

Piotr LISOWSKI*, Paweł K. ZARZYCKI

Zakład Toksykologii i Bioanalitiky, Wydział Inżynierii Łądowej, Środowiska i Geodezji
Politechnika Koszalińska; Śniadeckich 2, 75-453 Koszalin

Telefon: 48 94 3478595

E-mail: * piotr.lisowski@tu.koszalin.pl; dathor@tlen.pl

Strona domowa: <http://www.wbiis.tu.koszalin.pl/labtox>

Badania nad mikroprzepływowymi urządzeniami analitycznymi na bazie papieru (μ PADs) – przegląd literatury

Streszczenie: Mikroprzepływowe, urządzenia analityczne na bazie papieru (*microfluidic paper-based analytical devices; μ PADs*) są relatywnie nową grupą urządzeń analitycznych. Ich początków możemy się doszukiwać w technikach chromatograficznych a w szczególności chromatografii planarnej. Możliwości zastosowania tych urządzeń, głównie do celów tanich, przesiewowych analiz biochemicznych, kryminalistycznych i środowiskowych są obecnie przedmiotem intensywnych badań. W niniejszej pracy dokonaliśmy podsumowania, które obejmuje historię powstania, podstawowe techniki wytwarzania, zastosowania praktyczne oraz potencjalne możliwości rozwoju takich urządzeń.

Słowa kluczowe: Mikroprzepływowe urządzenia analityczne na bazie papieru (μ PADs), badania jakościowe, badania ilościowe, zastosowania medyczne i biochemiczne, przesiewowe analizy środowiskowe, chemia analityczna.

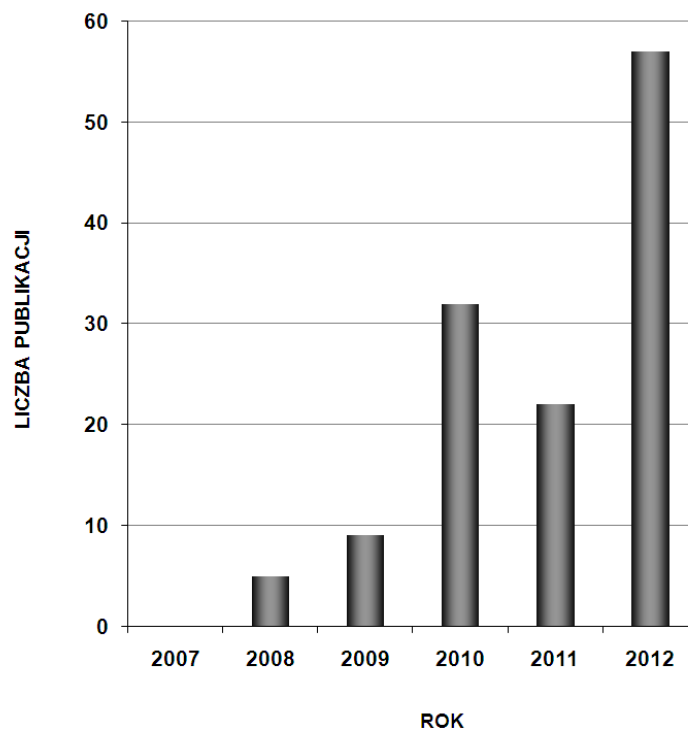
1. Wstęp

W ciągu ostatnich dwudziestu kilku lat możemy zaobserwować szybki i dynamiczny rozwój grupy mikroprzepływowych urządzeń analitycznych, określanych mianem „laboratorium na chipie” (*lab-on-chip; LOC*). Badania i zastosowanie technologii zminiaturyzowanych urządzeń otwiera nowe możliwości w chemii analitycznej, medycynie, genetyce, biologii komórkowej i dziedzinach pokrewnych. Proste i powtarzalne operowanie małymi objętościami płynów za pomocą odpowiednio ukształtowanych kanałów w skali mikrometrycznej zostało uznane za najważniejszą zaletę laboratoriów na chipie [1]. Urządzenia te są małe, lekkie, przenośne, tanie w produkcji, użytkowaniu i utylizacji. Szczególnie ważne dla ich powszechnego zastosowania są korzyści płynące z możliwości analizowania bardzo małych próbek oraz z niskiego zużycia odczynników potrzebnych do prowadzenia analizy [2]. LOC są obecne w wielu zastosowaniach praktycznych w naukach biomedycznych, genetyce, kryminalistyce, toksykologii, immunologii, badaniach środowiska, chemii lub biochemii. Są wygodnymi narzędziami do wykrywania i oznaczania wielu związków nieorganicznych i organicznych. Oferują możliwości analityczne i diagnostyczne, które mogą zrewolucjonizować medycynę i przemysł farmaceutyczny.

Z powodzeniem są wykorzystane w analizach klinicznych krwi [3, 4], w celu wykrywania i identyfikacji patogenów, białek [5-7] i zanieczyszczeń środowiskowych [8, 9], w badaniach genetycznych [10, 11] oraz w przemyśle farmaceutycznym [12, 13]. W krajach rozwijających się, zminiaturyzowane medyczne urządzenia diagnostyczne są szczególnie ważne dla populacji ludzkich, nie mających bezpośredniego dostępu do laboratoriów medycznych z podstawowym wyposażeniem diagnostycznymi [1].

2. Charakterystyka „laboratoriów na chipie”

Rozpatrując urządzenia mikroprzepływowe pod kątem budowy i technik wytwarzania, możemy wyróżnić dwie główne grupy laboratoriów na chipie. Pierwszą, określaną jako μ TAS (micro total analysis systems), stanowią urządzenia tworzone na bazie szkła, kwarcu, silikonu i polimerów, połączone z jednostkami zewnętrznymi (np. samplery, detektory, układy elektroniczne), w których przepływ płynów kontrolowany jest za pomocą pomp i zaworów [1]. Przyjmuje się, że pierwsze urządzenie mikroprzepływowe zbudowane ze szkła i silikonu, opracowano w 1975 roku [14, 15]. Co ciekawe, działało ono na zasadzie chromatografii gazowej. Obecnie materiały i techniki wytwarzania μ TAS oraz spektrum ich zastosowań zostały znacznie udoskonalone i poszerzone oraz szeroko opisane w literaturze naukowej. Z kolei, od 2008 roku możemy zaobserwować szybki rozwój drugiej grupy mikroprzepływowych urządzeń analitycznych, których zasadniczą część budowy oparta jest na papierze (celulozie), i stąd określanych mianem μ PADs (microfluidic paper-based analytical devices). Ma to odzwierciedlenie w ilości prac naukowych poświęconych tym urządzeniom (Rys. 1). Ten typ obejmują tanie i proste w produkcji, oparte na bazie papieru chipy, które same w sobie są w pełni wyposażonymi urządzeniami laboratoryjnymi, przeznaczonymi do wykonywania określonych zadań, głównie w celu wykrycia różnych rodzajów substancji [16]. Przepływ płynu jest w nich wywołany siłami kapilarnymi a jego kontrola jest obecnie przedmiotem badań [17].



Rys. 1. Ilość publikacji w literaturze naukowej dotyczących μ PADs w latach 2007-12 (źródło: Web of Knowledge; data: 15.01.2013 słowo kluczowe: paper-based microfluidic devices).

3. Materiały i metody wytwarzania μ PADs

Zasadniczym celem przy konstruowaniu μ PADs jest uformowanie hydrofobowych barier określających i ograniczających kierunek przepływu płynu przez materiał podstawowy (papier), czyli utworzenie mikrotunelu. Pierwsze mikroprzepływowe urządzenie na bazie papieru (z wyłączeniem pasków papieru do oznaczania pH) zostało wymyślone i opisane przez Grupę Whiteside'a z Uniwersytetu Harvarda w 2007 roku [18]. Mikrotunele wykonano techniką fotolitograficzną, przy użyciu światłoutwardzalnych polimerów i papieru chromatograficznego a urządzenie służyło do oznaczania glukozy i białka w moczu. Sposób wykonania takich urządzeń sprawia, że mogą być wytwarzane nawet w warunkach domowych, przy użyciu taśmy klejącej i papieru [19].

Obecnie w literaturze naukowej opisano wiele technik i materiałów używanych do wytwarzania hydrofobowych barier, zarówno na typowym papierze filtracyjnym jak i bardziej specjalistycznym – chromatograficznym. Popularnymi materiałami są polimery (takie jak fotorezyst SU-8, AKD (dimer alkilowo-ketenowy), PMMA (polimetakrylan metylu), PDMS (polidimetylosiloksan), PS (polistyren) używane zarówno w technice fotolitograficznej [18] jak i ich roztwory zastępujące atrament w ploterach [20] oraz typowych drukarkach atramentowych [21]. Często wykorzystywaną grupą materiałów są woski – używane do drukowania komercyjnego [22, 23] jak również sitodruku woskowego [24]. Wytwarzanie μ PADs odbywa się także za pomocą druku fleksograficznego [25], używając lasera [26] i plazmy [27] oraz mechanicznie przy pomocy noży tnących [28, 29].

4. Typowe zastosowania μ PADs

Obecnie możemy zaobserwować wzrost zainteresowania nowymi strategiami pozwalającymi na szybkie analizy, głównie kliniczne i środowiskowe, bez potrzeby użycia zaawansowanego oprzyrządowania. Wykorzystanie do tego celu papieru jako materiału podstawowego jest coraz powszechniejsze, na co wskazują dane z dostępnej literatury naukowej (Rys. 1). Dzieje się tak z oczywistych względów - w laboratoriach papier jest powszechnie używanym materiałem, stosowanym do filtracji lub chromatografowania. Z czterech metod detekcji stosowanych w tego typu urządzeniach (kolorymetrycznej, elektrochemicznej, chemiluminescencyjnej i elektrochemiluminescencyjnej) najbardziej popularnymi są kolorymetryczna i elektrochemiczna [16]. Pierwsze mikroprzepływowe urządzenie diagnostyczne oparte na papierze służyło do kolorymetrycznego oznaczania glukozy i białka w moczu [18]. Papierowe urządzenia opracowane przez zespół naukowy Brennana pozwala w ciągu kilku minut dokonać detekcji paraoksonu i alfatoksyny B1 przy stężeniach, odpowiednio, ~ 100 nM i ~ 30 nM [30]. μ PADs używane są w badaniach środowiskowych do oznaczania metali ciężkich (Pb i Cd) [31], klinicznych do analizy krwi [32-34], genetycznych do detekcji DNA [35, 36] oraz przy ocenie jakości pożywienia [37, 38]. Podejmowane są próby do zastosowania ich w badaniach kryminalistycznych - do detekcji środków wybuchowych [39] i medycznych - do diagnozowania chorób [40]. Prace naukowców skupiają się także nad włączeniem μ PADs w zakres usług telemedycznych, oraz nad ich kompatybilnością z urządzeniami zewnętrznymi [41-43].

5. Podsumowanie

Badania nad technologią μ PADs są prowadzone od zaledwie kilku lat. Jak wykazano w tej pracy przeglądowej jest to dziedzina nieustannie rozwijająca się.

Wykorzystanie papieru, jako materiału bazowego do celów analityczno-diagnostycznych stanowi centrum zainteresowania wielu ośrodków naukowych na świecie. Oczywistym jest, że μ PADs nie mogą zastąpić specjalistycznego sprzętu laboratoryjnego (jak chromatografów lub spektrometrów) używanego w laboratoriach na całym świecie. Jednakże w sytuacjach, które dotyczą głównie krajów rozwijających się, gdy dostęp do technologicznie zaawansowanych urządzeń jest utrudniony lub wręcz niemożliwy, μ PADs mogą stanowić bardzo dobrą alternatywę sprzętu analitycznego. Stanie się to jeszcze bardziej realne, gdy technologia oparta na μ PADs zostanie włączona w zakres usług telemedycznych. W takim przypadku analiza wyników ze zdjęcia wykonanego prostym telefonem komórkowym, może być przeprowadzona w specjalistycznym laboratorium znajdującym się tysiące kilometrów od punktu dokonania pomiaru.

Literatura

1. Whitesides G.M., *The origins and the future of microfluidics*. Nature 442 (2006) 368-373.
2. Craighead H., *Future lab-on-a-chip technologies for interrogating individual molecules*. Nature 442 (2006) 387-393.
3. Hou H.W., Bhagat A.A.S., Lee W.C., Huang S., Han J., Lim C.T., *Microfluidic devices for blood fractionation*. Micromachines 2 (2011) 319-343.
4. Lauks I.R., *Microfabricated biosensors and microanalytical systems for blood analysis*. Acc Chem Res 31 (1998) 317-324.
5. Bunyakul N., Edwards K.A., Promptmas C., Baeumner A.J., *Cholera toxin subunit B detection in microfluidic devices*. Anal Bioanal Chem 393 (2009) 177-186.
6. Diercks A.H., Ozinsky A., Hansen C.L., Spotts J.M., Rodriguez D.J., Aderem A., *A microfluidic device for multiplexed protein detection in nano-liter volumes*. Anal Biochem 386 (2009) 30-35.
7. Mairhofer J., Roppert K., Ertl P., *Microfluidic systems for pathogen sensing: a review*. Sensors 9 (2009) 4804-4823.
8. Marle L., Greenway G.M., *Microfluidic devices for environmental monitoring*. Trends Anal Chem 24(9) (2005) 795-802.
9. Li H.F., Lin J.M., *Applications of microfluidic systems in environmental analysis*. Anal Bioanal Chem 393(2) (2009) 555-567.
10. Hopwood A.J., Hurth C., Yang J., Cai Z., Moran N., Lee-Edghill J.G., Nordquist A., Lenigk R., Estes M.D., Haley J.P., McAlister C.R., Chen X., Brooks C., Smith S., Elliott K., Koumi P., Zenhausern F., Tully G., *Integrated microfluidic system for rapid forensic DNA analysis: sample collection to DNA profile*. Anal Chem 82(16) (2010) 6991-6999.
11. Shui L., Bomer J.G., Jin M., Carlen E.T., van den Berg A., *Microfluidic DNA fragmentation for on-chip genomic analysis*. Nanotechnology 22(49) (2011) 494013-494019.

12. Sekhon B.S., Kamboj S., *Microfluidics technology for drug discovery and development - an overview*. Int J Pharm Tech Res 2(1) (2010) 804-809.
13. Liu C., Wang L., Xu Z., Li J., Ding X., Wang Q., Chunyu L., *A multilayer microdevice for cell-based high-throughput drug screening*. J Micromech Microeng 22 (2012) 1-7.
14. Terry S.C., *A gas chromatographic air analyser fabricated on silicon wafer using integrated circuit technology*. PhD Thesis. (1975) Stanford CA.
15. Terry S.C., Jerman J.H., Angell J.B., *A gas chromatographic air analyzer fabricated on a silicon wafer*. IEEE Trans Electron Devices 26(12) (1979) 1880-1886.
16. Li X., Ballerini D.R., Shen W., *A perspective on paper-based microfluidics: current status and future trends*. Biomicrofluidics 6 (2012) 011301-13 .
17. Chen H., Cogswell J., Anagnostopoulos C., Faghri M., *A fluidic diode, valves, and a sequential-loading circuit fabricated on layered paper*. Lab Chip 12 (2012) 2909-2913.
18. 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 46 (2007) 1318-1320.
19. Martinez A.W., Phillips S.T., Whitesides G.M., *Three-dimensional microfluidic devices fabricated in layered paper and tape*. Proc Natl Acad Sci U.S.A. 105(50) (2008) 19606-19611.
20. Bruzewicz D.A., Reches M., Whitesides G.M., *Low-cost printing of poly(dimethylsiloxane) barriers to define microchannels in paper*. Anal Chem 80 (2008) 3387-3392.
21. Abe K., Kotera K., Suzuki K., Citterio D., *Inkjet-printed microfluidic multianalyte chemical sensing paper*. Anal Chem 80(18) (2008) 6928-6934.
22. Carrilho E., Martinez A.W., Whitesides G.M., *Understanding wax printing: a simple micropatterning process for paper-based microfluidics*. Anal Chem 81 (2009) 7091-7095.
23. Lu Y., Shi W., Jiang L., Qin J., Lin B., *Rapid prototyping of paper-based microfluidics with wax for low-cost, portable bioassay*. Electrophoresis 30 (2009) 1497-1500.
24. Dungchai W., Chailapakul O., Henry C.S., *A low-cost, simple, and rapid fabrication method for paper-based microfluidics using wax screen-printing*. Analyst 136(1) (2011) 77-82.
25. Olkkonen J., Lehtinen K., Erho T., *Flexographically printed fluidic structures in paper*. Anal Chem 82(24) (2010) 10246-10250
26. Chitnis G., Ding Z., Chang C.L., Savran C.A., Ziaie B., *Laser-treated hydrophobic paper: an inexpensive microfluidic platform*. Lab Chip 11 (2011) 1161-1165.
27. Li X., Tian J., Nguyen T.H., Shen W., *Paper-based microfluidic devices by plasma treatment*. Anal Chem 80(23) (2008) 9131-9134.

28. Fenton E.M., Mascarenas M.R., López G.P., Sibbett S.S., *Multiplex lateral-flow test strips fabricated by two-dimensional shaping*. ACS Appl Mater Interfaces 1(1) (2009) 124-129.
29. Wang W., Wu W.Y., Zhu J.J., *Tree-shaped paper strip for semiquantitative colorimetric detection of protein with self-calibration*. J Chromatogr A 1217(24) (2010) 3896-3899.
30. Hossain S.M.Z., Luckham R.E., Smith A.M., Lebert J.M., Davies L.M., Pelton R.H., Filipe C.D.M., Brennan J.D., *Development of a bioactive paper sensor for detection of neurotoxins using piezoelectric inkjet printing of sol-gel-derived bioinks*. Anal Chem 81(2009) 5474-5483.
31. Shi J., Tang F., Xing H., Zheng H., Bi L., Wang W., *Electrochemical detection of Pb and Cd in paper-based microfluidic devices*. J Braz Chem Soc 23(6) (2012) 1124-1130.
32. Khan M.S., Thouas G., Shen W., Whyte G., Garnier G., *Paper diagnostic for instantaneous blood typing*. Anal Chem 82 (2010) 4158-4164.
33. Li M., Tian J., Al-Tamimi M., Shen W., *Paper-based blood-typing device that reports patient's blood type "in writing"*. Angew Chem Int Ed 51 (2012) 5497-5501.
34. Su J., Al-Tamimi M., Garnier G., *Engineering paper as a substrate for blood typing bio-diagnostics*. Cellulose 19 (2012) 1749-1758.
35. Ali M.M., Aguirre S.D., Xu Y., Filipe C.D.M., Pelton R., Li Y., *Detection of DNA using bioactive paper strips*. Chem Commun 43 (2009) 6640-6642.
36. Lu J., Ge S., Ge L., Yan M., Yu J., *Electrochemical DNA sensor based on three-dimensional folding paper device for specific and sensitive point-of-care testing*. Electrochimica Acta 80 (2012) 334-341.
37. Hossain S.M.Z., Luckham R.E., McFadden M.J., Brennan J.D., *Reagentless bidirectional lateral flow bioactive paper sensors for detection of pesticides in beverage and food samples*. Anal Chem 81 (2009) 9055-9064.
38. 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 10 (2010) 3163-3169.
39. Doble P., Blanes L., *Development of microfluidic paper-based analytical devices (μ -PADs) using a 3D printer: in-field screening of organic explosives*. In: Bachelor of forensic science (honours) in applied chemistry; Forensic Honours Projects 2013, University of Technology, Sydney, 2012.
40. 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 12 (2012) 3150-3158.

41. Martinez A.W., Scott T.P., Carrilho E., Thomas III S.W., Sindi H., Whitesides G.M., *Simple telemedicine for developing regions: camera phones and paper-based microfluidic devices for real-time, off-site diagnosis*. Anal Chem 80(10) (2008) 3699-3707.
42. Liu H., Crooks R.M., *Paper-based electrochemical sensing platform with integral battery and electrochromic read-out*. Anal Chem 84(5) (2012) 2528-2532.
43. Vella S.J., Beattie P., Cademartiri R., Laromaine A., Martinez A.W., Phillips S.T., Mirica K.A., Whitesides G.M., *Measuring markers of liver function using a micropatterned paper device designed for blood from a fingerstick*. Anal Chem 84 (2012) 2883-2891.