

# อุปกรณ์การวิเคราะห์บนกระดาษด้วยระบบของไหลจุลภาคสำหรับตรวจหายาปนปลอม ในสมุนไพรและอาหารเสริม Microfluidic Paper-based Analytic Device ( $\mu$ PAD) for Detection of Adulterated Drugs in Herbal and Dietary Supplements

## นิพนธ์ปริทัศน์

ปนัดดา พัฒนาวิน\* และ ธีรศักดิ์ โรจนารธา  
สาขาเภสัชกรรมอุตสาหกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร อ.เมือง จ.นครปฐม 73000  
\* Corresponding author: phattanawasin\_p@silpakorn.edu  
วารสารไทยเภสัชศาสตร์และวิทยาการสุขภาพ 2566;18(1):90-99.

## Review Article

Panadda Pattanawasin\* and Theerasak Rojanaratha  
Department of Industrial Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Muang, Nakhonpathom, 73000, Thailand  
\* Corresponding author: phattanawasin\_p@silpakorn.edu  
Thai Pharmaceutical and Health Science Journal 2023;18(1):90-99.

## บทคัดย่อ

อุปกรณ์การวิเคราะห์บนกระดาษด้วยระบบของไหลจุลภาคประดิษฐ์ขึ้นโดยการสร้างกระดาษให้มีรูปร่างที่ประกอบด้วยช่องไหลที่มีคุณสมบัติชอบน้ำ (หรือบริเวณไฮโดรฟิลิก) คั่นด้วยขอบเขตที่มีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำเพื่อควบคุมทิศทางการไหล คุณสมบัติการซึมผ่านและความพรุนของกระดาษเอื้อให้ของไหลไหลผ่านไปตามช่องโดยอาศัยเพียงแรงคาпилลารีเท่านั้น อุปกรณ์กระดาษที่มีการออกแบบอย่างเหมาะสมสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในงานวิเคราะห์สาขาต่าง ๆ บทความนี้นำเสนอภาพรวมโดยสังเขปเกี่ยวกับแนวทางการพัฒนาอุปกรณ์การวิเคราะห์บนกระดาษ ครอบคลุมการเลือกชนิดกระดาษ วิธีการสร้างอุปกรณ์และเทคนิคการตรวจวัดสารที่นิยมใช้ เน้นตัวอย่างของการพัฒนาอุปกรณ์เพื่อตรวจหายาแผนปัจจุบันปนปลอมในสมุนไพรและอาหารเสริม อุปกรณ์กระดาษมีข้อดีหลายประการทั้งด้านความประหยัดของต้นทุน ใช้สารเคมีปริมาณน้อยที่ระดับจุลภาค เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ความสะดวกในการใช้งานและความรวดเร็ว

**คำสำคัญ:** อุปกรณ์การวิเคราะห์บนกระดาษด้วยระบบของไหลจุลภาค, ยาปนปลอม, สมุนไพรและอาหารเสริม

## Abstract

The microfluidic paper analytical device ( $\mu$ PAD) is fabricated by creating a patterned paper consisting of hydrophilic flow channels (or assay zones) separated by hydrophobic boundaries to control the flow direction. The wicking property and the porosity of paper facilitate the passive flow of fluids through the channel via capillary action. A well-designed  $\mu$ PAD can be applied in various analytical fields. This paper offers a brief review of the approaches for  $\mu$ PAD development, including the selection of paper types, design and fabrication method, and detection techniques commonly used, emphasizing the example of  $\mu$ PAD development for the detection of adulterated drugs in herbal and dietary supplements. Several advantages of  $\mu$ PAD are cost savings, the use of small amounts of reagent at the micro level, environmental friendliness, ease of use, and speed.

**Keywords:** microfluidic paper-based analytic device ( $\mu$ PAD), adulterated drugs, herbal and dietary supplements

### Editorial note

Manuscript received in original form: December 28, 2022;  
Revision notified: January 25, 2023;  
Revision completed: January 25, 2023;  
Accepted in final form: January 25, 2023;  
Published online: March 31, 2023.

Journal website: <http://ejournals.swu.ac.th/index.php/pharm/index>

## บทนำ

กระแสนิยมในการแพทย์ทางเลือกและความวิตกกังวลจากการใช้ยาแผนปัจจุบันที่เป็นสารสังเคราะห์ทำให้เกิดภัยจากสมุนไพรและอาหารเสริมที่ได้จากแหล่งธรรมชาติได้รับความสนใจเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง<sup>1</sup> จากการสำรวจของสำนักงานสถิติแห่งชาติ กระทรวงดิจิทัลเพื่อเศรษฐกิจและสังคมในปี พ.ศ. 2552 พบว่ามีผู้บริโภคผลิตภัณฑ์เสริมอาหารคิดเป็นร้อยละ 11.7 ของประชากรที่สำรวจ และเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 19.1 และ 21.6 ในปี พ.ศ. 2556 และ 2560 ตามลำดับ<sup>2</sup> ตลาดผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรจึงกลายเป็นตลาดที่มีมูลค่าการแข่งขันสูง ผู้ผลิตบางรายจึงแอบลักลอบปนปลอมยาแผนปัจจุบันลงในผลิตภัณฑ์เพื่อให้มีประสิทธิภาพเป็นไปตามสรรพคุณและช่วยเพิ่มยอดขายการจำหน่าย ที่ผ่านมามีรายงานตรวจพบการปนปลอมยากลุ่มต่าง ๆ เช่น ยาต้านการอักเสบ ยาลดความอ้วน ยาต้านภาวะหย่อนสมรรถภาพทางเพศ ยาออกฤทธิ์ต่อจิตประสาท และยาลดความดันลงในสมุนไพรและอาหารเสริมเพื่อสุขภาพ<sup>3-5</sup> การปนปลอมยาแผนปัจจุบันลงในผลิตภัณฑ์ทำให้ผู้บริโภคได้รับ

ยาโดยไม่ทราบข้อมูลและไม่ได้อยู่ในการดูแลของแพทย์โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อยาเหล่านั้นอาจก่อให้เกิดผลข้างเคียงที่อันตรายรุนแรงถึงชีวิต

การเฝ้าระวังการปนปลอมยาในสมุนไพรและอาหารเสริมจึงมีความสำคัญ วิธีวิเคราะห์ที่มีรายงานการนำมาใช้ได้แก่ วิเคราะห์โครมาโทกราฟีแบบชั้นบาง (TLC) วิเคราะห์โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ที่ต่อกับเครื่องตรวจจับ (detector) ชนิดต่าง ๆ<sup>3-6</sup> วิธีแคปิลลารี อิเล็กโทรโฟรีซิส (capillary electrophoresis) วิธีการทางไฟฟ้าเคมี (electrochemical method) และวิธีทางสเปกโตรสโกปี (spectroscopic method) เป็นต้น<sup>7</sup> อย่างไรก็ตามวิธีการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือ เช่น วิธี HPLC และวิธีการทางสเปกโตรสโกปี จำเป็นต้องอาศัยเครื่องมือราคาแพง มีค่าใช้จ่ายสูงในการบำรุงดูแลรักษา ไม่สามารถจัดหาได้ในห้องปฏิบัติการทั่วไปและต้องอาศัยผู้ปฏิบัติที่มีความรู้ความชำนาญ ส่วนวิธี TLC แม้ว่าอาจมีข้อได้เปรียบคือ การเตรียม

ตัวอย่างไม่ยุ่งยาก ไม่จำเป็นต้องพึ่งเครื่องมือราคาสูง แต่วิธี TLC มักยังต้องใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ สารเคมีและอุปกรณ์หลายชนิด รวมทั้งผู้วิเคราะห์ต้องมีความชำนาญในระดับหนึ่ง จึงได้มีความพยายามในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ที่มีต้นทุนต่ำ ใช้สารเคมีในปริมาณเพียงเล็กน้อย เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เห็นผลรวดเร็วและสะดวกในการใช้งาน อุปกรณ์การวิเคราะห์บนกระดาษด้วยระบบของไหลจุลภาค (microfluidic paper-based analytic device (μPAD)) จึงได้รับความสนใจมากขึ้นเพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ทางยา

## อุปกรณ์การวิเคราะห์บนกระดาษด้วยระบบของไหลจุลภาค

การศึกษาและพัฒนา μPAD มีมาเป็นระยะเวลาานานกว่าสองทศวรรษ โดยในช่วงแรกเน้นการพัฒนาเพื่อใช้สำหรับการวินิจฉัยทางคลินิกและต่อมาขยายการศึกษาไปยังการพัฒนาเพื่อใช้สำหรับงานวิเคราะห์ทางด้านสิ่งแวดล้อมและทางยา<sup>8,9</sup> แนวคิดของการพัฒนาวิธีวิเคราะห์อย่างง่ายโดยใช้อุปกรณ์ที่ทำจากกระดาษมาจากการศึกษาโดย Martinez และคณะในปีพ.ศ. 2550<sup>10</sup> การประดิษฐ์ μPAD สำหรับการตรวจหาน้ำตาลกลูโคสและโปรตีนในปัสสาวะทำขึ้นโดยการนำกระดาษเซลลูโลสมาพิมพ์ลวดลายด้วยวัสดุพอลิเมอร์ชนิดที่ไม่ชอบน้ำ (สาร SU-8) ด้วยเทคนิคการพิมพ์ด้วยแสง (photolithography) ทำให้เกิดเป็นรูปแบบของช่องไหลขนาดเล็ก กรอบลายที่พิมพ์ด้วยสาร SU-8 มีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำทำหน้าที่เป็นแนวกันควบคุมทิศทางการไหลของตัวอย่างปัสสาวะในช่องไหลบนกระดาษไปยังบริเวณโซนที่ใส่รีเอเจนต์ที่ใช้ทดสอบน้ำตาลกลูโคสและโปรตีน (รูปที่ 1)

μPAD มีจุดเด่นที่น่าสนใจหลายประการ เช่น ต้นทุนการผลิตต่ำ ลดปริมาณการใช้สารเคมี เป็นอุปกรณ์ใช้แล้วทิ้ง ใช้งานง่ายพกพาสะดวก มีรายงานการศึกษามากมายเกี่ยวกับการพัฒนา μPAD ในงานวิเคราะห์สาขาต่าง ๆ เช่น เคมีวิเคราะห์ ชีววิเคราะห์ งานวิเคราะห์ทางการแพทย์ สาธารณสุข สิ่งแวดล้อมและทางการแพทย์โดยเฉพาะอย่างยิ่งเพื่อนำมาใช้สำหรับงานภาคสนามในการตรวจวินิจฉัย<sup>8-14</sup> นอกจากนี้ ยังมีบทความนิพนธ์ปริทัศน์จำนวนมากที่รวบรวมและนำเสนอเกี่ยวกับหลักการและวิธีการสร้างอุปกรณ์ครอบคลุมถึงการเลือกชนิดกระดาษ เทคนิคต่าง ๆ ในการพิมพ์ลายเพื่อสร้างช่องไหลบนกระดาษ และวิธีการตรวจวัดสารบนกระดาษ<sup>15-18</sup> ซึ่งจะกล่าวถึงโดยสังเขปในบทความนี้ พร้อมทั้งนำเสนอตัวอย่างของการพัฒนา μPAD เพื่อประยุกต์ใช้สำหรับการตรวจหายาแผนปัจจุบันปนปลอมในสมุนไพรและอาหารเสริม

### การเลือกชนิดกระดาษ

ชนิดของกระดาษที่นำมาใช้สร้าง μPAD เป็นสิ่งแรกที่ควรพิจารณา การศึกษาส่วนใหญ่นิยมใช้กระดาษชนิดเซลลูโลสซึ่งมีคุณสมบัติการซึมน้ำ (wicking property) และความพรุน (porosity)

เอื้อต่อการสร้างช่องไหลขนาดเล็กที่มีลักษณะเป็นแบบช่องเปิดสร้างเป็นระบบของไหลจุลภาคบนกระดาษ ซึ่งแตกต่างจากช่องไหลที่สร้างจากวัสดุประเภทแก้วหรือโพลีเมอร์ที่มีลักษณะเป็นแบบช่องปิดแบบระบบคัปิลลารีเดี่ยว (single capillary) หลักสำคัญที่สุดของ μPAD คือระบบการจัดการของไหลระดับจุลภาคซึ่งขึ้นอยู่กับพฤติกรรมเคลื่อนที่ของของไหลในช่องเปิดรูพรุนขนาดเล็กที่อาศัยเพียงคัปิลลารีแอกชัน (capillary action) โดยไม่จำเป็นต้องใช้แรงดันจากภายนอกผลักให้ของเหลวไหลผ่านช่องไหล ปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการไหลได้แก่ ความพรุน ขนาดรูพรุน ความหนาของกระดาษ รูปแบบและขนาดของช่องไหล ความสามารถในการกักเก็บสาร คุณสมบัติการซึมน้ำและสภาวะแวดล้อมเช่น อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ เป็นต้น<sup>12</sup> โดยทั่วไปแล้วความเร็วในการเคลื่อนที่ของรีเอเจนต์ไปยังตำแหน่งของสารตัวอย่างหรือในทางกลับกันจะลดลงเมื่อความกว้างของช่องไหลมีขนาดแคบลง<sup>8</sup> ซึ่งส่งผลกระทบต่อระยะเวลาการสัมผัสระหว่างตัวอย่างกับรีเอเจนต์และความชัดเจนของผลการวิเคราะห์ที่ปรากฏ

กระดาษทั้งแบบเกรดโครมาโทกราฟีและแบบเกรดกระดาษกรอง เช่น กระดาษ Whatman หมายเลข 1, 3MM CHR และ 4 มีการนำมาใช้เป็นวัสดุในการผลิตอุปกรณ์<sup>8,9,19</sup> กระดาษที่ทำจากเส้นใยเซลลูโลสจัดเป็นวัสดุที่มีราคาถูก ปลอดภัยไม่เป็นพิษ น้ำหนักเบาและขนาดบาง นอกจากนี้ การที่กระดาษมีสีอ่อนยังเอื้อต่อการอ่านผลการวิเคราะห์ที่ต้องอาศัยการดูสี คุณสมบัติความยืดหยุ่นของกระดาษยังทำให้สามารถใช้เทคนิคต่าง ๆ เพื่อสร้างลวดลายกำหนดเป็นช่องทางการไหลของสารบนกระดาษ<sup>20</sup> กระดาษ Whatman หมายเลข 1 เป็นชนิดที่นิยมใช้มากที่สุดสำหรับการแยกวิเคราะห์ทั่วไป รองลงมาได้แก่ กระดาษ Whatman หมายเลข 4 และ 3MM CHR<sup>13</sup> โดยกระดาษหมายเลข 4 มีช่องรูพรุนขนาดใหญ่ทำให้มีคุณสมบัติการซึมน้ำได้ไวและมีอัตราการไหลของน้ำมากที่สุดเมื่อเทียบกับกระดาษชนิดอื่นจึงอาจเหมาะกับงานประเภทที่ต้องการความเร็วและไม่ต้องการความละเอียดในการแยกสูงมากนัก ในขณะที่กระดาษชนิด 3MM CHR มีอัตราการไหลน้ำที่ 130 มม./30 นาที ซึ่งใกล้เคียงกับกระดาษ Whatman หมายเลข 1 แต่มีขนาดช่องรูพรุนเล็กกว่าและความหนามากกว่ากระดาษ Whatman หมายเลข 1 ถึงสองเท่าจึงมีการดูดซับสารได้ดีและอาจช่วยเพิ่มความสามารถในการแยกสารได้มากขึ้น

### เทคนิคการสร้างช่องไหล

การประดิษฐ์อุปกรณ์กระดาษส่วนใหญ่จะใช้เทคนิคการพิมพ์ลายด้วยสารที่มีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำลงบนพื้นผิวและในเนื้อกระดาษสร้างเป็นช่องไหลที่มีคุณสมบัติชอบน้ำซึ่งควบคุมทิศทางการเคลื่อนที่ของของไหลบนกระดาษ แพทเทิร์นของลายพิมพ์จะเป็นตัวกำหนดขนาดความกว้างและความยาวของช่องไหล ส่วนความสูงของช่องจะกำหนดโดยความหนาของกระดาษ การสร้างรูปแบบลวดลายที่ใช้ในการกำหนดทิศทางการไหลอาจทำได้โดยใช้โปรแกรมวาดภาพด้วยคอมพิวเตอร์ เช่น โปรแกรม

AutoCAD, CorelDRAW, Adobe Illustrator และ Photoshop ซึ่งเป็นโปรแกรมเชิงพาณิชย์ที่มีเครื่องมือช่วยออกแบบร่างและปรับแต่งลวดลาย นอกจากนี้ ยังมีโปรแกรม AutoPAD ซึ่งพัฒนาขึ้นเพื่อเป็นโปรแกรมทางเลือกที่ไม่มีค่าใช้จ่าย สามารถใช้ออกแบบสำหรับสร้างอุปกรณ์การวิเคราะห์บนกระดาษได้<sup>21</sup>

เทคนิคปัจจุบันที่ใช้สำหรับการสร้างลวดลายบนกระดาษจัดแบ่งได้เป็นสองกลุ่มตามหลักการ ได้แก่ 1. หลักทางกายภาพโดยเทคนิคการตัด (cutting) และ 2. หลักทางเคมีโดยสร้างลวดลายด้วยวัสดุที่มีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำลงบนกระดาษด้วยเทคนิคต่าง ๆ ได้แก่ การพล็อต (plotting) ลายด้วยหมึกกันน้ำ การพิมพ์ (printing) เช่น การพิมพ์ด้วยขี้ผึ้ง (wax printing) การพิมพ์ด้วยน้ำหมึกจืด (inkjet printing) การพิมพ์เฟล็กโซกราฟี (flexographic printing) การพิมพ์สกรีน (screen printing) การพิมพ์เลเซอร์ (laser printing) การมาสก์ (masking) และตามด้วยการพิมพ์สลักลาย เช่น การพิมพ์สลักลายด้วยแสง (photolithography) การสลักลายด้วยอิงค์เจ็ท (inkjet etching) และด้วยแสงพลาสมา (plasma etching) และการปั๊มลาย (stamping)<sup>15-18,22-23</sup> ดังสรุปในตารางที่ 1

วิธีการประดิษฐ์  $\mu$ PAD มีความแตกต่างกันที่ต้นทุน อุปกรณ์ และเครื่องมือ ระยะเวลาและขั้นตอนการผลิต ความละเอียดคมชัดของลวดลายและสมบัติการเข้ากันได้ทางเคมี อาทิเช่น การประดิษฐ์  $\mu$ PAD ด้วยเทคนิคการตัด การพล็อตลายด้วยปากกา การพิมพ์ด้วยขี้ผึ้ง การปั๊มลาย มีข้อดีคือต้นทุนต่ำ ทำได้ง่ายในระดับห้องปฏิบัติการหรือในโรงงานทดลองต้นแบบ แต่อาจผลิตได้คราวละไม่มาก ความละเอียดและแม่นยำของลวดลายอาจไม่สูงเท่าการใช้เทคนิคการพิมพ์สลักลายด้วยแสงซึ่งแม้ว่าเป็นเทคนิคที่ต้องอาศัยเครื่องมือราคาแพง ขั้นตอนการผลิตยุ่งยาก แต่มีข้อดีคือความละเอียดสูง จึงยังคงเป็นเทคนิคที่นิยมใช้ในการผลิต  $\mu$ PAD ในงานวิเคราะห์ทางคลินิก<sup>24,25</sup> วัตถุประสงค์หลักของทุกเทคนิคคือการสร้างบริเวณส่วนที่ชอบน้ำและส่วนไม่ชอบน้ำให้แยกออกจากกันอย่างชัดเจนบนกระดาษ ได้เป็นช่องไหลที่มีการควบคุมทิศทางการเคลื่อนที่ของสารไปยังบริเวณตรวจวัดและแสดงผลการวิเคราะห์

วัสดุที่นิยมใช้เพื่อสร้างส่วนที่ไม่ชอบน้ำ ได้แก่ ขี้ผึ้งซึ่งราคาถูกและน้ำยาไวแสงซึ่งคุณภาพดีแต่มีราคาค่อนข้างสูง ข้อจำกัดของการใช้ขี้ผึ้งคือการเสียสภาพง่ายหากสารละลายตัวอย่างและรีเอเจนต์มีส่วนผสมของตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เอทานอล คุณภาพของอุปกรณ์ที่ได้อาจไม่สูงมากในแง่ความละเอียดคมชัดของลายขอบเขตเพื่อแยกบริเวณส่วนที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำ ในขณะที่น้ำยาไวแสง เช่น สารไวแสงชนิดลบ SU-8 ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ชนิดโพลิอีพอกไซด์ที่มีประสิทธิภาพทนต่อตัวทำละลายอินทรีย์ได้มากขึ้น แต่มีราคาสูงและต้องใช้เทคนิคการพิมพ์สลักลายด้วยแสงที่มีกระบวนการซับซ้อน มีการนำวัสดุชนิดอื่นมาทดลองใช้ในการสร้างลาย เช่น ปากกาหมึกกันน้ำ น้ำยาลบคำผิด น้ำยาออกตาเดซิล ไตร คลอโรไซเลน (octadecyltrichlorosilane (OTS))

และอัลคิลคีทีนไดเมอร์ (alkyl ketene dimer (AKD)) อีพอกซีเรซิน (epoxy resin) และสารโพลียูรีเทนอะคริเลตสูตรน้ำ (water-based polyurethane acrylate (PUA)) ซึ่งมีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ ราคาไม่สูงมาก ด้านการซึมผ่านของรีเอเจนต์ที่มีส่วนประกอบของสารลดแรงตึงผิวและตัวทำละลายอินทรีย์ได้ดีขึ้น และขั้นตอนการพิมพ์กลายเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมากกว่าการใช้ยาไวแสง<sup>26</sup>

นอกจากนี้ยังมีกรออกแบบเพื่อประดิษฐ์  $\mu$ PAD แบบสามมิติ (3D) เช่น การพิมพ์แบบ 3 มิติ<sup>47</sup> เทคนิคการพับแบบโอริงามิ (origami)<sup>48</sup> และเทคนิคการวางซ้อนทับกันของกระดาษเป็นชั้น ๆ (stacking)<sup>49</sup> ความพยายามในการพัฒนาอุปกรณ์กระดาษแบบสามมิติมาจากความต้องการเพิ่มจำนวนช่องการไหลของสารทั้งในแนวนอนและแนวตั้ง เพื่อสร้างระบบช่องไหลที่สามารถช่วยกระจายสารละลายตัวอย่างจากจุดเริ่มไปยังโซนทดสอบที่ตำแหน่งต่าง ๆ ได้อย่างรวดเร็วโดยอาศัยการไหลของของเหลวทั้งในแนวตั้งและแนวนอนไปที่แต่ละชั้นของกระดาษ<sup>18</sup> อย่างไรก็ตามการออกแบบอุปกรณ์ที่ต้องการฟังก์ชันการทำงานที่สูงขึ้นอาจนำมาสู่ต้นทุนและความยุ่งยากในการนำมาใช้งานจริง

#### วิธีการตรวจวัดสารบนอุปกรณ์กระดาษ

วิธีการตรวจวัดสารบนอุปกรณ์กระดาษหากจำแนกตามหลักการแบ่งออกได้เป็นสองกลุ่มหลักคือ กลุ่มที่อาศัยหลักการวัดทางแสง (optical detection) ได้แก่ วิธีกัลเลอร์เมตริก (colorimetric method) วิธีทางเคมีเรืองแสง (chemiluminescent detection) วิธีฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence) วิธีรามานสเปกโทรสโกปี (raman spectroscopy) และกลุ่มที่อาศัยหลักการวัดทางเคมีไฟฟ้า (electrochemical detection) ได้แก่ วิธีโวลแทมเมตริก (voltammetric method) วิธีโพเทนชิโอเมตริก (potentiometric method) และวิธีวัดค่าการนำไฟฟ้า (conductivity method) เป็นต้น<sup>50</sup> การมีวิธีตรวจวัดที่หลากหลายจึงสามารถนำมาประยุกต์ใช้เพื่อตรวจวิเคราะห์สารประเภทต่าง ๆ ได้อย่างกว้างขวาง การเลือกใช้วิธีใดขึ้นอยู่กับชนิดของสารที่ต้องการวิเคราะห์ ต้นทุน ความยุ่งยาก ความสะดวกและความแม่นยำในการตรวจวัด

วิธีที่นิยมใช้มากที่สุดคือ วิธีกัลเลอร์เมตริกหรือการวัดสี<sup>15,22</sup> โดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีหรือทางชีวภาพระหว่างสารที่ต้องการตรวจวัดกับรีเอเจนต์ทดสอบ (เช่น สารก่อกสี หรือ เอนไซม์) ทำปฏิกิริยาก่อกสีกับสารกลุ่มต่าง ๆ ทำให้ปรากฏสีขึ้นและเห็นผลได้อย่างรวดเร็วโดยการดูด้วยตาเปล่าหรือด้วยเครื่องมือที่จัดหาได้ง่ายในห้องปฏิบัติการ เช่น กล้องถ่ายภาพ เครื่องสแกนเนอร์ เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ เป็นต้น วิธีนี้ไม่จำเป็นต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญหรือเครื่องมือราคาสูง อย่างไรก็ตาม การดูสีด้วยตาเปล่าขึ้นกับสายตาของแต่ละบุคคลและสภาพแสงแวดล้อมอาจทำให้เกิดปัญหาในด้านความไว (sensitivity) และความแม่นยำ (precision) ของการทดสอบซึ่งอาจแก้ไขได้โดยการพิมพ์แผนภูมิสีลงในอุปกรณ์กระดาษโดยตรงเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบเทียบสี การเพิ่มความไวของวิธีอาจทำได้โดยการเลือกชนิดของรีเอเจนต์ก่อกสีที่

มีความไวและจำเพาะเจาะจงสูงในการทำปฏิกิริยากับสารแต่ละชนิดรวมกับการใช้เทคนิคอื่น ๆ เช่น เอนไซม์อิมมูโนแอสเสย์ (enzyme-based immunoassays) การใช้วัสดุนาโน (nanoparticle) เช่น อนุภาคทองคำนาโน (gold nanoparticles) เป็นต้น<sup>51</sup>

วิธีคัลเลอร์เมตริกแสดงผลการวิเคราะห์ได้ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ การดูสีด้วยตาอาจบอกเพียงว่ามีหรือไม่มีสารที่ต้องการตรวจวัดในตัวอย่าง หรืออาจเป็นเพียงเชิงปริมาณโดยเทียบสีที่มองเห็นได้กับแผนภูมิสี แต่หากต้องการวิเคราะห์เชิงปริมาณอาจอาศัยเพียงเครื่องมือ ที่หาได้ทั่วไปและราคาไม่สูงมาก เพื่อใช้ในการเก็บข้อมูลภาพ เช่น กล้องถ่ายรูปดิจิทัล เครื่องสแกนเนอร์ กล้องโทรศัพท์ ฯลฯ จากนั้นนำข้อมูลสัญญาณภาพมาประมวลผลโดยใช้โปรแกรมที่เหมาะสม เช่น อิมเมจเจ (ImageJ) ซึ่งเป็นโปรแกรมที่สามารถดาวน์โหลดได้โดยไม่มีค่าใช้จ่าย สามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์เชิงภาพเพื่อหาถึงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารกับความเข้มของสีที่ปรากฏบนอุปกรณ์กระดาษ<sup>52</sup>

การพัฒนา  $\mu$ PAD ในช่วงต้นเน้นการใช้ในงานตรวจวิเคราะห์ทางคลินิก ณ จุดดูแลผู้ป่วยหรือ หรือ point of care testing (POCT) ได้ผลการวิเคราะห์รวดเร็ว ชัดเจน ใช้งานง่ายช่วยเพิ่มความสะดวกในการให้บริการ การพัฒนาวิธีการตรวจวัดที่หลากหลายบนอุปกรณ์กระดาษทำให้เอื้อต่อการนำมาวิเคราะห์สารได้หลายประเภท ครอบคลุมทุกสาขาตั้งแต่ชีวการแพทย์ เกษษกรรมไปจนถึงด้านสิ่งแวดล้อมและความปลอดภัยด้านอาหาร เช่น การวิเคราะห์โปรตีน การตรวจจับไอออน โลหะและสารพิษตกค้าง การวิเคราะห์ยา การตรวจยาปลอม การตรวจหายาตกค้างในอาหารและการตรวจยาแผนปัจจุบันปนปลอมในสมุนไพรและอาหารเสริม เป็นต้น<sup>9</sup>

### การศึกษาพัฒนา $\mu$ PAD เพื่อตรวจหายาแผนปัจจุบันปนปลอมในสมุนไพรและอาหารเสริม

ได้มีความพยายามในการพัฒนาและประดิษฐ์  $\mu$ PAD เพื่อตรวจหายาแผนปัจจุบันปนปลอมในสมุนไพรและอาหารเสริม ปัจจัยสำคัญที่ต้องพิจารณาในการพัฒนาและออกแบบอุปกรณ์กระดาษคือ ลักษณะของตัวอย่าง ชนิดและความเข้มข้นของสารที่ต้องการตรวจวิเคราะห์ในตัวอย่าง วิธีการเตรียมตัวอย่าง ความไว ความถูกต้องและความแม่นยำของผลลัพธ์ที่ต้องการซึ่งขึ้นกับหลักการของวิธีการตรวจวัดที่เลือกใช้ หนึ่งในตัวอย่างของการศึกษาที่น่าสนใจ คือ การออกแบบ  $\mu$ PAD เพื่อตรวจหาสารอัลโลฟูรินอลอย่างรวดเร็วในตัวอย่างยาสมุนไพร<sup>53</sup> อัลโลฟูรินอลเป็นหนึ่งในยาแผนปัจจุบันที่พบว่ามีการลักลอบเติมลงในยาสมุนไพรเพื่อรักษาโรคเกาต์เรื้อรัง ในรายที่มีประวัติการแพ้ยาหากได้รับยาโดยไม่ทราบข้อมูลอาจทำให้เกิดอันตรายถึงชีวิต อุปกรณ์การวิเคราะห์อย่างง่ายจัดทำขึ้นโดยใช้กระดาษกรอง Whatman หมายเลข 1, 4 และ 6 และกระดาษโครมาโทกราฟี Whatman

หมายเลข 1 โดยใช้เทคนิคการตัดกระดาษเป็นชิ้นขนาด 1x1 เซนติเมตร จุ่มกระดาษแต่ละชิ้นในรีเอเจนต์ ได้แก่ สารละลายฟอลิน-ซิโอสคัลเทอ (folin-ciocalteu, FC) สารละลายฟารา-ไดเมทิลอะมีโนเบนซาลดีไฮด์ (p-dimethylaminobenzaldehyde, p-DAB) และสารละลายทอลเลนส์ (tollens, TL) ซึ่งมีความจำเพาะในการทำปฏิกิริยากับหมู่ฟังก์ชันบนอัลโลฟูรินอลเพื่อตรวจวัดด้วยวิธีคัลเลอร์เมตริก หลังจากทิ้งไว้ให้แห้งจึงนำไปประกอบติดบนแถบกระดาษโดยใช้แนวทางเช่นเดียวกันกับการออกแบบแถบวัดค่าพีเอช (pH)

แม้ว่ากระดาษ Whatman แต่ละเกรดมีลักษณะเฉพาะที่แตกต่างกันโดยเฉพาะขนาดรูพรุน กระดาษที่มีขนาดรูพรุนเล็กจะดูดซับรีเอเจนต์ได้มากขึ้นและอาจเห็นสีได้ชัดเจนขึ้น อย่างไรก็ตามจากการศึกษาไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในการดูดซับสารและการทำปฏิกิริยากับอัลโลฟูรินอล สารละลาย FC ซึ่งทำปฏิกิริยากับสารกลุ่มฟีนอลและสารประกอบที่มีไนโตรเจนบางชนิดเมื่อทำปฏิกิริยากับอัลโลฟูรินอลปรากฏเป็นสีน้ำเงินเข้ม ในขณะที่ p-DAB ทำปฏิกิริยากับหมู่ไฮดรอกซิลในอัลโลฟูรินอลปรากฏเป็นสีนวลออกเหลือง และ TL เมื่อทำปฏิกิริยากับหมู่คาร์บอนิลในอัลโลฟูรินอลจะเกิดเป็นตะกอนสีขาวหม่นของซิลเวอร์เห็นได้บนกระดาษ ส่วนรีเอเจนต์อื่น ๆ ที่นำมาทดสอบเช่น สารละลายดราเกนด์รอฟ (dragendorff) สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ (ferric chloride) และสารละลายโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ (sodium nitroprusside) ให้ผลการทดสอบไม่ชัดเจนหรือสีที่ปรากฏไม่แตกต่างจากสีของสารละลายทดสอบเองมากนัก

ตัวอย่างสมุนไพรเตรียมโดยอาศัยหลักการสกัด เนื่องจากอัลโลฟูรินอลมีคุณสมบัติเป็นด่างอ่อนจึงใช้สารละลายต่างช่วยในการสกัดเพื่อเตรียมสารละลายตัวอย่างสำหรับนำมาวิเคราะห์ เมื่อจุ่ม  $\mu$ PAD ลงในสารละลายตัวอย่างที่มีอัลโลฟูรินอลจะปรากฏเป็นสีต่าง ๆ บนแถบของกระดาษที่มีรีเอเจนต์แต่ละชนิด (FC-น้ำเงินเข้ม p-DAB-เหลืองนวล และ TL-ตะกอนสีขาวหม่น) ซึ่งแตกต่างจากสีที่ปรากฏเมื่อนำอุปกรณ์กระดาษมาทดสอบกับยาพาราเซตามอลและคาเฟอีน (รูปที่ 2) อย่างไรก็ตามจะไม่เห็นการเปลี่ยนสีหากสารละลายตัวอย่างมีความเข้มข้นของอัลโลฟูรินอลต่ำกว่า 75 mg/mL แม้ว่าจะเป็นข้อด้อยที่สำคัญของวิธีแต่การศึกษานี้ทำให้เห็นถึงศักยภาพของการพัฒนา  $\mu$ PAD เพื่อใช้เป็นอุปกรณ์อย่างง่าย ต้นทุนต่ำ รวดเร็ว ไม่ต้องใช้เครื่องมือในการวิเคราะห์หาสารปนปลอมในสมุนไพรและอาหารเสริม

ยาลดความอ้วนไซบูทรามิน (sibutramine) แม้ว่ามีภาระรับใช้ในหลายประเทศมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2553 แต่มีรายงานอยู่อย่างต่อเนื่องถึงการตรวจพบการปนปลอมในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากสมุนไพรเพื่อการลดน้ำหนัก มีการศึกษาพัฒนา  $\mu$ PAD เพื่อใช้เป็นวิธีวิเคราะห์อย่างง่าย ไม่จำเป็นต้องใช้เครื่องมือราคาสูงเพื่อการวิเคราะห์เชิงปริมาณของยาไซบูทรามินปนปลอมในผลิตภัณฑ์<sup>54</sup> โดยประดิษฐ์จากกระดาษกรอง Whatman หมายเลข 4 และอาศัยหลักการคัลเลอร์เมตริกกับการตรวจวัดระยะทาง

ของการเปลี่ยนสีบนกระดาษด้วยสายตา สารก่อกสีที่ใช้คือ สารละลายไตรอะครีเลตฟอสเฟตกับหมู่เอมีนตติยภูมิ (tertiary amine) ในไซบูทรามินปรากฏเป็นสีส้ม

การสร้าง  $\mu$ PAD ใช้เทคนิคการพิมพ์สกรีน (screen printing) อย่างง่ายโดยใช้แม่พิมพ์ลวดลายคล้ายเทอร์โมมิเตอร์ที่มีสเกลแบบไม้บรรทัดและโหนดวงกลมที่ปลายทั้งสองข้างเพื่อสกรีนสีปกกซีเรซินลงบนกระดาษสร้างเป็นแนวเขตที่ไม่ชอบน้ำ (รูปที่ 3) โหนดด้านหนึ่งเป็นตำแหน่งเพื่อโหลดสารตัวอย่าง สารตัวอย่างจะไหลไปตามช่องไหลบนกระดาษพร้อมกับทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ที่โหลดไว้ล่วงหน้าที่ระยะต่าง ๆ ตามแนวของช่องไหล หากสารตัวอย่างมีไซบูทรามินจะทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ที่โหลดไว้เกิดเป็นสีส้มแดงของสารประกอบเชิงซ้อนไซบูทรามิน-เตตระไฮโดรบีสมัทเทต ระยะทางของสีส้มแดงที่เกิดขึ้นพบว่าเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของไซบูทรามินในตัวอย่าง ซึ่งวัดได้จากสเกลไม้บรรทัดที่พิมพ์เป็นลายขนานไว้ตามความยาวของช่องไหล ผลการศึกษาพบว่า  $\mu$ PAD มีขีดจำกัดการวัดเชิงปริมาณ (limit of quantitation, LOQ) เท่ากับ 0.22 มิลลิโมลต่อลิตร วิธีมีความแม่นยำและให้ผลสอดคล้องกับการใช้วิธีแก๊สโครมาโทกราฟีที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ข้อดีของวิธีคือความเรียบง่าย ต้นทุนต่ำ ใช้ปริมาณสารระดับไมโครลิตร ทำได้ ณ จุดปฏิบัติการภาคสนามโดยไม่ต้องพึ่งการใช้เครื่องมือวิเคราะห์ที่ซับซ้อนแต่อย่างใด

อุปกรณ์กระดาษอย่างง่ายยังได้รับการพัฒนาขึ้นเพื่อตรวจวิเคราะห์หาเดกซาเมทาโซนเจ็ปในยาสมุนไพร<sup>55</sup> โดยผลิตจากแผ่นฟิล์มเซลลูโลส อะซิเตต (cellulose acetate) ที่เรียงสารผสมของสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์และโพแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอร์เรต (potassium hexacyanoferrate (III),  $K_3[Fe(CN)_6]$ ) ในสภาวะกรด การศึกษานี้ใช้แผ่นฟิล์มเซลลูโลสอะซิเตตที่เตรียมจากแผ่นฟิล์มถ่ายภาพที่ใช้แล้วนำมาเพิ่มความพรุนและการทำปฏิกิริยาดีเอสเทอร์ฟิเคชัน (de-esterification) ของหมู่อะเซทิลในฟิล์มเซลลูโลสอะซิเตตเพื่อให้พร้อมสำหรับนำมาตรึงสารละลายทดสอบข้างต้น การประดิษฐ์อุปกรณ์ใช้เทคนิคการตัดแผ่นฟิล์มเป็นแผ่นสี่เหลี่ยมเล็ก ๆ ขนาด 1x0.5 เซนติเมตร และนำมาแช่ในรีเอเจนต์ข้างต้นเป็นเวลา 24 ชั่วโมงเพื่อตรึงสาร จากนั้นนำขึ้นและปล่อยให้แห้งได้เป็นแผ่นสี่เหลี่ยมก่อนนำมาแปะลงบนแท่งแผ่นพลาสติกสีขาวได้เป็นอุปกรณ์ทดสอบในรูปแบบก้านวัด (dipstick) เมื่อนำมาจุ่มลงในสารตัวอย่างสมุนไพรที่เตรียมโดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายผสมของเมทานอลและน้ำ สารตัวอย่างที่มีเดกซาเมทาโซนจะเกิดการเปลี่ยนสีเขียวเป็นน้ำเงินซึ่งมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า (รูปที่ 4) การเกิดสีเกี่ยวข้องกับกลไกของปฏิกิริยาออกซิเดชันรีดักชันระหว่างเฟอร์ริกคลอไรด์กับเดกซาเมทาโซนในสภาวะกรด โดยอนุมูล  $Fe(III)$  ในเฟอร์ริกคลอไรด์ทำหน้าที่เป็นตัวออกซิไดซ์รับอิเล็กตรอนเปลี่ยนไปเป็นอนุมูล  $Fe(II)$  ซึ่งจะไปทำปฏิกิริยาต่อกับ  $K_3[Fe(CN)_6]$  ปรากฏเป็นสีเขียวแกมน้ำเงินของสารประกอบเชิงซ้อน  $KFe[Fe(CN)_6]$  ผลการวิเคราะห์ยังสามารถบันทึกด้วย

เครื่องสแกนเนอร์เก็บเป็นข้อมูลภาพเพื่อนำมาใช้ในการวิเคราะห์ความเข้มของสีด้วยโปรแกรมอิมเมจเจ (image J) โดยความเข้มของสีที่ปรากฏสัมพันธ์กับปริมาณเดกซาเมทาโซนจึงสามารถประยุกต์ใช้อุปกรณ์ที่พัฒนาขึ้นนี้สำหรับการตรวจวัดเชิงปริมาณได้ ผลการวิเคราะห์ที่ได้พบว่ามีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.5–7.5  $\mu$ g/mL และมีค่าขีดจำกัดการตรวจวัด LOD และ LOQ อยู่ที่ 0.422  $\mu$ g/mL และ 1.406  $\mu$ g/mL ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์ที่ได้คล้ายกับผลที่ได้วิธีอัลตราไวโอเลตสเปกโตรสโคปี โดยแสดงค่าสหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) เท่ากับ 0.999 อุปกรณ์ที่พัฒนาขึ้นจึงอาจนำมาใช้เป็นวิธีทางเลือกในการตรวจหาเดกซาเมทาโซนเจ็ปในยาสมุนไพร

การตรวจวัดสารบนกระดาษนอกเหนือจากการใช้สารละลายทดสอบทำปฏิกิริยาทางเคมีก่อกสีกับสารที่ต้องการวิเคราะห์แล้ว ยังมีตัวอย่างการพัฒนา  $\mu$ PAD ที่อาศัยปฏิกิริยาจากเอนไซม์ (enzymatic-based reactions) ในการก่อกสี ตัวอย่างที่น่าสนใจได้แก่การพัฒนา  $\mu$ PAD เพื่อนำมาตรวจหายาฆ่าแมลงตกค้างในอาหาร ยาฆ่าแมลงประเภทออร์กาโนฟอสเฟต (organophosphate) และคาร์บาเมต (carbamate) เป็นกลุ่มที่ใช้มากในประเทศไทย การพัฒนา  $\mu$ PAD เพื่อใช้สำหรับวิเคราะห์ยาฆ่าแมลงกลุ่มดังกล่าวอาศัยหลักการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรส (acetylcholinesterase, AChE)<sup>56</sup> รูปแบบของอุปกรณ์เป็นแบบพับได้ผลิตขึ้นโดยเทคนิคการตัดประกอบด้วย (1) กระดาษกรอง Whatman หมายเลข 1 ตัดเป็นขนาด 1x1 เซนติเมตร ที่โหลดด้วยสารอินดอกซิลอะซิเตต (indoxyl acetate) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของเอนไซม์ และ (2) กระดาษกรองรูปร่างกลมเจาะขนาด 6 mm ที่โหลดไว้ด้วยเอนไซม์ไว้ล่วงหน้า แผ่นทั้งสองนี้นำมาแปะไว้บนแผ่นพลาสติกใสแบบพับที่ด้านตรงข้ามกัน (บน-ล่าง) และมีแผ่นพลาสติกกั้นหน้ากั้นไว้ระหว่างแผ่นทั้งสอง (รูปที่ 5)

เมื่อเริ่มทำการวิเคราะห์ให้เปิดแผ่นพับขึ้น นำแผ่นกั้นออกและหยอดสารละลายตัวอย่างลงบนกระดาษ (2) (ด้านล่าง) จากนั้นพับพลาสติกกลให้แผ่นทั้งสองประกบกัน ตามด้วยการหยอดบัพเฟอร์ที่บริเวณรูที่เจาะไว้บนแผ่นพลาสติกด้านบน ทำให้กระดาษเปียกเพื่อช่วยพาสารตั้งต้นที่โหลดไว้ด้านบนลงมาทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ที่กระดาษด้านล่าง หากตัวอย่างไม่มียาฆ่าแมลงจะเห็นเป็นสีฟ้าครามบนกระดาษด้านล่าง เนื่องจากเอนไซม์ AChE ไม่ถูกยับยั้ง จึงเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของสารตั้งต้นอินดอกซิลอะซิเตตไปเป็นสารอินดอกซิลและเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องได้เป็นสารอินดิโกที่มีสีฟ้าคราม แต่หากในสารตัวอย่างมียาฆ่าแมลงจะสังเกตเห็นความเข้มของสีที่กระดาษลดลงอย่างมากหรือหายไป จากการศึกษาพบว่าความเข้มของสีที่ปรากฏสัมพันธ์กับปริมาณยาฆ่าแมลงแต่จะเห็นการลดลงของสีได้อย่างชัดเจนที่ความเข้มข้นของยาสูงกว่า 5 มิลลิกรัมต่อตัวอย่างหนึ่งกิโลกรัม การเตรียมตัวอย่างเช่น การเลือกใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างและเข้ากันได้กับ  $\mu$ PAD ที่พัฒนาขึ้นยังอาจเพิ่ม

ประสิทธิภาพของการวิเคราะห์ได้<sup>57</sup> โดยรวมอุปกรณ์กระดาษที่พัฒนาขึ้นมีต้นทุนต่ำ ใช้รีเอเจนต์เพียงเล็กน้อย สะดวกในการใช้งานและอาจนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจคัดกรองยาฆ่าแมลงในวัตถุดิบสมุนไพร

## บทสรุป

จากความต้องการของวิธีวิเคราะห์อย่างง่ายที่ให้ผลรวดเร็ว น่าเชื่อถือ ไม่ต้องอาศัยเครื่องมือราคาแพงและสามารถทำได้นอกห้องปฏิบัติการ จึงนำมาสู่การศึกษาพัฒนา  $\mu$ PAD ที่เป็นไปอย่างก้าวกระโดด แม้ว่าการประดิษฐ์อุปกรณ์ต้องคำนึงถึงปัจจัยหลายด้านไม่ว่าจะเป็นคุณสมบัติของกระดาษที่มีผลต่ออัตราการไหล รูปแบบลวดลายและวิธีการสร้างอุปกรณ์ที่ต้องสัมพันธ์กับทิศทาง การไหลและหลักการของวิธีการตรวจวัด รวมทั้งคุณสมบัติ ความซับซ้อนและวิธีที่นำมาใช้การเตรียมสารละลายตัวอย่าง ต้นทุนการผลิต ความจำเพาะและความไวของวิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสม การนำริบทเหล่านี้มาพิจารณาประกอบการออกแบบอย่างรอบคอบทำให้ได้มาซึ่งอุปกรณ์ที่มีประสิทธิภาพและมีข้อเด่นหลายประการโดยเฉพาะด้านความเรียบง่ายและความ

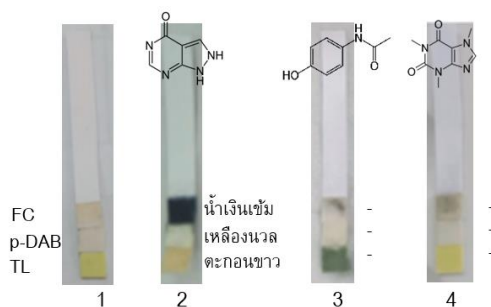
สะดวกในการใช้งาน นอกจากนี้ การนำวิธีคัลเลอร์เมตริกมาใช้ในการตรวจวัดสารบนกระดาษทำให้ไม่จำเป็นต้องพึ่งพาเครื่องมือราคาสูง วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้มีกักเก็บได้ทั่วไป ปริมาณรีเอเจนต์และตัวอย่างที่ใช้้น้อยมากเมื่อเทียบกับวิธีอื่นจึงค่อนข้างเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เห็นผลการทดสอบชัดเจนโดยการดูสีซึ่งสามารถนำมาใช้ได้ทั้งการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ  $\mu$ PAD เป็นอีกทางเลือกที่น่าสนใจ การพัฒนาอุปกรณ์และวิธีที่ใช้งานได้ง่ายไม่จำเป็นต้องใช้เครื่องมือขั้นสูงจึงอาจเป็นประโยชน์อย่างยิ่งโดยเฉพาะงานคุ้มครองผู้บริโภคด้านการเฝ้าระวังการปนเปื้อนยาในสมุนไพรและอาหารเสริม ซึ่งจะช่วยส่งเสริมความปลอดภัยและควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ผลิตในประเทศไทยให้ดียิ่งขึ้น

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยโครงการที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาพัฒนา  $\mu$ PAD



**รูปที่ 1** (ซ้าย) รูปแบบลายพิมพ์บนกระดาษ (ขวา) อุปกรณ์กระดาษที่พิมพ์ด้วยสาร SU-8 (ดัดแปลงจาก Martinez และคณะ, 2007)<sup>10</sup>

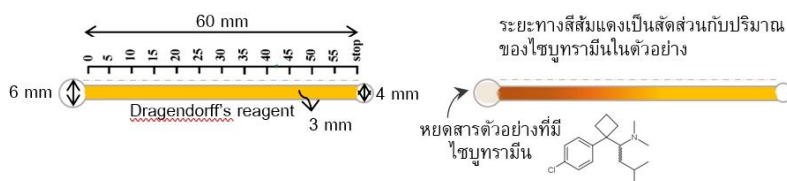


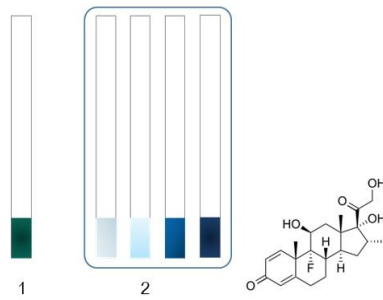
**รูปที่ 2**  $\mu$ PAD สำหรับการวิเคราะห์อัลโลฟูรินอล (1) แถบ  $\mu$ PAD ประดิษฐ์จากกระดาษ Whatman หมายเลข 1 (ขนาด 1x1 ซม.) ที่มีรีเอเจนต์ FC, p-DAB และ TL ก่อนใช้งาน (2) สีของ  $\mu$ PAD ที่จุ่มลงในอัลโลฟูรินอล (3) สีของ  $\mu$ PAD ที่จุ่มลงในพาราเซตามอล และ (4) สีของ  $\mu$ PAD ที่จุ่มลงในคาเฟอีน (ดัดแปลงจาก Pratiwi และคณะ, 2019)<sup>53</sup>

# ตารางที่ 1 เทคนิคการสร้างลายบนกระดาษเพื่อประดิษฐ์ $\mu$ PAD

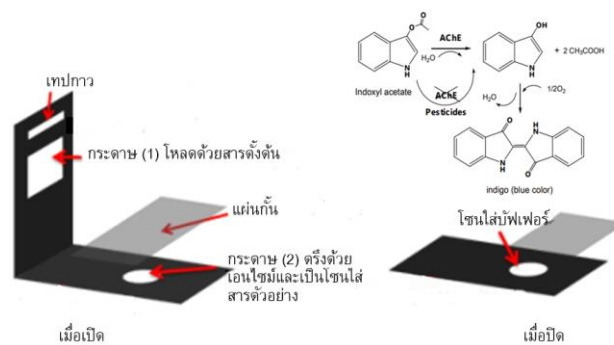
เทคนิค	หลักการ	อุปกรณ์ที่ใช้	ข้อดี	ข้อควรคำนึง
การตัด (cutting)	ตัดหรือฉลุลายบนกระดาษตามแบบเป็นร่องกลางขนาด เล็กๆ หน้าที่เป็นแนวกันควบคุมทิศทางการไหล <sup>27</sup> หรือ ตัดกระดาษเป็นรูปแบบที่ต้องการแล้วนำมาติดบนแผ่น พลาสติกหน้าที่เป็นส่วนที่ไม่ชอบน้ำ <sup>28</sup>	กรรไกร ใบมีด เครื่องตัด เครื่อง ตัดเลเซอร์ เป็นต้น	ง่าย ไม่ต้องใช้สารเคมีใดๆ ในการสร้างลวดลาย เหมาะ สำหรับงานต้นแบบ	ความละเอียดของลวดลายขึ้นอยู่กับอุปกรณ์ ที่ใช้ มักใช้แผ่นพลาสติกยึดติดด้านหลัง เพื่อรองรับไม่ให้ลวดลายของกระดาษ หลุดขาดออก
การพล็อตด้วยหมึก (ink plotting)	ใช้ปากกาหมึกกันน้ำวาดลวดลายบนกระดาษด้วยมือหรือ ด้วยเครื่องพล็อตเตอร์	ปากกาลงคำมีด <sup>29</sup> ปากกา 3 มิติ <sup>30</sup> ปากกาที่บรรจุด้วยหมึกกันน้ำ <sup>31</sup> เครื่องพล็อตเตอร์ <sup>32</sup>	สะดวก ราคาถูก เหมาะ สำหรับงานต้นแบบ	ความละเอียดและคมชัดของลวดลาย ขึ้นกับฝีมือผู้วาด หรือต้องมีการประยุกต์ เครื่องพล็อตเตอร์เพื่อให้สามารถเข้ากับ ปากกาแต่ละชนิด
การพิมพ์ด้วยขี้ผึ้ง (wax printing)	พิมพ์ขี้ผึ้งหลอมเหลวเป็นลวดลายบนกระดาษด้วย เครื่องพิมพ์ขี้ผึ้ง ตามด้วยการให้ความร้อนเพื่อให้ขี้ผึ้งซึม ผ่านความหนาของกระดาษสร้างเป็นลายของช่องไหล <sup>33-34</sup>	เครื่องพิมพ์ขี้ผึ้ง แทนให้ความร้อน หรืออุ้ง	ง่าย สะดวก ราคาไม่สูงมาก ไม่ต้องใช้ตัวทำละลาย อินทรีย์ เหมาะสำหรับงาน ต้นแบบ	ขอบลายอาจไม่คมชัดขึ้นกับการไหลซึม ของขี้ผึ้งไปในเนื้อกระดาษ เครื่องพิมพ์ แวกซ์อาจหาได้ยาก
การพิมพ์อิงค์เจ็ท (inkjet printing)	พิมพ์น้ำหมึกกันน้ำลงบนกระดาษเป็นลวดลายและอาจใช้ ในการพิมพ์หรือเจ็นต์ลงบนกระดาษแต่ละโซน <sup>35-36</sup>	เครื่องพิมพ์อิงค์เจ็ท ดับเบิลที่บรรจุ ด้วยหมึกกันน้ำเช่น เรซิน โพลี ลิสไตรีน โพลีเอครีเลต และรีเอ เจนต์ต่าง ๆ	เครื่องพิมพ์ราคาไม่แพง	ต้องตั้งค่าเครื่องพิมพ์ให้เหมาะสมกับ ความหนืดของหมึก หากกระดาษมีความ หนาต้องทำการพิมพ์ซ้ำหลายครั้งเพื่อ จ่ายหมึกพิมพ์ให้ตรงไปตามความหนา กระดาษ
การพิมพ์เฟล็กโซ กราฟิ (flexographic printing)	พิมพ์ลายโดยใช้เครื่องพิมพ์ที่ใช้หลักการงานแบบ ลูกกลิ้ง มีลักษณะเป็นแม่พิมพ์หมุนรับสีและกลิ้งไปบน กระดาษทำให้เกิดลวดลาย <sup>37-38</sup>	เครื่องพิมพ์เฟล็กโซกราฟี หมึก พิมพ์ เช่น โพลีไดเมทิลซิลอกเซน เช่น	พิมพ์ได้คราวละเป็นจำนวนมาก ความละเอียดคมชัด สูง	เครื่องพิมพ์ขนาดใหญ่ราคาแพง การตั้ง ค่าซับซ้อน ไม่เหมาะสำหรับงานต้นแบบ
การพิมพ์สกรีน (screen printing)	สร้างแม่พิมพ์สกรีนเพื่อใช้ในการสกรีนขี้ผึ้งเหลวหรือหมึก กันน้ำบนกระดาษ หากเป็นขี้ผึ้งแบบชนิดแข็งอาจใช้การถู ผ่านแม่พิมพ์และตามด้วยการให้ความร้อนบน แผ่นกระดาษเพื่อให้ขี้ผึ้งหลอมและกลายเป็นเส้นลวดลาย <sup>39</sup>	แม่พิมพ์สกรีน ขี้ผึ้ง น้ำหมึกหรือเร ซิน แทนให้ความร้อน	อุปกรณ์จัดหาได้ง่าย ต้นทุนไม่สูง เหมาะสำหรับ งานต้นแบบ	ความละเอียดและคมชัดของลวดลาย ขึ้นกับคุณภาพของแม่พิมพ์สกรีนและ เทคนิคที่ใช้ในการสกรีน
การพิมพ์เลเซอร์ (laser printing)	พิมพ์ลวดลายบนกระดาษโดยใช้เครื่องพิมพ์เลเซอร์เมื่อ พิมพ์เสร็จอาจตามด้วยการให้ความร้อนเพื่อให้หมึกพิมพ์ แทรกเข้าไปในเนื้อกระดาษ <sup>40-41</sup>	เครื่องพิมพ์เลเซอร์ ดับเบิลหมึก พิมพ์	เครื่องพิมพ์จัดหาได้ง่าย ราคาไม่แพง ลวดลายมี ความละเอียด	สิ้นเปลืองหมึก อาจต้องเพิ่มขั้นตอน การให้ความร้อน
การพิมพ์ด้วยแสง (photolithography)	ใช้เทคนิคพิมพ์ลายด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ต (UV) บน กระดาษที่ชุบด้วยน้ำยาไวแสงชนิดลบ โดยนำแผ่นกันแสง ที่มีลายสลักไว้เป็นร่องมาวางกันแสง น้ำยาบนกระดาษ ส่วนที่โดนฉายแสง UV จะเกิดการโฟลิเมอร์เซชันได้เป็น ลายปิดกั้นรูปกระดาษกลายเป็นส่วนที่ไม่ชอบน้ำ จากนั้นจึงจุ่มกระดาษในตัวทำละลายที่เหมาะสมเพื่อขจัด น้ำยาบนกระดาษส่วนที่ไม่ได้โดนฉายแสง UV <sup>42</sup>	น้ำยาไวแสงชนิดลบ เครื่องฉาย แสง UV แผ่นกันแสงที่สลักลาย ตัวทำละลาย	ลวดลายมีความแม่นยำและ ความละเอียดสูง	ขั้นตอนยุ่งยาก ต้นทุนค่อนข้างสูง
การบ่มด้วยแสง (UV light curing)	หลักการคล้ายกับเทคนิคการพิมพ์ด้วยแสง แต่ชุบ กระดาษลงน้ำยา PUA สูตรน้ำและฉายแสง UV ผ่านแผ่น กัน และล้างน้ำยา PUA ที่ไม่โดนแสงออกจากกระดาษ ด้วยน้ำ <sup>26</sup>	น้ำยา PUA หลอดไฟ UV แผ่น พลาสติกกันแสงที่สลักลาย	ต้นทุนต่ำ ทนต่อตัวทำละลายอินทรีย์ ได้มากขึ้น	ความละเอียดไม่ดีเท่าเทคนิคการพิมพ์ ด้วยแสง
การสลักลายด้วยอิงค์เจ็ท (inkjet etching)	คล้ายกับเทคนิคการพิมพ์ลายด้วยอิงค์เจ็ท แต่การสลัก ลายจะใช้เครื่องอิงค์เจ็ทพิมพ์ตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น โทลูอีน ลงบนกระดาษที่ชุบด้วยสารที่ไม่ชอบน้ำ เช่น โพลี ลิสไตรีน เครื่องอิงค์เจ็ทฉีดพ่นตัวทำละลายไปชะล้างสาร บนกระดาษเกิดเป็นบริเวณช่องไหล <sup>43</sup>	เครื่องพิมพ์อิงค์เจ็ท ตัวทำละลาย อินทรีย์	เครื่องพิมพ์ราคาไม่แพง	ต้องประยุกต์เครื่องพิมพ์อิงค์เจ็ทเพื่อให้ เหมาะสมกับความหนืดของตัวทำละลาย ขั้นตอนซับซ้อน
การสลักลายด้วยพลาสมา (plasma etching)	วิธีการคล้ายกันกับเทคนิคการสลักลายด้วยอิงค์เจ็ท ประกอบด้วยขั้นตอนการชุบกระดาษลงในสารที่ไม่ชอบน้ำ แต่ทำการกัดลายที่ผิวกระดาษด้วยพลาสมา ได้เป็นช่อง ไหลส่วนที่ขอบน้ำยาแยกออกจากกระดาษส่วนที่ไม่ชอบน้ำ <sup>44</sup>	น้ำยา เช่น OTS หรือ ATK แผ่น กันเครื่องกำเนิดพลาสมา	น้ำยาราคาไม่สูง	ขั้นตอนค่อนข้างยุ่งยาก
การปั๊มลาย (stamping)	ใช้ตัวปั๊มลาย เช่น ตราชาย หัวปั๊มโลหะ ปั๊มหมึกบน กระดาษและทิ้งให้หมึกแห้งที่อุณหภูมิห้อง หรือปั๊มขี้ผึ้ง เหลวหรือโพลีเมอร์เหลวโดยใช้หัวสแตมป์ร้อน จากนั้นทิ้ง ให้เย็นลงแข็งตัวเกิดเป็นลายบนกระดาษ <sup>45-46</sup>	ตัวปั๊มลาย แทนน้ำหมึก	ต้นทุนต่ำ ขั้นตอนไม่ยุ่งยาก เหมาะสำหรับงานต้นแบบ	ความละเอียดคมชัดและความแม่นยำ ค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับเทคนิคอื่น การ ควบคุมขั้นตอนการปั๊มและการปรับ ปริมาณของน้ำหมึกให้เหมาะสมเพื่อให้ สร้างลายส่วนที่ไม่ชอบน้ำบนกระดาษ อาจทำได้ยาก

**รูปที่ 3**  $\mu$ PAD สำหรับการวิเคราะห์ไซบูทรามิน (ซ้าย) สีของ  $\mu$ PAD ก่อนใส่สารตัวอย่าง (ขวา) สีของ  $\mu$ PAD หลังใส่สารตัวอย่างที่มีไซบูทรามิน (ตัดแปลงจาก Karamahito และคณะ, 2021)<sup>54</sup>





**รูปที่ 4** μPAD สำหรับการวิเคราะห์เดกซาเมทาโซน (1) สีของ μPAD ก่อนใช้งาน (2) สีของ μPAD ที่จุ่มลงในเดกซาเมทาโซนที่ความเข้มข้นต่างๆ (ดัดแปลงจาก Kuswandi และคณะ, 2021)<sup>55</sup>



**รูปที่ 5** μPAD สำหรับการวิเคราะห์สารฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (ดัดแปลงจาก Apilux และคณะ, 2015)<sup>56</sup>

## References

- Bushra N, Sultan A, Rubab, SL. Comparison of medicinally important natural products versus synthetic drugs-a short commentary. *Nat Prod Chem Res* 2017;6:1-2.
- Watcharananthavisan P. Factors related to the detection of pharmaceutical substances adulterated in food products claiming to reduce weight or sexual enhancement. M. Pharm. thesis. Nakhon Pathom. Silpakorn University, 2019. (in Thai)
- Xu M, Huang B, Gao F, et al. Assesment of adulterated traditional chinese medicines in china: 2003-2017. *Front Pharmacol* 2019; 10(1446):1-8.
- Calahan J, Howard D, Almalki AJ, Gupta MP, Calderón AI. Chemical adulterants in herbal medicinal products: a review. *Planta Med* 2016; 82(6): 505-515.
- Sarker MR. Adulteration of herbal medicines and dietary supplements with undeclared synthetic drugs: dangerous for human health. *Int J Pharm Pharm Sci* 2014;6(4):1-2.
- Haneef J, Shaharyar M, Husain A, et al. Analytical methods for the detection of undeclared synthetic drugs in traditional herbal medicines as adulterants. *Drug Test Anal* 2013;5(8):607-613.
- Pratiwi R, Dipadharma RHF, Prayugo IJ, Layandro OA. Recent analytical method for detection of chemical adulterants in herbal medicine. *Molecules* 2021;26(21):6606. (doi: <https://doi.org/10.3390/molecules26216606>)
- Sharma N, Barstis T, Giri B. Advances in paper-analytical methods for pharmaceutical analysis. *Eur J Pharm Sci* 2018;1(111):46-56.
- Noviana E, Carrão DB, Pratiwi R, Henry CS. Emerging applications of paper-based analytical devices for drug analysis: A review. *Anal Chim Acta* 2020;15(1116):70-90.
- Martinez AW, Phillips ST, Butte MJ, Whitesides GM. Patterned paper as a platform for inexpensive, low-volume, portable bioassays. *Angew Chem Int Ed Engl* 2007;46(8):1318-1320.
- Busa LSA, Mohammadi S, Maeki M, Ishida A, Tani H, Tokeshi M. Advances in microfluidic paper-based analytical devices for food and water analysis. *Micromachines* 2016;7(5):86. (doi: <https://doi.org/10.3390/mi7050086>)
- Martinez AW, Phillips ST, Whitesides GM, Carrilho E. Diagnostics for the developing world: microfluidic paper-based analytical devices. *Anal Chem* 2009;82(1):3-10.
- Fernandes SC, Walz JA, Daniel J, Brooks JC, Mace CR. Beyond wicking: expanding the role of patterned paper as the foundation for an analytical platform. *Anal Chem* 2017;89(11):5654-5664.
- Mark D, Haeberle S, Roth G, von Stetten F, Zengerle R. Microfluidic lab-on-a-chip platforms: requirements, characteristics and applications. *Chem Soc Rev* 2010;39(3):1153-1182.
- Garnier G, Then WL. Review: Paper microfluidics: applications and perspectives. In: l'Anson SJ (ed.). *Advances in pulp and paper research*, Cambridge 2013. Manchester. FRC, 2018: pp.541-583.
- Yetisen AK, Muhammad SA, Lowe CR. Paper-based microfluidic point-of-care diagnostic devices. *Lab Chip* 2013;13:2210-2251.
- Duenchay P, Dungchai W. Paper-based analytical device. *Pathumwan Acad J* 2014;4(10):37-47. (in Thai)



18. Nishat S, Jafry AT, Martinez AW, Awan FR. Paper-based microfluidics: simplified fabrication and assay methods. *Sens Actuators B Chem* 2021;336:129681. (doi: <https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.129681>)
19. Evans E, Gabriel EFM, Coltro WKT, Garcia CD. Rational selection of substrates to improve color intensity and uniformity on microfluidic paper-based analytical devices. *Analyst* 2014;139(9):2127-2213.
20. Pelton R. Bioactive paper provides a low-cost platform for diagnostics. *Trends Analyt Chem* 2009;28(8):925-942.
21. DeChiara NS, Wilson DJ, Mace CR. An open software platform for the automated design of paper-based microfluidic devices. *Sci Rep* 2017;7:16224. (doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16542-8>)
22. Lim H, Jafry AT, Lee J. Fabrication, flow control, and applications of microfluidic paper-based analytical devices. *Molecules* 2019;24(16):2869. (doi: [10.3390/molecules24162869](https://doi.org/10.3390/molecules24162869))
23. Yanyan X, Jin S, Zhiyang L. Fabrication techniques for microfluidic paper-based analytical devices and their applications for biological testing: a review. *Biosens Bioelectron* 2016;77:774-789.
24. Costa MN, Veigas B, Jacob JM, et al. A low cost, safe, disposable, rapid and self-sustainable paper-based platform for diagnostic testing: lab-on-paper. *Nanotechnology* 2014;25(9):094006. (doi: [10.1088/0957-4484/25/9/094006](https://doi.org/10.1088/0957-4484/25/9/094006))
25. Han T, Jin Y, Geng C, Aziz AR. Microfluidic paper-based analytical devices in clinical applications. *Chromatographia* 2020;83: 693-701.
26. Lin D, Li B, Ji X. Low cost fabrication of microfluidic paper-based analytical devices with water-based polyurethane acrylate and their application for bacterial detection. *Sens Actuators B Chem* 2020;303:127213. (doi: [10.1016/j.snb.2019.127213](https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.127213))
27. Nie J, Liang, Y, Zhang Y, Le S. One-step patterning of hollow microstructures in paper by laser cutting to create microfluidic analytical devices. *Analyst* 2013;138(2):671-676. (doi: [10.1039/c2an36219h](https://doi.org/10.1039/c2an36219h))
28. Oliveira RAG, Camargo F, Pesquero NC, Faria RC. A simple method to produce 2D and 3D microfluidic paper-based analytical devices for clinical analysis. *Anal Chim Acta* 2017;957:40-46.
29. Mani NK, Prabhu A, Biswas SK, Chakraborty S. Fabricating paper based devices using correction pens. *Sci Rep* 2019;9:1752. (doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-38308-6>)
30. Sousa LR, Duarte LC, Coltro WKT. Instrument-free fabrication of microfluidic paper-based analytical devices through 3D pen drawing. *Sens Actuators B Chem* 2020;312:128018. (doi: [10.1016/j.snb.2020.128018](https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.128018))
31. Bruzewicz DA, Reches M, Whitesides GM. Low-cost printing of poly(dimethylsiloxane) barriers to define microchannels in paper. *Anal Chem* 2008;80(9):3387-3392.
32. Amin R, Ghaderinezhad F, Bridge C, et al. Pushing the limits of spatial assay resolution for paper-based microfluidics using low-cost and high-throughput pen plotter approach. *Micromachines* 2020;11(6):611. (doi: <https://doi.org/10.3390/mi11060611>)
33. Carrilho E, Martinez AW, Whitesides GM. Understanding wax printing: a simple micropatterning process for paper-based microfluidics. *Anal Chem* 2009;81(16):7091-7095.
34. Younas M, Ammara M, Khan M, Nawaz AA. Parametric analysis of wax printing technique for fabricating microfluidic paper-based analytic devices ( $\mu$ PAD) for milk adulteration analysis. *Microfluid Nanofluid* 2019;23(3):38. (doi: [10.1007/s10404-019-2208-z](https://doi.org/10.1007/s10404-019-2208-z))
35. Mu X, Zhang YS. Fabrication and applications of paper-based microfluidics. In: Piraino F, Selimovic S (eds.). *Diagnostic devices with microfluidics*. Boca Raton. CRC Press, 2017: pp.45-63. (Accessed on Jan. 15, 2022, at [https://www.routledge.com/rsc/downloads/ch\\_3\\_9781315154442.pdf](https://www.routledge.com/rsc/downloads/ch_3_9781315154442.pdf))
36. Zhang H, Smith E, Zhang W, Zhou A. Inkjet printed microfluidic paper-based analytical device ( $\mu$ PAD) for glucose colorimetric detection in artificial urine. *Biomed Microdevices* 2019;21(3):48. (doi: [10.1007/s10544-019-0388-7](https://doi.org/10.1007/s10544-019-0388-7))
37. Sher M, Zhuang R, Demirci U, Asghar W. Paper-based analytical devices for clinical diagnosis: recent advances in the fabrication techniques and sensing mechanisms. *Expert Rev Mol Diagn* 2017;17(4):351-366.
38. Määttänen AK, Fors D, Wang S, Valtakari D. Paper-based planar reaction arrays for printed diagnostics. *Sens Actuators B Chem* 2011;160:1404-1412.
39. Dungchai W, Chailapakul O, Henry CS. A low-cost, simple, and rapid fabrication method for paper-based microfluidics using wax screen-printing. *Analyst* 2011;136:77-82.
40. Ghosh R, Gopalakrishnan S, Savitha R, Renganathan T, Pushpavanam S. Fabrication of laser printed microfluidic paper-based analytical devices (LP- $\mu$ PADs) for point-of-care applications. *Sci Rep* 2019;9:7896. (doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44455-1>)
41. Ng JS, Michinao H. Fabrication of paper microfluidic devices using a toner laser printer. *RSC Advances* 2020;10(50):29797-29807.
42. Han T, Jin Y, Geng C, ur Rehman Aziz A. Microfluidic paper-based analytical devices in clinical applications. *Chromatographia* 2020;83: 693-701.
43. Yamada K, Henares TG, Suzuki K, Citterio D. Paper-based inkjet-printed microfluidic analytical devices. *Angew Chem Int Ed Engl* 2015;54(18): 5294-5310.
44. Jiang Y, Hao Z, He Q, Chen H. A simple method for fabrication of microfluidic paper-based analytical devices and on-device fluid control with a portable corona generator. *RSC Advances* 2016;6(4):2888-2894.
45. Mathaweensansum A, Thongrod S, Khongkaew P, Phechkrajang CM, Wilairat P, Choengchan N. Simple and fast fabrication of microfluidic paper-based analytical device by contact stamping for multiple-point standard addition assay: Application to direct analysis of urinary creatinine. *Talanta* 2020;210:120675. (doi: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120675>)
46. de Tarso Garcia P, Cardoso TMG, Garcia CD, Carrilhocd E, Coltro WKT. A handheld stamping process to fabricate microfluidic paper-based analytical devices with chemically modified surface for clinical assays. *RSC Advances* 2014;4:37637-37644. (doi: <https://doi.org/10.1039/C4RA07112C>)
47. Su W, Cook B, Fang Y, Tentzeris MM. Fully inkjet-printed microfluidics: a solution to low-cost rapid three-dimensional microfluidics fabrication with numerous electrical and sensing applications. *Sci Rep* 2016;6:35111. (doi: <https://doi.org/10.1038/srep35111>)
48. Colozza N, Caratelli V, Moscone D, Arduini F. Origami paper-based electrochemical (bio)sensors: state of the art and perspective. *Biosensors Basel* 2021;11(9):328. (doi: <https://doi.org/10.3390/bios11090328>)
49. Martinez A, Phillips S, Nie Z, et al. Programmable diagnostic devices made from paper and tape. *Lab on a Chip* 2010;10:2499-2504.

50. Emilia WN, Lauro K. Sensing approaches on paper-based devices: A review. *Anal Bioanal Chem* 2013;405:7573-7595.
51. Liu L, Yang D, Liu G. Signal amplification strategies for paper-based analytical devices. *Biosens Bioelectron* 2019;(136):60-75.
52. De Matteis V, Cascione M, Fella, G, Mazzotta L, Rinaldi R. Colorimetric paper-based device for hazardous compounds detection in air and water: a proof of concept. *Sensors* 2020;20(19):5502. (doi: <https://doi.org/10.3390/s20195502>)
53. Pratiwi R, Septyani RN, Febriany R, Saputri FA, Nuwarda RF. Design and optimization of colorimetric paper-based analytical device for rapid detection of allopurinol in herbal medicine. *Int J Anal Chem* 2019;4682839. (doi: <https://doi.org/10.1155/2019/4682839>)
54. Karamahito P, Sitanurak J, Nacapricha D, Wilairat P. Paper device for distance-based visual quantification of sibutramine adulteration in slimming products. *Microchem J* 2021;162:105784. (doi: 10.1016/j.microc.2020.105784)
55. Kuswandi B, Kartika A, Kristiningrum N, Pratoko DK, Sary IP. Simple and rapid dipstick test for detection of dexamethasone adulteration in traditional herbal medicines. *Pharm Sci Asia* 2021;48:115-121.
56. Apilux A, Isarankura-Na-Ayudhya C, Tantimongcolwat T, Prachayasittikul V. Paper-based acetylcholinesterase inhibition assay combining a wet system for organophosphate and carbamate pesticides detection. *EXCLI J* 2015;14:307-319.
57. Jin L, Hao Z, Zheng Q, et al. A facile microfluidic paper-based analytical device for acetylcholinesterase inhibition assay utilizing organic solvent extraction in rapid detection of pesticide residues in food. *Anal Chim Acta* 2020;1100:215-224.