากแต่การเก็บตัวอย่างจริง

อาจได้ปริมาณน้อยไม่เพียงพอสำหรับการตรวจวิเคราะห์ผล ต่อมานักวิทยาศาสตร์ได้มีการพัฒนาเครื่องมือหรืออุปกรณ์วิเคราะห์ดัชนีชี้วัดทางชีวภาพที่อาศัยหลักการการจับกันอย่างจำเพาะของโมเลกุล เรียกว่า ไบโอสเซนเซอร์ (biosensor) เป็นเครื่องมือที่สามารถวิเคราะห์ได้แม้มีปริมาณตัวอย่างน้อยมาก ความแม่นยำสูง ความไวสูง (sensitivity) ใช้ระยะเวลาสั้นในการตรวจวิเคราะห์ ต้นทุนการผลิตต่ำ ขนาดเล็ก สามารถพกพาไปใช้ในงานภาคสนาม (Ligler et al., 2007) เพื่อใช้วินิจฉัยโรคในระบบใกล้ขีดผู้ป่วยได้ (point of care) (Mascini and Tombelli, 2008) ไบโอสเซนเซอร์ประกอบด้วยส่วนประกอบที่สำคัญสองส่วนคือ ส่วนของตัวตรวจจับสารชีวภาพ (recognition element) ที่มีคุณสมบัติสามารถจับกับสารได้อย่างจำเพาะ โดยตัวตรวจจับจะถูกเชื่อมอยู่กับตัววัดสัญญาณ (transducer) (Chambers et al., 2008)

ทำหน้าที่รับสัญญาณเพื่อการวิเคราะห์ข้อมูลและแสดงผลในรูปแบบที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ค่าทางไฟฟ้า ค่าทางเคมีไฟฟ้า ความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนส์ (De Corcuera and Cavalieri, 2003) (รูปที่1) ในการออกแบบไบโอเซนเซอร์นอกจากการเลือกระบบของตัวตรวจจับสารชีวภาพและตัววัดสัญญาณที่ต้องเหมาะสมกับคุณสมบัติของตัวอย่างทางชีวภาพที่จะทำการตรวจวิเคราะห์แล้ว มีส่วนสำคัญอีกส่วนหนึ่งคือ วัสดุยึดเกาะ (interface) สำหรับตัว

ตรวจจับและตัววัดสัญญาณ สามารถเลือกใช้วัสดุต่าง ๆ เช่น พลาสติกสำหรับไบโอเซนเซอร์แบบชิป (chip-based biosensor) ตารางที่ 1 และกระดาษสำหรับไบโอเซนเซอร์แบบกระดาษ (paper-based biosensor) ตามความเหมาะสมเพื่อให้อุปกรณ์มีประสิทธิภาพสูงสุด ทั้งนี้การจำแนกชนิดของไบโอเซนเซอร์สามารถจำแนกได้หลายแบบทั้งชนิดของตัวตรวจจับ ตัววัดสัญญาณและรูปแบบของวัสดุที่ใช้เป็นไบโอเซนเซอร์



รูปที่ 1 องค์ประกอบของไบโอเซนเซอร์ ที่ประกอบด้วยองค์ประกอบสำคัญสองส่วนคือ ตัวตรวจจับสารและตัววัดสัญญาณชีวภาพโดยตรึงอยู่บนวัสดุยึดเกาะ

ตารางที่ 1 รูปแบบของไบโอเซนเซอร์จำแนกตามวัสดุยึดเกาะ

รูปแบบไบโอเซนเซอร์	หลักการทำงาน	ข้อดี	ข้อเสีย	อ้างอิง
ชิป (chip-based biosensor)	ใช้ป้อนเป็นตัวควบคุมการไหลของสารเข้า-ออกเพื่อทำปฏิกิริยาภายในชิปที่ออกแบบมาเฉพาะกับการใช้งาน เชื่อมต่อกับอุปกรณ์ตรวจจับสัญญาณสำหรับตรวจวิเคราะห์ผล	-ใช้สารตัวอย่างปริมาณน้อย -ผลการวิเคราะห์แม่นยำ -รวดเร็ว	-ต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญในการออกแบบผลิตชิป โปรแกรมสำหรับควบคุมการไหลของสารและตรวจวิเคราะห์ผล -ไบโอเซนเซอร์ผลิตได้ยาก -ต้นทุนสูง	Hansen and Quake, 2003
กระดาษ (paper-based biosensor)	อาศัยแรงยกตัวของเหลวผลึกให้สารละลายตัวอย่างไหลไปตามรูพรุนของเยื่อเซลลูโลส ซึ่งอาจมีการตรึงไบโอเซนเซอร์สำหรับตรวจวิเคราะห์อยู่	-สามารถตรวจวิเคราะห์ผลได้ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ -ใช้งานได้ง่าย -ใช้สารตัวอย่างปริมาณน้อย แต่มีความแม่นยำ -ขนาดเล็กพกพาไปในภาคสนามได้ -ไม่ต้องอาศัยป้อนในการควบคุมการไหลของสาร	-ไม่คงทน -บางกรณีต้องสร้างแนวการไหลของสาร	Pelton, 2009

## 2. วิวัฒนาการของไบโอเซนเซอร์แบบกระดาษ

กระดาษเป็นวัสดุพื้นฐานที่มีองค์ประกอบหลักเป็นเส้นใยธรรมชาติ ได้แก่ เซลลูโลส (cellulose) ได้มาจากพืชเป็นส่วนใหญ่ผ่านกรรมวิธีการผลิตได้วัสดุที่มีลักษณะเป็นแผ่น ความหนาหรือบางขึ้นอยู่กับการผลิตและลักษณะการใช้งาน คุณสมบัติที่โดดเด่นของกระดาษมีหลายประการ ได้แก่ สามารถดูดซับของเหลวได้ดี น้ำหนักเบา พกพาง่าย ความยืดหยุ่นสูง ราคาถูก นำกลับมาใช้ใหม่ได้ ย่อยสลายได้ง่ายเนื่องจากเป็นวัสดุจากธรรมชาติ ภายหลังจากความต้องการในการใช้กระดาษมีเพิ่มมากขึ้นจึงมีการพัฒนาวิธีการผลิตและคุณสมบัติให้แตกต่างไปจากเดิมโดยมีการปรับเปลี่ยนหรือเพิ่มเติมหมู่ฟังก์ชันให้แก่พอลิเมอร์ของเซลลูโลส ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกระดาษหรือเยื่อเซลลูโลสชนิดใหม่ที่เหมาะสมกับการใช้งาน เช่น กระดาษไนโตรเซลลูโลสที่ใช้ในงานทางด้านวิทยาศาสตร์ กระดาษกลอสซี (glossy paper) สำหรับงานพิมพ์ภาพถ่าย (Liana et al., 2012) นักวิทยาศาสตร์อาศัยคุณสมบัติของกระดาษประยุกต์ใช้กับงานในด้านอื่น ๆ ที่แตกต่างไปจากเดิม นำกระดาษกรองไปใช้ในการแยกสารแบบโครมาโทกราฟี (chromatography) เป็นเทคนิคที่ใช้แยกชนิดของสารผสมที่มีอยู่ในสารละลายบนกระดาษ ซึ่งทำหน้าที่เป็นส่วนคงที่ (stationary phase) และใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมเป็นส่วนเคลื่อนที่ (mobile phase) ตัวอย่างจะเคลื่อนที่ไปพร้อมกับส่วนเคลื่อนที่และแยกตามคุณสมบัติของตัวอย่างที่รวมกันอยู่ในสารละลายผสม ในการทดสอบสารกระดาษจะทำหน้าที่เป็นแผ่นทดสอบ (test strip) สำหรับทำปฏิกิริยาของทั้งหมดและรายงานผลการวิเคราะห์ได้ทันทีจากการมองเห็นด้วยตาเปล่า มีการนำกระดาษมาผนวกรวมกับสารชีวภาพที่มีความสามารถในการตรวจจับสารทางชีวภาพอีกชนิดได้อย่างจำเพาะ กระดาษจึงกลายเป็น

อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างดัชนีชี้วัดทางชีวภาพหรือไบโอเซนเซอร์ที่มีการพัฒนาเพื่อใช้ประโยชน์ทั้งในทางการแพทย์ เกษษกรรม เคมี ชีวเคมี สิ่งแวดล้อม และสาขาอื่น ๆ (Määtänen et al., 2011) เริ่มต้นจากการพัฒนาอุปกรณ์ตรวจหาความเข้มข้นของโปรตีนและกลูโคสในปัสสาวะ ชุดตรวจโรคติดเชื้อ ชุดตรวจยาเสพติด ชุดตรวจวิเคราะห์ทางสิ่งแวดล้อม รวมไปถึงชุดตรวจวิเคราะห์ที่มีการวางขายตามท้องตลาดและใช้อย่างแพร่หลายมากที่สุด คือ ชุดตรวจการตั้งครรภ์ที่ตรวจหาฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องในปัสสาวะ (Kanyong et al., 2012)

ปัจจุบันมีการออกแบบกระดาษและสร้างแนวทางการไหลของสารละลายบนแผ่นกระดาษ (paper-based microfluidic) เพื่อให้ตัวอย่างที่ใช้ในการทำปฏิกิริยามีทิศทางการไหลที่ถูกต้องและคงที่ นักวิจัยได้ดัดแปลงน้ำหมึกเครื่องพิมพ์เพื่อให้มีสมบัติที่เหมาะสมคือ ไม่มีขั้วหรือมีความไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) และพิมพ์รูปแบบแนวการไหลของสารละลายบนกระดาษเพื่อใช้อุปกรณ์สำหรับตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง (Liana et al., 2012)

## 3. การออกแบบไบโอเซนเซอร์แบบกระดาษเพื่อใช้ในการตรวจวิเคราะห์สารชีวภาพ

การใช้กระดาษสำหรับงานตรวจวิเคราะห์สารชีวภาพหรือใช้เป็นวัสดุพื้นผิวในการตรึงไบโอเซนเซอร์ในระยะเริ่มต้นใช้กระดาษกรองแต่ละแบบจะมีความแตกต่างกันทั้งรูพรุน การที่รูพรุนมีขนาดใหญ่จะเพิ่มอัตราการไหลและการแทรกผ่านของสารละลาย และสามารถสร้างแนวการไหลของสารบนกระดาษด้วยวิธีการพิมพ์น้ำหมึกได้ง่าย นอกจากกระดาษกรองแล้วยังมีการดัดแปลงคุณสมบัติทางเคมีของกระดาษให้เหมาะสมกับการใช้งาน กระดาษไนโตรเซลลูโลสถูกดัดแปลงให้มีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ

(hydrophobic) ทำให้มีความเหมาะสมในการตรึง โมเลกุลไบโอเซนเซอร์ เช่น เอนไซม์ แอนติบอดี หรือ ดีเอ็นเอ แต่ก็อาจทำให้เกิดการจับกันแบบไม่จำเพาะ ของไบโอเซนเซอร์ได้ง่าย จึงมีแนวคิดการพิมพ์แนวการ ไหลของสารด้วยแว็กซ์ (wax) โดยใช้ความร้อน ปรากฏ ว่าการไหลของสารละลายมีความเสถียรมากขึ้น ลดการ สูญเสียตัวอย่างและการแทรกตัวของแว็กซ์ผ่าน กระดาษไนโตรเซลลูโลสก่อนที่จะแข็งตัวเกิดขึ้นช้ากว่า กระดาษกรอง

### 3.1 การประดิษฐ์และรูปแบบของกระดาษ

การดัดแปลงลักษณะทางกายภาพเป็นการ ประดิษฐ์ไบโอเซนเซอร์แบบกระดาษเพื่อให้เหมาะสมใน การใช้งานสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การพิมพ์ด้วย แว็กซ์ การพิมพ์ด้วยน้ำหมึก การใช้สารไวแสง การพิมพ์ สกรีน เพื่อสร้างแนวการไหลของสารละลาย เรียก รูปแบบกระดาษที่ถูกดัดแปลงในข้างต้นว่า กระดาษ แบบหนึ่งมิติ (1-dimensional paper) การออกแบบ ไบโอเซนเซอร์แบบกระดาษไม่ได้สิ้นสุดแค่เพียงการ สร้างแนวการไหลของสารละลายเท่านั้น มีการตัด กระดาษเป็นรูปแบบต่าง ๆ (รูปที่ 2 ซ้าย) เพื่อให้ เหมาะสมกับการใช้วิเคราะห์ตัวอย่าง รูปแบบที่ได้รับความนิยมมากที่สุดคือ รูปต้นไม้ (Liana et al., 2012) โดยสารละลายตัวอย่างจะมีการแทรกซึมผ่านกระดาษ ส่วนที่เป็นรากไปตามกิ่งและไปยังส่วนที่เป็นใบซึ่งเป็น บริเวณสำหรับทดสอบ (test zone) มีไบโอเซนเซอร์ถูก ตรึงสำหรับตรวจวิเคราะห์สาร ผิวหน้าของกระดาษถูก เคลือบด้วยไวนิล (vinyl) และฟิล์มพลาสติกชนิดโพลี- เอสเตอร์ (polyester) เพื่อป้องกันการระเหยของ ตัวอย่าง ความชื้น และปกป้องผิวหน้าของกระดาษจาก การปนเปื้อน กลายเป็นอีกรูปแบบหนึ่งของกระดาษที่ เรียกว่า กระดาษแบบสองมิติ (2-dimensional paper) สารละลายจะกระจายตัวในระนาบแกน X

และแกน Y (Fenton et al., 2008) แตกต่างจาก กระดาษแบบสามมิติ (3-dimensional paper) ที่เพิ่ม การกระจายของสารละลายในระนาบแกน Z โดยใช้ กระดาษแบบสองมิติที่มีการเคลือบผิววางทับซ้อนกัน หลายชั้น ในระหว่างชั้นของกระดาษจะมีการสอดแถบ ป้องกันการไหลซึมของสารละลายไม่ให้ไหลปะปนกัน โดยในส่วนของแถบป้องกันการไหลซึมจะมีรูขนาด เล็กให้สารละลายสามารถซึมผ่านจากแผ่นหนึ่งไปอีก แผ่นตามแนวการไหลที่มีการออกแบบให้แตกต่างกันใน แต่ละแผ่นแสดงดังรูปที่ 2 (ขวา) (Martinez et al., 2009) กระดาษแบบสามมิตียังคงรักษาคุณสมบัติเด่น ของไบโอเซนเซอร์ คือ ใช้ตัวอย่างในปริมาณน้อย เนื่องจากแนวการไหลของสารและขนาดของกระดาษมี อัตราส่วนในระดับไมโครเท่านั้น

### 3.2 การตรึงตัวตรวจจับทางชีวภาพบนกระดาษ

การใช้ระบบไบโอเซนเซอร์แบบกระดาษมี ความจำเป็นที่จะต้องตรึงส่วนของตัวตรวจจับทาง ชีวภาพลงบนเยื่อเซลลูโลส (Peng et al., 2011) โดยมี เป้าหมายของการตรึง คือ

- เพื่อตำแหน่งที่ถูกต้องของตัวตรวจทาง ชีวภาพจับบนโครงสร้างของกระดาษเนื่องจากแผ่น ทดสอบอาจมีบริเวณควบคุมและบริเวณทดสอบที่ใช้ตัว ตรวจจับต่างชนิดหรือมีรูปแบบการตรึงที่แตกต่างกัน
- เพื่อปริมาณและความเข้มข้นที่ถูกต้องของ โมเลกุลต่างๆที่ประกอบขึ้นเป็นไบโอเซนเซอร์
- เพื่อการทำงานที่สมบูรณ์ของไบโอเซนเซอร์ ต้องผ่านกระบวนการตรึงที่จะไม่รบกวนโครงสร้างทาง ชีวภาพของตัวตรวจจับทางชีวภาพ เช่น เอนไซม์ แอนติบอดี (Peng et al., 2011)

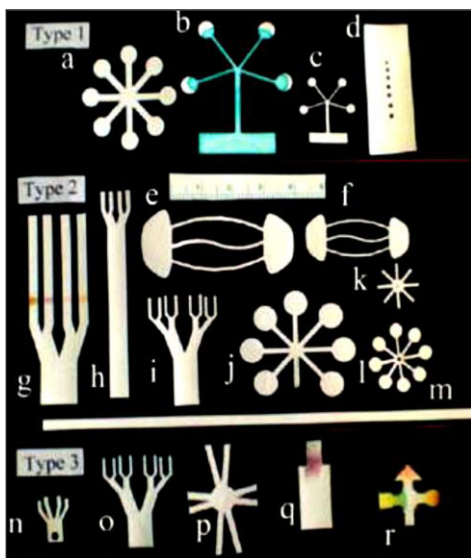
กระบวนการตรึงตัวตรวจจับทางชีวภาพ ประกอบด้วยสองส่วน คือ การส่งผ่าน (transport) ที่ ต้องใช้ปั๊มเพอร์ในการนำตัวตรวจจับทางชีวภาพไปยัง

บริเวณที่จะทำการยึดแน่นอาศัยแรงคาปิลลารีของของเหลว (capillary force) เป็นแรงหลัก แต่การไหลของบัพเฟอร์ยังแตกต่างกันตามลักษณะของเยื่อกระดาษทั้งในด้านของขนาดของรูพรุนและคุณสมบัติทางเคมีของพื้นผิวกระดาษ อีกส่วนคือ การยึดแน่น (attachment) เป็นส่วนที่มีความสำคัญรองลงมา เนื่องจากโมเลกุลที่ใช้เป็นตัวตรวจจับทางชีวภาพมักมีความสามารถในการยึดเกาะและเยื่อเซลลูโลสยังมีความสัมพันธ์ที่ดีเอื้อต่อการยึดเกาะของไบโอเซนเซอร์ (Pelton, 2009)

#### 4. การจำแนกชนิดของไบโอเซนเซอร์แบบกระดาษ

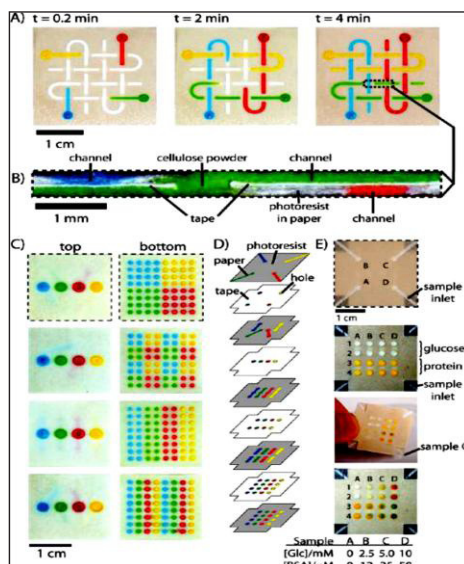
##### 4.1 การจำแนกจากตัวตรวจจับสารชีวภาพ

(1) เอนไซม์



รูปที่ 2 (ซ้าย) รูปแบบของไบโอเซนเซอร์แบบกระดาษที่มีการตัดให้เหมาะสมกับลักษณะการวิเคราะห์สาร (Fenton et al., 2008) (ขวา) ไบโอเซนเซอร์แบบกระดาษสามมิติ (Martinez et al., 2009)

เอนไซม์เป็นสารชีวโมเลกุลชนิดโปรตีนที่มีการพับม้วนของสายโพลีเปปไทด์แล้วเกิดบริเวณเร่งปฏิกิริยาที่สามารถเร่งปฏิกิริยาให้สารตั้งต้นที่เข้ามาจับบริเวณนั้นแบบจำเพาะเพื่อเปลี่ยนเป็นสารผลิตภัณฑ์ที่แตกต่างกันจากเดิม เอนไซม์ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในการเป็นตัวตรวจจับสำหรับไบโอเซนเซอร์โดยทำการตรึงเอนไซม์ลงบนเยื่อกระดาษ เพื่อใช้ตรวจหาสารที่ต้องการซึ่งอยู่ในตัวอย่างชีวภาพ การตรวจปัสสาวะที่มีดัชนีชี้วัดทางชีวภาพเป็นจำนวนมากโดยตรึงเอนไซม์ Uricase ลงบนแผ่นกระดาษที่มีการพิมพ์อิเล็กโทรด (electrode) สำหรับการวิเคราะห์ด้วยระบบเคมีไฟฟ้า และมีการตรึงเอนไซม์ Horseradish peroxidase ลงบนแผ่นกระดาษโดยการใช้เครื่องพิมพ์ที่มีสารละลายของเอนไซม์ (Di Risio and Yan, 2007) ผสมกับน้ำหมึกพิมพ์ที่ถูกดัดแปลงให้เหมาะสมพบว่า เอนไซม์ยังสามารถทำงานได้ดี



ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบวิธีการตรวจจับทางชีวภาพ

	วิธีทางกายภาพ	วิธีทางเคมี	วิธีทางชีวเคมี	การใช้อนุภาคตัวพา
แรงยึด	แรงแวนเดอร์วาลส์และแรงระหว่างขั้ว	พันธะโควาเลนต์	การเข้าคู่กันระหว่างโมเลกุล	ใช้อนุภาคทองคำเป็นตัวกลาง
ความรุนแรงของปฏิกิริยา	ต่ำ	สูง	ปานกลาง	ต่ำ
ประสิทธิภาพในการตรวจจับ	ต่ำ	สูง	สูง	สูง
ประสิทธิภาพในการทำงาน	ปานกลาง	ต่ำ	สูงมาก	สูงมาก
อ้างอิง	(Kong and Hu, 2012)	(Pelton, 2009)	(Kong and Hu, 2012)	

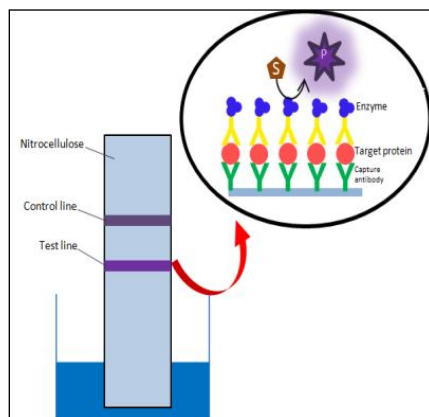
(2) แอนติเจน-แอนติบอดี

การจับกันของแอนติเจนและแอนติบอดีเป็นไปตามกลไกของระบบภูมิคุ้มกัน แอนติบอดีเป็นโปรตีนที่มีรูปร่างคล้ายแขนสองแขนสำหรับสร้างพันธะกับแอนติเจนที่เอพิโทปด้วยความจำเพาะสูง (Wu et al., 2012) ทำงานได้ดีแม้มีปริมาณน้อยและตรวจจับแอนติเจนโดยไม่ต้องมีการทำปฏิกิริยาดังตัวอย่าง เป็นอีกหนึ่งระบบที่นิยมใช้สำหรับเป็นตัวตรวจจับของไบโอเซนเซอร์แบบกระดาษในเทคนิค enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) (Apilux et al., 2013) มีหลักการ คือ นำแอนติบอดีที่จำเพาะต่อสารเป้าหมายตรึงไว้บนพื้นผิวกระดาษ เติมตัวอย่างสำหรับทดสอบ จากนั้นใช้แอนติบอดีอีกชนิดที่จำเพาะต่อสารเป้าหมายเช่นกันแต่มีการเชื่อมต่อกับเอนไซม์ตรวจวิเคราะห์โดยการเติมสารตั้งต้นให้เอนไซม์เร่งปฏิกิริยากลายเป็นผลิตภัณฑ์ที่ปรากฏเป็นสีหรือ

สัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ และสามารถเปรียบเทียบหาปริมาณของสารที่เป็นเป้าหมายจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ (รูปที่ 3)

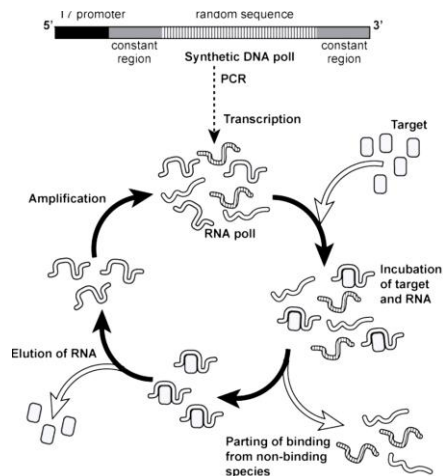
(3) Aptamer

การสังเคราะห์โมเลกุลที่สามารถเข้าจับสารอื่นได้อย่างจำเพาะหรือ Aptamer ซึ่งเป็นได้ทั้งดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ และเปปไทด์ สามารถทำได้ในหลอดทดลองโดยวิธี systematic evolution of ligands by exponential enrichment (SELEX) แสดงในรูปที่ 4 จึงไม่จำเป็นต้องใช้สัตว์ทดลอง ใช้กระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี ทำให้ได้ Aptamer ที่ทนต่ออุณหภูมิสูง และสภาวะกรด-ด่างและมีประสิทธิภาพสูงในการจำแนกความแตกต่างระหว่างโมเลกุลของสารที่มีโครงสร้างใกล้เคียงกันได้ โดยอาศัยโครงสร้างและพันธะที่จำเพาะในการจับกับโมเลกุลเป้าหมาย (Chambers et al., 2008)



รูปที่ 3 ไบโอเซนเซอร์แบบกระดาษที่ใช้ระบบแอนติเจน-แอนติบอดีเป็นตัวตรวจจับสารชีวภาพ





รูปที่ 4 การสังเคราะห์ Aptamer เพื่อใช้เป็นตัวตรวจจับสารชีวภาพโดยวิธี SELEX (Chambers et al., 2008)

#### 4.2 การจำแนกตัววัดสัญญาณ

##### (1) ระบบตรวจวัดสี (colorimetry)

ตัววัดสัญญาณที่สามารถทำให้เกิดสีได้มีหลายรูปแบบไม่ว่าจะเป็นปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นอย่างจำเพาะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีสี ไบโอเซนเซอร์แบบกระดาษชนิดแรกมีการวิเคราะห์ผลในระบบนี้ คือ การตรวจวัดน้ำตาลกลูโคส (Martinez et al., 2009) และโปรตีน เมื่อมีการหยดตัวอย่างจะทำให้บริเวณทดสอบมีการเปลี่ยนสีมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าโดยไม่ต้องใช้เครื่องมือหรือเทคนิคอื่นๆเพิ่มเติมในการวิเคราะห์ผล หรือระบบเอนไซม์ที่กล่าวมาในข้างต้นสามารถเร่งปฏิกิริยาเปลี่ยนสารตั้งต้นเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีสีทำให้สามารถจำแนกความเข้มข้นของสารตัวอย่างได้ นอกจากนี้ยังมีอีกรูปแบบหนึ่งในการวิเคราะห์ผลการตรวจวัดตัวอย่างทางชีวภาพคือการเชื่อมตัววัดสัญญาณเข้ากับอนุภาคทองคำระดับนาโนที่มีขนาดประมาณ 10-50 นาโนเมตร เมื่อเกิดการรวมตัวกันจะเกิดสีทำให้สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าเช่นกัน

##### (2) ระบบเคมีไฟฟ้า (electrochemical)

การวิเคราะห์ตัวอย่างชีวภาพโดยใช้ตัววัดสัญญาณระบบเคมีไฟฟ้าจำเป็นต้องมีส่วนสำคัญ คือ อิเล็กโทรด (electrode) ในกรณีที่เป็นไบโอเซนเซอร์

แบบกระดาษมีการคิดค้นน้ำหมึกที่มีคุณสมบัติเป็นอิเล็กทรอนิกส์ (Jagadeesan et al., 2012) เช่น น้ำหมึกคาร์บอน (carbon ink) น้ำหมึกแกรไฟต์ (graphite ink) น้ำหมึกเงิน (silver ink) เพื่อพิมพ์ลงบนเยื่อกระดาษ และในขั้นตอนการวิเคราะห์ตัวอย่างจะมีการใช้เครื่อง potentiostat เพื่อวัดค่าศักย์ไฟฟ้าของตัวอย่างซึ่งต้องมีการดัดแปลงให้มีขนาดเล็กพอที่จะสามารถนำมาใช้เป็นอุปกรณ์ขนาดพกพา

##### (3) ระบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ (chemiluminescent)

การเกิดสารเคมีลูมิเนสเซนซ์เป็นปฏิกิริยาระหว่างอนุพันธ์ของโรดามีน (rhodamine derivative) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีการใช้ไบโอเซนเซอร์แบบกระดาษและออกแบบแนวการไหลของสารเป็น 2 บริเวณสำหรับทำปฏิกิริยา คือ บริเวณที่มีการตรึงเอนไซม์และบริเวณที่จะเกิดสารเคมีลูมิเนสเซนซ์ ตัวอย่างจะต้องถูกเร่งปฏิกิริยาโดยเอนไซม์ออกซิเดสทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ คือ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในปริมาณแตกต่างกันขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของตัวอย่าง จากนั้นจะทำปฏิกิริยากับอนุพันธ์ของโรดามีนกลายเป็นสารเคมีลูมิเนสเซนซ์ดังที่กล่าวไปในข้างต้นและสามารถวิเคราะห์ได้ในรูปแบบเส้นกราฟความเข้มของสัญญาณ (Liana et al., 2012)



(4) ระบบฟลูออเรสเซนต์ (fluorescent)

ควอนตัมดอทเป็นอนุภาคระดับนาโนสังเคราะห์ขึ้นจากโมเลกุล เช่น แคดเมียมซัลไฟด์ (CdS) แคดเมียมเซเลไนด์ (CdSe) แคดเมียมเทลลูไรด์ (CdTe) (Yuan et al., 2012) มีคุณสมบัติเรืองแสงให้สัญญาณฟลูออเรสเซนต์ที่แตกต่างกันตามคุณสมบัติของโมเลกุลซึ่งใช้เป็นองค์ประกอบในการสังเคราะห์ นอกจากนี้ผิวเคลือบของควอนตัมดอทยังสามารถทำปฏิกิริยาเชื่อมต่อกับโมเลกุลได้หลายประเภท รวมทั้งตัวตรวจจับทางชีวภาพ สามารถนำควอนตัมดอทไปใช้เป็นตัววัดสัญญาณเพื่อแสดงผลการวิเคราะห์ในรูปแบบสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ นักวิจัยได้พัฒนาชุดทดสอบไวรัสไข้หวัดนกโดยนำควอนตัมดอทเชื่อมกับแอนติบอดีเพื่อตรวจจับแอนติเจนของไวรัส (Li et al., 2012)

5. การวิเคราะห์ผลปริมาณสารชีวภาพโดยไบโอเซนเซอร์แบบกระดาษ

5.1 การวิเคราะห์ผลเชิงคุณภาพ

ในยุคเริ่มต้นที่มีการนำไบโอเซนเซอร์แบบกระดาษมาใช้กับงานทางด้านวิทยาศาสตร์เพื่อวิเคราะห์หาสารชีวภาพที่ต้องการ มีการวิเคราะห์ผลด้วยสีที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ตัวอย่างชุดตรวจวิเคราะห์ผลเชิงคุณภาพที่มีใช้แพร่หลาย ได้แก่ ชุดตรวจการตั้งครรภ์ มีข้อดีคือประชาชนสามารถใช้ได้เองและมีการแสดงผลในรูปแบบที่ทำความเข้าใจได้ง่ายซึ่งสามารถแสดงผลในรูปแบบ “บวก” หรือ “ลบ”

กรณีที่แสดงผลเป็นบวกคือการทดสอบนั้นมีการชีวภาพที่ต้องการและแสดงผลเป็นลบเมื่อไม่พบสารชีวภาพชนิดนั้นในตัวอย่าง แต่ข้อเสียของการวิเคราะห์ผลเชิงคุณภาพคืออาจเกิดข้อผิดพลาดจากหลายปัจจัย การวิเคราะห์สารชีวภาพที่มีความละเอียดอ่อนจึงต้องการข้อมูลในเชิงปริมาณเพื่อยืนยันความถูกต้อง

5.2 การวิเคราะห์ผลเชิงปริมาณ

ตัววัดสัญญาณระบบสีหรือสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าที่กล่าวมาในข้างต้นเหมาะสำหรับการใช้งานในกรณีทั่วไป แต่ในงานทางด้านวิทยาศาสตร์ที่เพิ่มความจำเพาะเจาะจงหรือการวิเคราะห์ข้อมูลในเชิงลึกต้องการผลเชิงปริมาณสำหรับการศึกษาและวิเคราะห์ข้อมูลต่อไปในอนาคตจำเป็นต้องมีการเลือกใช้ตัววัดสัญญาณที่เหมาะสม ซึ่งสามารถใช้ได้ทั้งระบบเคมีไฟฟ้าและระบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่จะให้ข้อมูลในรูปแบบค่าของสัญญาณซึ่งสามารถแปลผลเป็นความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ไบโอเซนเซอร์สามารถตรวจวัดได้ อีกทั้งยังมีการพัฒนาตัววัดสัญญาณที่แสดงผลในระบบสี ให้สามารถวิเคราะห์ผลเชิงปริมาณได้โดยการบันทึกภาพไบโอเซนเซอร์แบบกระดาษจากการถ่ายรูปหรือการสแกน (Scan) รูปภาพที่อาจมีความแตกต่างเพียงเล็กน้อยไม่สามารถจำแนกได้ด้วยตาเปล่า เพื่อนำไปวิเคราะห์ค่าความเข้มของสีด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์เปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานจากนั้นจะแปลผลการวิเคราะห์เป็นข้อมูลในเชิงปริมาณได้

ตารางที่ 3 ตัวตรวจจับสัญญาณในระบบต่าง ๆ และรูปแบบการวิเคราะห์ข้อมูล

ตัวตรวจจับสัญญาณ	แสดงผล	รูปแบบการวิเคราะห์	อ้างอิง
ระบบสี	มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า	เชิงคุณภาพ	Liana et al., 2012
	ค่าความเข้มของสี	เชิงปริมาณ	Hong et al., 2012
ระบบเคมีไฟฟ้า	ค่าศักย์ไฟฟ้า	เชิงปริมาณ	Jagadeesan et al., 2012
ระบบเคมีลูมิเนสเซนซ์	ความเข้มของสัญญาณเคมีลูมิเนสเซนซ์	เชิงปริมาณ	Liana et al., 2012
ระบบฟลูออเรสเซนต์	ความเข้มของสัญญาณฟลูออเรสเซนต์	เชิงปริมาณ	Li et al., 2012

## 6. ชุดตรวจโรคด้วยไบโอเซนเซอร์แบบกระดาษ

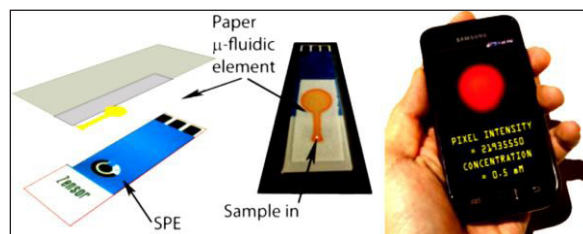
ก่อนหน้านี้มีการพัฒนาไบโอเซนเซอร์แบบชิปมาใช้ในงานวินิจฉัยโรค แต่มีอุปสรรคจากข้อจำกัดของอุปกรณ์ คือ ไบโอเซนเซอร์แบบชิปมีต้นทุนการผลิตสูง เนื่องจากวัสดุที่ใช้ในการผลิตเป็นแก้วหรือพลาสติกและยังต้องการปั๊มในกาควบคุมการไหลของสารตัวอย่าง ไบโอเซนเซอร์แบบกระดาษจึงเป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับการวินิจฉัยโรกระบบใกล้ชิดผู้ป่วยในประเทศกำลังพัฒนาเติมเต็มข้อจำกัดของไบโอเซนเซอร์แบบชิปโดยอุปกรณ์ไม่ต้องอาศัยปั๊มในการควบคุมการไหลของสารตัวอย่างและมีต้นทุนการผลิตต่ำ สามารถประยุกต์ใช้กระดาษทั่วไปพัฒนาให้เป็นชุดตรวจที่มีประสิทธิภาพ ในปัจจุบันมีการพัฒนาไบโอเซนเซอร์แบบกระดาษมาใช้อย่างแพร่หลายตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างที่ต้องการจากสิ่งส่งตรวจทางคลินิกได้จริงทั้งปัสสาวะ สารคัดหลั่ง และเลือด โดยสามารถตรวจหาสารชีวโมเลกุลขนาดเล็กได้ เช่น น้ำตาล กลูโคส กรดยูริก โปรตีน แลคเตท ไนเตรท คีโตน คลอเรสเตอรอล และกรดนิวคลีอิก เป็นต้น มีการคิดค้นชุดตรวจดัชนีชี้วัดโรคมะเร็ง 4 ชนิด ได้แก่  $\alpha$ -fetoprotein (AFP), carcinoma antigen153 (CA153), carcinoma antigen199 (CA199) และ carcinoembryonic antigen (CEA) ในตัวอย่างเลือดโดยใช้ไบโอเซนเซอร์แบบกระดาษและมีตัววัดสัญญาณระบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ (Ge et al., 2012)

การติดเชื้องูโรคทั้งในคนและในสัตว์เป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่มีความสำคัญต้องได้รับการ

วินิจฉัย *Staphylococcus aureus* เป็นแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อบริเวณที่เกิดแผลหรือแม้กระทั่งโรคปอดบวมมีสาเหตุมาจากแบคทีเรีย จึงมีการคิดค้นชุดทดสอบอย่างง่ายเพื่อตรวจหาตรวจหาแอนติเจนบนเซลล์แบคทีเรียอาศัยหลักการการทำงานของแอนติบอดีที่จำเพาะซึ่งเชื่อมต่ออยู่กับอนุภาคทองคำสามารถแสดงผลเป็นสีสามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าได้ (Francis et al., 2005)

## 7. การประยุกต์ใช้แอปพลิเคชันบนโทรศัพท์เคลื่อนที่วิเคราะห์ผลการตรวจโรคจากไบโอเซนเซอร์แบบกระดาษ

อุปกรณ์สื่อสารแบบพกพาหรือโทรศัพท์เคลื่อนที่กำลังก้าวเข้ามาเป็นส่วนหนึ่งของชีวิตมนุษย์ ผู้ผลิตมีการคิดค้นรูปแบบการใช้งานหรือแอปพลิเคชัน (application) ที่หลากหลายเพื่อตอบสนองความต้องการของผู้ใช้ อีกทั้งสามารถประยุกต์แอปพลิเคชันเหล่านี้เพื่องานทางด้านวิทยาศาสตร์โดยเฉพาะงานตรวจวิเคราะห์สารชีวภาพ นักวิจัยผนวกตัววัดสัญญาณระบบเคมีไฟฟ้าร่วมกับระบบเคมีลูมิเนสเซนซ์โดยใช้กระแสไฟฟ้า 1.25V ในการดำเนินปฏิกิริยาที่น่าสนใจคือผู้วิจัยได้ใช้โทรศัพท์เคลื่อนที่ เป็นอุปกรณ์วิเคราะห์ผลซึ่งจะตรวจความเข้มของสัญญาณพิกเซลสีแดง (red pixel) ผ่านกล้องถ่ายรูป (รูปที่ 5) และประมวลผลเป็นความเข้มข้นของสารที่ตรวจวัดได้โดยแอปพลิเคชันบนโทรศัพท์เคลื่อนที่ (Delaney et al., 2011)



รูปที่ 5 การตรวจหาสารชีวภาพโดยใช้ไบโอเซนเซอร์แบบกระดาษในระบบเคมีไฟฟ้าและวิเคราะห์ผลผ่านแอปพลิเคชันบนโทรศัพท์เคลื่อนที่ (Delaney et al., 2011)

## 8. สรุป

ระบบสาธารณสุขที่ดีมีความสำคัญในการก้าวไปข้างหน้าของประเทศ ก่อนจะสามารถรักษาโรคได้นั้นต้องผ่านกระบวนการวินิจฉัยโรคที่แม่นยำและมีประสิทธิภาพแต่ต้องคำนึงถึงค่าใช้จ่ายและการเข้าถึงของประชาชนทั่วไปให้มากที่สุด ไบโอเซนเซอร์เป็นอุปกรณ์ที่สามารถประยุกต์ใช้ตรวจวินิจฉัยโรคเบื้องต้นได้อย่างจำเพาะ แม่นยำและรวดเร็ว เมื่อผนวกไบโอเซนเซอร์เข้ากับกระดาษที่ใช้เป็นวัสดุยึดเกาะ จะทำให้ได้อุปกรณ์สำหรับตรวจวินิจฉัยโรคที่มีต้นทุนในการผลิตต่ำ พกพาง่าย ในบางรูปแบบประชาชนสามารถวิเคราะห์หรืออ่านผลการตรวจได้ด้วยตนเอง ไบโอเซนเซอร์แบบกระดาษสามารถตอบโจทย์ของการพัฒนาระบบตรวจโรคใกล้ชิดผู้ป่วยได้ดีกว่าเครื่องมือประสิทธิภาพสูง ราคาแพง อีกทั้งยังต้องนำเข้าจากต่างประเทศ การกระบวนการตรวจวินิจฉัยที่มีศักยภาพจะทำให้แพทย์รักษาโรคได้มีจุด จุด ผู้ป่วยมีโอกาสหายจากโรคสูงขึ้น เมื่อประชาชนมีสุขภาพดีก็พร้อมที่จะใช้กำลังความสามารถของตนในการนำพาประเทศไปสู่ความเจริญได้

## 9. เอกสารอ้างอิง

- Apilux, A., Ukita, Y., Chikae, M., Chailapakul, O., Takamura, Y. (2013). Development of automated paper-based devices for sequential multistep sandwich enzyme-linked immunosorbent assays using inkjet printing. *Lab on a Chip* 13(1): 126-135.
- Chambers, J. P., Arulanandam, B. P., Matta, L. L., Weis, A., Valdes, J. J. (2008). Biosensor recognition elements. pp. 1-12.
- De Corcuera, J. I. R., Cavalieri, R. P. (2003). Biosensors. In *Encyclopedia of agricultural, food, and biological engineering*, pp. 119-123.
- Delaney, J. L., Hogan, C. F., Tian, J., Shen, W. (2011). Electrogenerated chemiluminescence detection in paper-based microfluidic sensors. *Analytical Chemistry* 83(4): 1300-1306.
- Di Riso, S., Yan, N. (2007). Piezoelectric Ink-Jet Printing of Horseradish Peroxidase: Effect of Ink Viscosity Modifiers on Activity. *Macromolecular Rapid Communications* 28(18-19): 1934-1940.
- Fenton, E. M., Mascarenas, M. R., López, G. P., Sibbett, S. S. (2008). Multiplex lateral-flow test strips fabricated by two-dimensional shaping. *ACS Applied Materials & Interfaces* 1(1): 124-129.
- Francis, J. S., Doherty, M. C., Lopatin, U., Johnston, C. P., Sinha, G., Ross, T., Cai, M., Hansel, N. N., Perl, T., Ticehurst, J. R. (2005). Severe community-onset pneumonia in healthy adults caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying the Pantone-Valentine leukocidin genes. *Clinical infectious diseases* 40(1): 100-107.
- Ge, L., Wang, S., Song, X., Ge, S., Yu, J. (2012). 3D origami-based multifunction-integrated immunodevice: Low-cost and multiplexed sandwich chemiluminescence immunoassay on microfluidic paper-based analytical device. *Lab on a Chip* 12(17): 3150-3158.
- Hansen, C., Quake, S. R. (2003). Microfluidics in structural biology: smaller, faster better. *Current Opinion in Structural Biology* 13(5): 538-544.
- Hong, S., Park, Y., Jang, Y., Min, B.-H., Yoon, H. (2012). Quantitative lateral-flow immunoassay for the assessment of the cartilage oligomeric matrix protein as a marker of osteoarthritis. *BioChip Journal* 6(3): 213-220.
- Jagadeesan, K. K., Kumar, S., Sumana, G. (2012). Application of conducting paper for selective detection of troponin. *Electrochemistry Communications* 20(0): 71-74.

- Kanyong, P., Pemberton, R. M., Jackson, S. K., Hart, J. P. (2012). Development of a sandwich format, amperometric screen-printed uric acid biosensor for urine analysis. *Analytical Biochemistry* 428(1): 39-43.
- Kong, F., Hu, Y. (2012). Biomolecule immobilization techniques for bioactive paper fabrication. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 403(1): 7-13.
- Li, X., Lu, D., Sheng, Z., Chen, K., Guo, X., Jin, M., Han, H. (2012). A fast and sensitive immunoassay of avian influenza virus based on label-free quantum dot probe and lateral flow test strip. *Talanta*.
- Liana, D. D., Raguse, B., Gooding, J. J., Chow, E. (2012). Recent advances in paper-based sensors. *Sensors* 12(9): 11505-11526.
- Ligler, F. S., Sapsford, K. E., Golden, J. P., Shriver-Lake, L. C., Taitt, C. R., Dyer, M. A., Barone, S., Myatt, C. J. (2007). The Array Biosensor: Portable, Automated Systems. *Analytical Sciences* 23(1): 5-10.
- Määttänen, A., Fors, D., Wang, S., Valtakari, D., Ihalainen, P., Peltonen, J. (2011). Paper-based planar reaction arrays for printed diagnostics. *Sensors and Actuators B: Chemical* 160(1): 1404-1412.
- Martinez, A. W., Phillips, S. T., Whitesides, G. M., Carrilho, E. (2009). Diagnostics for the Developing World: Microfluidic Paper-Based Analytical Devices. *Analytical Chemistry* 82(1): 3-10.
- Mascini, M., Tombelli, S. (2008). Biosensors for biomarkers in medical diagnostics. *Biomarkers* 13(7-8): 637-657.
- Pelton, R. (2009). Bioactive paper provides a low-cost platform for diagnostics. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 28(8): 925-942.
- Peng, P., Summers, L., Rodriguez, A., Garnier, G. (2011). Colloids engineering and filtration to enhance the sensitivity of paper-based biosensors. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 88(1): 271-278.
- Wu, X., Kuang, H., Hao, C., Xing, C., Wang, L., Xu, C. (2012). Paper supported immunosensor for detection of antibiotics. *Biosensors and Bioelectronics* 33(1): 309-312.
- Yuan, J., Gaponik, N., Eychmüller, A. (2012). Application of Polymer Quantum Dot-Enzyme Hybrids in the Biosensor Development and Test Paper Fabrication. *Analytical Chemistry* 84(11): 5047-5052.

