

PDMS 블레이드 코팅법을 이용한 종이-기반 바이오센서칩 제작

정현호* · 박차미

전남대학교 공학대학 화학생명공학과
59626 전라남도 여수시 대학로 50

(2020년 7월 22일 접수, 2020년 9월 9일 수정본 접수, 2020년 9월 21일 채택)

Fabrication of Paper-based Biosensor Chip Using Polydimethylsiloxane Blade Coating Method

Heon-Ho Jeong* and Chami Park

Department of Chemical and Biomolecular Engineering, Chonnam National University,
50 Daehak-ro, Yeosu-si, Jeollanam-do 59626, Korea

(Received 22 July 2020; Received in revised form 9 September 2020; accepted 21 September 2020)

요 약

본 연구는 적은 비용으로 분석 장치 없이 질병 진단 및 경과를 모니터링할 수 있는 종이-기반 분석 장치(paper-based analytical device, PAD)를 제작하기 위해 polydimethylsiloxane (PDMS) 블레이드 코팅 방법을 제안하였다. PAD 디자인은 레이저 커팅 기술로 쉽게 몰드에 적용할 수 있으며, 제작된 몰드로 블레이드 코팅을 수행하여 완전한 소수성 장벽 형성에 필요한 조건을 확립하였다. 코팅 조건인 잉크의 두께와 종이와의 접촉시간에 따라 PDMS 소수성 장벽의 구조와 친수성 채널의 크기 변화를 분석하여 안정적으로 소수성 장벽을 형성할 수 있는 조건을 최적화하였다. 최적화된 방법을 바탕으로 PAD를 제작하여 특별한 분석기기 없이 단백질, 당, 메탈이온을 검출하여 바이오센서에 응용가능함을 증명하였다.

Abstract – This paper proposes the polydimethylsiloxane (PDMS) blade coating method for fabrication of paper-based analytical device (PAD) that is able to monitor the disease diagnosis and progress without special analytical equipment. The mold that has PAD design is easily modified by using laser cutting technique. And the fabricated mold is used for hydrophobic barrier formation by blade coating. We have optimized the stable formation of PDMS hydrophobic barrier as blade coating condition, which is established by analyzing the structure of the PDMS hydrophobic barrier and change of hydrophilic channel size as thickness of the ink and contact time with the chromatography paper. Based on optimal condition, we demonstrate that PAD as biosensor can apply to detect protein, glucose, and metal ion without special analysis equipment.

Key words: Paper chip, Blade coating, Polydimethylsiloxane, Glucose detection

1. 서 론

종이-기반 분석 장치(paper-based analytical device, PAD)는 분석화학 분야에서 전망 높은 기술로 실용성을 인정받아 각광을 받고있다. PAD는 외부 장치의 도움없이 모세관 현상을 통해 유체 흐름을 유도하고 장치 제조의 간편함과 함께 낮은 비용, 사용 편의성으로 인해 식품 품질 관리 및 환경 모니터링 분야에 적용가능하며 특히 높은 신뢰성이 요구되는 진료 임상 진단에서도 응용이 가능하다[1-4].

PAD제작을 위한 초기 방법은 친수성 크로마토 그래피 용지에 소수성 장벽을 형성하기 위해 포토리소그래피(photo-lithography) 기술을 적용하여 감광액(photoresist)을 선택적으로 패터닝하였다[5]. 하지만 이 방법은 소수성 장벽 형성과정이 복잡하고 감광액은 비용이 비싸며 환경적 문제가 있어 이를 대체하기 위해, 잉크젯 에칭[6], 절단[7-9], 왁스 인쇄[10,11], 플렉소 인쇄(flexography printing)[12], 스크린 인쇄[13] 등을 포함하여 종이 패터닝을 위한 몇 가지 제조 방법이 개발되었다. 현재까지 왁스 인쇄는 친환경 소재로 저렴한 비용과 짧은 제작 시간, 대량생산 가능, 적합한 해상도 등의 장점으로 인해 가장 많이 사용되는 방법이다[14]. 하지만 왁스 인쇄 방법의 주요 단점은 왁스와 일부 유기 용매 및 계면 활성제 용액과의 용해성으로 인한 비호환성이다[15,16]. 이러한 특정 유기용매와의 비호환성은 세포 용해가 필요한 분석 및 비수용성 화학 물질을 이용하는

[†]To whom correspondence should be addressed.

E-mail: jeonghh29@jnu.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

제약약품, 화학 작용제 및 살충제 분석 등의 일부 중요한 응용 분야에서 PAD 사용이 제한되는 결과를 초래한다. 또한 수용액 기반의 계면활성제 용액과의 비수용성은 생물분석 및 진단분야에서의 응용이 제한되어 PAD의 범용성에 큰 영향을 미치게 된다. 다른 한편으로, 잉크젯 인쇄를 통해 선택적으로 졸-겔의 소수성 장벽을 형성한 PAD는 일부 유기 용매 및 계면 활성제 용액을 포함하는 응용에 적합한 것으로 나타났지만 몇몇의 알코올류 용매와는 여전히 비호환성이었다[17].

PDMS (polydimethylsiloxane)은 제조 용이성, 투명성, 탄성, 낮은 전기 전도성, 생체적합성으로 인해 미세유체기반의 식품, 생물학, 의학 연구에서 가장 많이 사용되는 중합체이다[18-22]. 또한 PDMS는 일부 알코올(1-propanol, ethanol, methanol, phenol, ethylene glycol, glycerol), 니트릴(acetonitrile), 이치환 된 아미드(N-methyl-2-pyrrolidone, N,N-dimethylformamide), 선택 사이드(dimethyl sulfoxide), 피리딘(pyridine) 등의 용매와 호환성이 있어 PDMS 소수성 장벽으로 제조된 PAD는 비수용성 용매를 필요로 하는 광범위한 분석 실험을 수행하기 용이할 수 있다[23,24]. 예를 들어 메탄올과 아세토 니트릴은 액체 크로마토 그래피 및 비수성 모세관 전기 영동에서 가장 널리 사용되는 용매이며, DMF, DMSO 및 피리딘과 함께 전기 분석 화학분야에서도 광범위하게 사용되고 있다[25,26]. 따라서 PDMS기반의 PAD는 이러한 비수용성용매가 요구되는 분야에 적용이 가능하여 응용범위를 더욱 넓힐 수 있다. PDMS 기반의 PAD 소수성장벽 형성은 x, y-plotter를 이용하여 종이 위에 직접 인쇄하는 방법이 있다[27]. 이 방법은 PDMS를 이용한 PAD 제작의 편리성을 제공하지만 불균일한 구조의 소수성 장벽 형성과 노즐의 막힘현상, 분사되는 고분자의 양 조절의 어려움 등의 단점이 있다.

본 논문에서 고분자블레이드 코팅 방법을 적용하여 PDMS 기반의 친환경적인 PAD 제작 방법 개발 및 바이오센서에 응용하였다. 종이에 형성되는 소수성 장벽 구조는 블레이드 코팅 조건인 고분자와 종이간의 접촉시간과 잉크 두께에 따라 변화하였으며 PAD 제작을 위한 최적의 조건을 확인하였다. 제작된 PAD를 기반으로 색 변화를 이용한 분석방법을 적용한 결과 당, 단백질, 이온을 한 장치에서 검출이 가능함을 증명하였다. 따라서 PDMS 기반의 PAD는 바이오센서, 환경물질 검출, 진단 및 치료분야 등 다양한 분야에서 응용될 것으로 기대된다.

2. 실험 및 방법

2-1. 재료

PAD를 제작하기 위해 크로마토그래피종이(Whatman 3MM chromatography)를 이용하였으며, 소수성장벽 형성은 polydimethylsiloxane (PDMS, Sylgard 184, Dow corning, USA)을 사용하였다. 당분석을 위해 glucose oxidase, o-dianisidine, peroxidase, D-glucose를 사용하였으며, 단백질 분석은 tetrabromopheno blue sodium salt (TBPB), Bovine serum albumin (BSA)를 사용하였다. Ni²⁺이온을 분석하기 위해 sodium fluoride, sodium thiosulfate, dimethylglyoxime, nickel chloride를 사용하였으며 시약은 sigma-aldrich에서 구매하였다.

2-2. PAD 제작 방법

크로마토그래피 종이에 PDMS 소수성 장벽을 형성하기 위해 블레이드 코팅방법을 고안하였다(Fig. 1). 우선, 유체가 흐를 수 있는

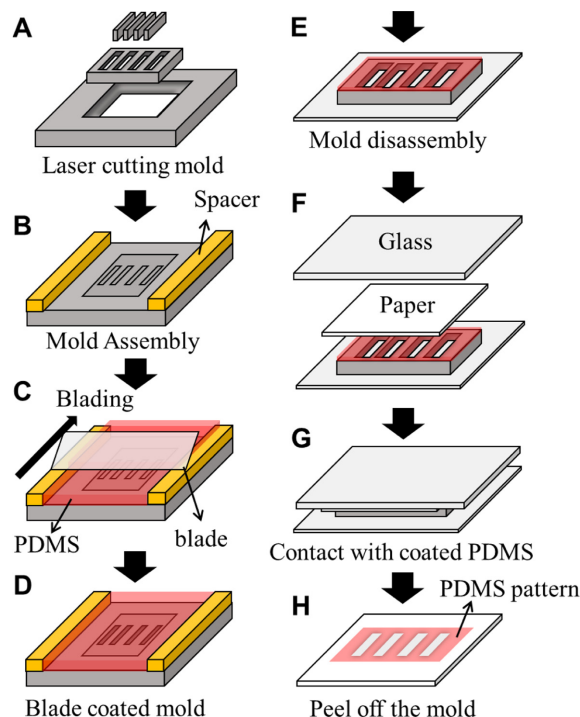


Fig. 1. Schematic diagram of PAD fabrication in the chromatography paper by PDMS blading coating. (A) Acrylic plate mold cutting using programmed laser. (B) Preparation of blade coating by putting spacers on acrylic plate. (C) Loading and blading the PDMS solution along the spacers. (D) Formation of thin PDMS layer and (E) detachment of acrylic mold with selectively coated PDMS layer. (F-G) Assembly of chromatography paper and PDMS coated mold and then put the glass slide onto the paper top. (H) Formation of hydrophobic barrier after disassembly of paper and acrylic mold.

친수성 채널을 형성하기 위해서는 종이에 선택적인 소수성장벽 인쇄가 필요하다. 이를 위해 원하는 PAD의 형태를 AutoCAD 프로그램으로 디자인하여 레이저기기(Laser engraving & cutting machine, Thunder laser, NOVA24)에 입력하면 원하는 형태의 아크릴을 커팅하여 구조물을 제작하였다(Fig. 1A). 블레이드 코팅을 준비하기 위해 커팅된 상태의 아크릴에 일정한 두께의 스페이서를 부착하였다(Fig. 1B). 이때 스페이서의 두께에 따라 코팅 두께도 달라진다. 그런 다음 아크릴 패턴 위에 PDMS와 경화제를 10:1의 비율로 혼합한 고분자 용액을 부운 후 블레이더로 얇게 코팅한다(Fig. 1C-D). 이 상태에서 커팅된 아크릴만 따로 분리를 하면 특정 패턴에만 PDMS가 코팅된 몰드를 얻을 수 있다(Fig. 1E). 그 위에 크로마토 그래피 종이를 두고 일정한 압력을 주기 위해 유리기판을 순차적으로 얹어서 PDMS가 종이에 전사되어 침투될 수 있도록 접촉시킨다(Fig. 1F-G). 접촉시간이 지난 후 각각을 분리하여 65 °C에서 약 4 시간 동안 경화하여 PDMS 소수성 장벽이 인쇄된 종이를 제작할 수 있다(Fig. 1H).

2-3. 분석 방법

블레이드코팅 조건에 따른 소수성장벽의 변화를 관찰하기 위해 수용액 잉크를 종이에 흡수시킨 후 현미경(Stereo zoom microscope, Amscope)으로 촬영하였으며 이를 ImageJ 프로그램을 이용하여 분석하였다. PAD기반의 비색분석을 위한 물질대상은 글루코즈

(glucose), 단백질, 니켈 이온(Ni^{2+})로 선정하여 수행하였다. 당분석을 위해 먼저 0.6 M 요오드화 칼륨(potassium iodide) 용액을 종이의 당검출 영역 위에 흡수시킨 후 건조시킨다. 그런 다음 5 mg/ml o-dianisidine와 5:1 glucose oxidase/horseradish peroxidase 혼합용액을 요오드화 칼륨 위에 흡수시킨 후 건조하여 준비한다. 단백질 분석은 pH 3.0 인 250 mM citrate buffer와 3.3 mM tetrabromophenol blue (TBPB)을 순차적으로 흡수와 건조하여 준비한다. 니켈 이온 분석은 먼저 1 M sodium fluoride (NaF)와 1 M sodium thiosulfate를 니켈 검출 영역 위에 순차적으로 흡수와 건조하여 준비한다. 그 후 0.1 M dimethylglyoxime (DMG) 용액 2 μL 를 5번 흡수시키며 마지막으로 ammonium hydroxide buffer (pH = 9.5)를 흡수시킨 후 건조하여 준비한다.

3. 결과 및 토의

본 연구에서는 PDMS 고분자 블레이드 코팅 기술을 이용하여 종이-기반의 바이오센서칩 제작 방법을 개발하였다. 이때 소수성 장벽의 역할을 하는 PDMS를 종이 내에 특정 디자인으로 형성하는 것이 중요하다. PAD의 디자인은 레이저커팅 기기를 사용하여 쉽게 구현이 가능하며 블레이드 코팅 방법으로 선택적인 PDMS 소수성 장벽을 형성하기 위해서는 레이저커팅 기기가 필수적이다. 블레이드 코팅은 표면 전체에 용액이 도포되기 때문에 표면 특정 구조물이 있더라도 코팅을 수행하면 원하는 형태로 PDMS가 전사된다. 원하는 디자인의 특정부분에만 PDMS를 전사하기 위해서 레이저커팅 된 아크릴을 개별적으로 분리하지 않은 상태에서 PDMS 블레이드 코팅을 수행해야 된다(Fig. 1C-D). 그 후 PDMS가 코팅된 필요한 부분의 아크릴만 따로 분리하여 종이의로의 전사를 통해 원하는 디자인으로 PAD를 제작할 수 있다(Fig. 1E-H).

종이에 전사되는 PDMS의 구조는 블레이드 코팅 및 전사 조건에 따라 달라질 수 있다. PDMS 블레이드 코팅을 균일하게 하기 위해 기관 양쪽 끝에 일정한 두께를 갖는 스페이서를 두었으며 잉크의 역할을 하는 PDMS 코팅 두께는 스페이서의 두께에 따라 달라질 수 있다. 먼저 PDMS 잉크 코팅 두께에 따라 종이에 전사되는 PDMS 구조를 확인하기 위해 잉크의 두께를 0.2~0.6 mm로 조절하여 PAD제작한 후 종이의 측면을 관찰하였다. 구조물을 시각화 하기 위해 친수성 부분에 수용성 염료가 포함된 수용액을 종이에 흘려 흡수시켜 이미지화 및 분석하였다(Fig. 2). 그 결과 코팅된 PDMS 잉크가 얇은 경우(0.2~0.4 mm) 종이 내부를 통과하여 반대편 면까지 침투하지 못하였으며, 이 경우 소수성 장벽의 역할이 불가능하여 수용액이 장벽 아랫부분으로 흘러 누출이 발생하는 것을 확인하였다(Fig. 2A). 반면, 코팅된 잉크가 충분히 두꺼운 0.6 mm에서는 PDMS 장벽이 종이내부 전체에 형성되어 수용액이 통과되지 않는 것을 확인하였다. 이 결과를 정량적으로 분석하여 종이의 내부에 형성된 PDMS 장벽의 두께를 침투율(penetration rate)로 나타내었으며, 이는 PDMS가 침투된 깊이를 전체 종이의 두께로 나누어 나타내었다. 이때 0%는 PDMS가 침투되지 않은 종이를 나타내며, 50%는 전체 종이의 절반부분까지 PDMS 장벽이 형성되었으며, 100%는 종이의 전체 두께 0.4 mm에 PDMS 장벽이 형성되었음을 의미한다. 그 결과 잉크의 두께가 두꺼울수록 침투율은 점차 증가되는 경향을 보이며 대략 0.5 mm이상의 잉크 두께에서 완전한 PDMS 장벽이 형성되고 있음을 확인하였다(Fig. 2B). 이때 잉크의

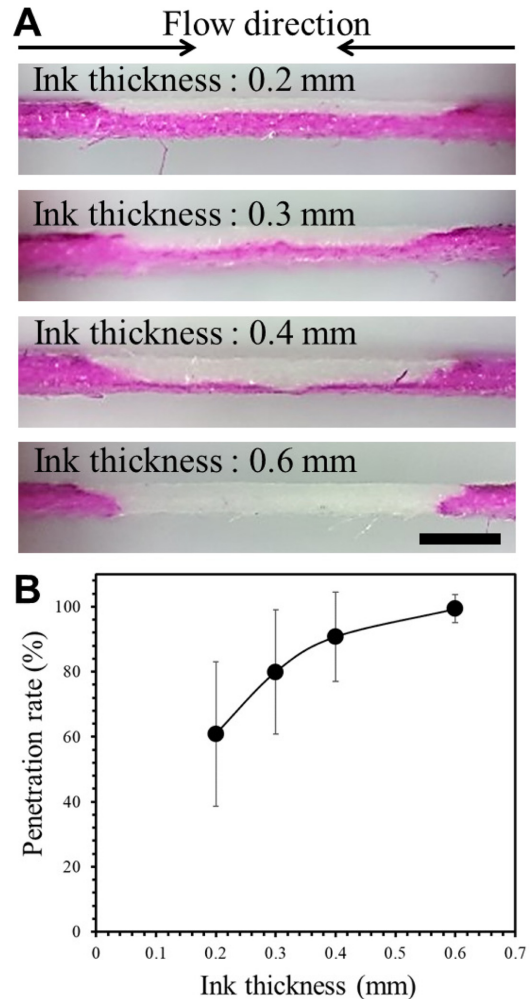


Fig. 2. The optimal thickness of blade coated PDMS ink on the acrylic mold. (A) Cross-sectional views of the cured PDMS within the paper at different ink thickness. PDMS non-patterned region stained with pink color, indicating the hydrophilic channel region. No staining indicate the PDMS hydrophobic barriers. Scale bar indicates 0.4 mm. (B) Quantitative result for penetration rate of PDMS in the paper at different ink thickness.

두께가 낮은 조건에서 표준편차의 값이 큰 이유는 각 종이마다 내부 섬유네트워크가 차이가 있어 PDMS 용액이 침투되는 정도에 영향을 미치는 것으로 여겨진다. 코팅된 잉크가 0.6 mm인 경우에는 PDMS가 종이전체에 침투될수 있는 충분한 조건으로 안정적으로 소수성 장벽이 형성되고 있음을 확인하였다.

PAD의 친수성 채널 형성뿐만 아니라 크기를 조절하여 원하는 디자인을 구현할 수 있는 제조과정을 최적화하는 것은 범용성을 위해 중요하다. Fig. 3에서는 잉크의 두께에 따라 제작된 PAD의 친수성 채널 부분에 염료를 흘려주어 채널의 크기 변화를 확인하였다. 그 결과 코팅된 잉크가 두꺼울수록 친수성 채널의 크기가 전체적으로 좁아지는 것을 시각적으로 확인할 수 있다(Fig. 3A). 채널의 크기는 길이와 너비에서 동시에 감소하였으며 이를 정량적인 분석을 위해 친수성 채널 부분의 면적을 측정하여 결과를 얻었다(Fig. 3B). 모든 제작조건에서 형성된 친수성 채널의 면적은 초기 디자인의 친수성 채널 부분의 면적인 60 mm² (3 mm × 20 mm) 보다 감소하였다,

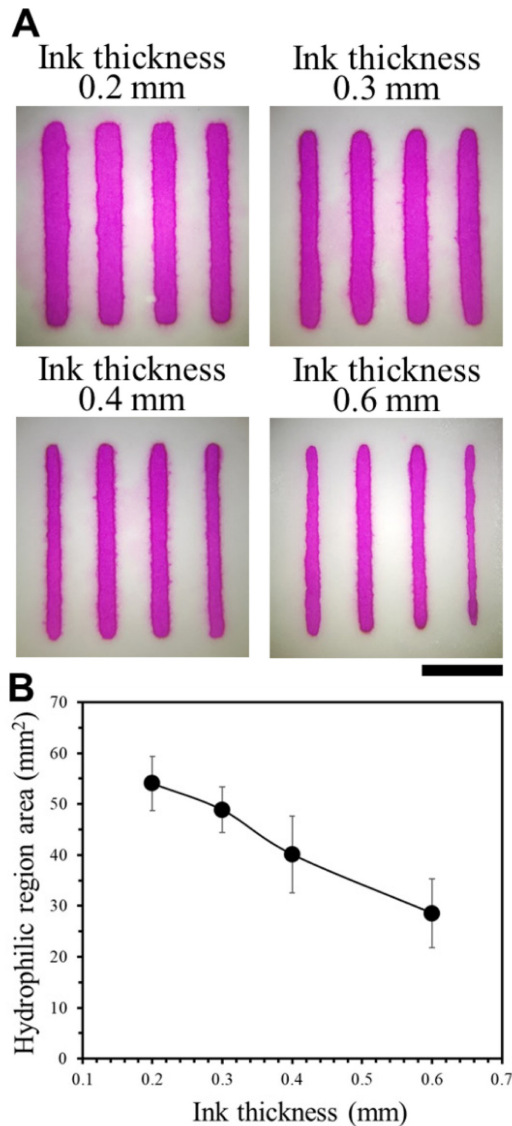


Fig. 3. The optimal thickness of blade coated PDMS ink on the acrylic mold. (A) Top views of the PDMS cured paper at different ink thickness. PDMS non-patterned region stained with pink color, indicating the hydrophilic channel region. No staining region indicates the PDMS hydrophobic barriers. Scale bar indicates 10 mm. (B) Quantitative result for hydrophilic region are in the paper at different ink thickness.

특히, PDMS 소수성장벽의 역할이 가능했던 0.6 mm 잉크두께 조건에서 친수성 채널의 면적은 28.5 mm²으로 대략 50% 감소했음을 확인하였다. 이는 PDMS 용액이 아크릴 몰드에서 종이로 전사될 때 x-, y-, z-축 모든 방향으로 이동하며 흡수되기 때문이다. 따라서 PAD의 채널 구조를 디자인에 따라 정확히 구현하기 위해서는 아크릴 디자인과 형성되는 친수성 채널과의 크기 감소율을 반드시 고려할 필요가 있다.

다음으로 소수성 장벽 형성에 영향을 미치는 다른 중요한 제작 조건은 아크릴에 블레이드 코팅된 PDMS와 종이의 접촉시간이다. 앞에서 잉크의 두께 조절은 PDMS 장벽형성을 위한 양의 조절이었다면, 접촉시간은 PDMS잉크가 종이에 완전한 소수성장벽을 형성할 수 있는 침투 시간이 된다. PDMS 잉크의 양이 충분하여도 침투

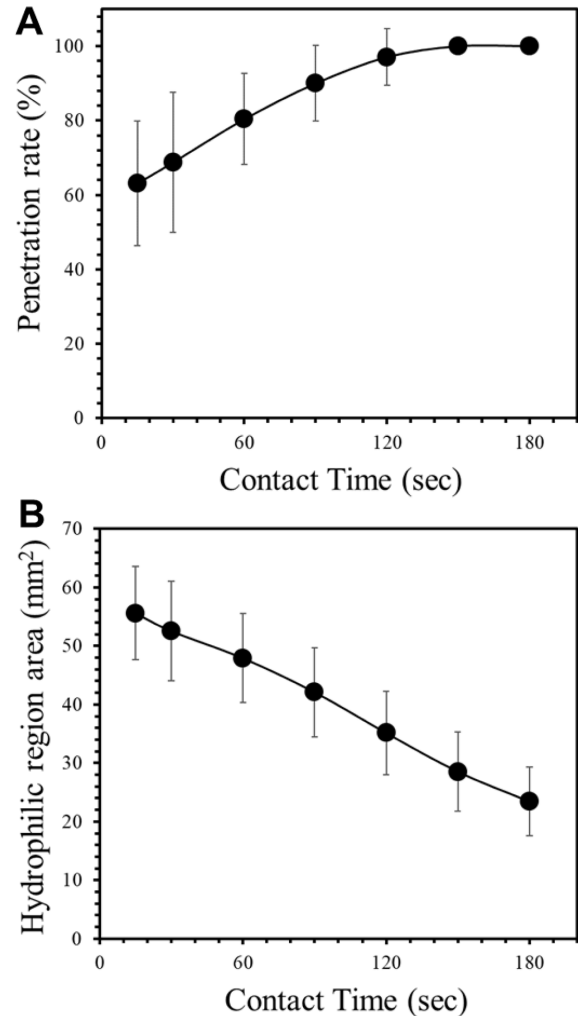


Fig. 4. The optimal contact time of PDMS blade coated mold and chromatography paper. (A) Quantitative result for penetration rate of PDMS in the paper at different contact time. (B) Quantitative result for hydrophilic region are in the paper at different contact time.

될 수 있는 시간이 부족한 경우 완전한 소수성 장벽 형성이 이루어질 수 없다. 따라서 이를 최적화하기 위해 잉크의 두께는 앞서 최적화 하였던 0.6 mm로 고정한 상태에서 접촉시간을 변화하여 PDMS 장벽의 침투율과 친수성 채널의 면적을 측정하였다(Fig. 4). 그 결과 접촉시간이 120 sec로 증가함에 따라 침투율은 증가하였으며 이후로는 침투율이 100%에 도달하였다(Fig. 4A). 완전한 소수성 장벽은 120 sec에서도 형성이 되었지만 각 PAD마다 오차가 있어 불완전한 장벽이 형성된 PAD의 비율이 높아 최소 150 sec 이상의 접촉시간이 필요함을 확인하였다. Fig. 4B에서는 접촉시간에 따라 친수성 채널의 면적이 변화하고 있음을 보여주고 있다. 접촉시간이 증가할수록 친수성 채널의 면적이 감소하였으며 이는 Fig. 3에서 잉크의 두께에 따른 채널 면적 변화와 일관성이 있는 결과이다. 따라서 PDMS 블레이드 코팅방법을 이용하여 PAD를 제작하기 위해서는 잉크의 두께와 종이의 접촉시간에 따라 변화되는 소수성 장벽의 구조를 반드시 고려해야 한다.

다음으로, 최적화된 조건으로 제작된 PAD의 검출 능력을 확인하기 위해 생체물질(BSA, 글루코스) 및 금속이온(니켈이온) 분석을

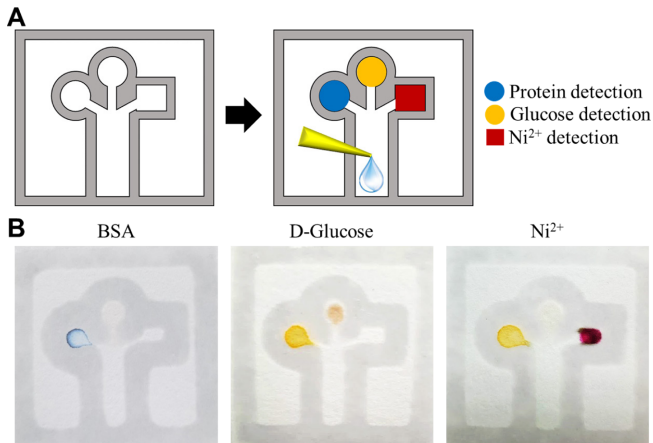


Fig. 5. The PAD for a multiplexed assay including protein, glucose, and Ni²⁺. (A) Schematic diagram of PAD operation. The PAD is designed to detect three type of materials. The sample solution is absorbed into the main channel and transported into the protein, glucose Ni²⁺ detection regions. (B) Positive colorimetric detection for each 1 mg/ml BSA, 1 mg/ml D-glucose, or 0.1 M Ni²⁺ solution.

수행하였다. Fig. 5A는 3가지 물질의 분석이 가능하도록 디자인한 PAD를 보여주고 있다. 주채널에 샘플을 흡수시키면 모세관현상으로 인해 유체가 이동하며 주채널 끝에는 3개의 검출채널로 나뉘게 된다. 각 검출채널에는 BSA, 글루코스, 니켈이온을 비색검출할 수 있는 시약이 흡수 되어 있다. 따라서 분석 샘플이 각 검출채널에 도달하면 검출시약과 화학적 반응한 후 색으로 나타나게 되어 특별한 분석기기없이 검출이 가능하다. BSA 검출은 단백질 진단에 필요한 검사로 황색의 TBPB가 단백질과 만나 결합하면 파이전자의 전자 준위가 낮아져 청색으로 변화하여 확인할 수 있다(Fig. 5B left). 글루코스는 당뇨병진단에 필요한 검사로 효소반응의 생성물인한 색변화로 검출이 가능하다. 글루코스는 글루코스산화효소(glucose oxidase)와 반응하여 과산화수소(H₂O₂)가 생성되며 과산화효소(peroxidase)는 과산화수소와 함께 반응하여 o-dianisidine를 산화시킨다. 이때 산화된 o-dianisidine은 무색에서 갈색으로 변화하여 색검출이 가능하다(Fig. 5B middle). 다음으로 니켈은 음용수 및 음식물 섭취를 통해 체내로 들어와 피부질환, 발암 등 독성을 일으키는 물질이므로 수질 및 체내에 존재하는 니켈을 검출할 필요가 있다. 니켈이온은 DMG와 결합하여 적색의 Ni(DMG)₂를 형성하여 색검출이 가능함을 증명하였다(Fig. 5B right).

4. 결 론

본 연구는 종이기반의 바이오센서칩인 PAD를 제작하기 위해 PDMS 블레이드 코팅 방법을 제안하였으며 완전한 소수성 장벽 형성에 필요한 조건을 확립하였다. PAD 디자인의 확장성과 자율성을 위해 레이저 커팅 기술을 적용하여 몰드를 제작하여 블레이드 코팅을 수행하였다. 코팅 조건인 잉크의 두께와 종이와의 접촉시간에 따라 PDMS 소수성 장벽의 구조와 친수성 채널의 크기 변화를 분석하여 최적의 조건을 확인한 결과, 잉크의 두께 최소 0.5 mm와 접촉시간 150 sec에서 가장 안정적으로 소수성 장벽을 형성하였다. 상기의 최적화된 방법을 바탕으로 PAD를 제작하여 특별한 분석기기 없이

단백질, 당, 메탈이온을 검출하여 바이오센서에 응용가능함을 증명하였다. 따라서, 본 연구를 통해 개발한 PAD는 고가의 분석 장치 없이 적은 비용으로 질병 진단 및 진행상황을 모니터링할 수 있어 환자의 부담 감소 및 치료의 즉각적인 대처가 가능할 것으로 기대한다.

감 사

이 논문은 2019년도 정부(과학기술정보통신부)의 재원으로 한국연구재단-신진연구지원사업(No. NRF-2020R1C1C1005505)의 지원을 받아 수행되었으며 이에 감사드립니다.

References

- Martinez, A. W., Phillips, S. T., Whitesides, G. M. and Carrilho, E., "Diagnostics for the Developing World: Microfluidic Paper-Based Analytical Devices," *Anal Chem*, **82**(1), 3-10(2010).
- Yamada, K., Henares, T. G., Suzuki, K. and Citterio, D., "Paper-Based Inkjet-Printed Microfluidic Analytical Devices," *Angew Chem Int Edit*, **54**(18), 5294-5310(2015).
- Yamada, K., Shibata, H., Suzuki, K. and Citterio, D., "Toward Practical Application of Paper-based Microfluidics for Medical Diagnostics: State-of-the-art and Challenges," *Lab on a chip*, **17**(7), 1206-1249(2017).
- Li, F., Hu, Y. T., Li, Z. M., Liu, J. C., Guo, L. and He, J. B., "Three-dimensional Microfluidic Paper-based Device for Multiplexed Colorimetric Detection of Six Metal Ions Combined with Use of a Smartphone," *Anal Bioanal Chem*, **411**(24), 6497-6508(2019).
- Martinez, A. W., Phillips, S. T., Butte, M. J. and Whitesides, G. M., "Patterned Paper as a Platform for Inexpensive, Low-volume, Portable Bioassays," *Angew Chem Int Edit*, **46**(8), 1318-1320(2007).
- Abe, K., Suzuki, K. and Citterio, D., "Inkjet-printed Microfluidic Multianalyte Chemical Sensing Paper," *Anal Chem*, **80**(18), 6928-6934(2008).
- Fenton, E. M., Mascarenas, M. R., Lopez, G. P. and Sibbett, S. S., "Multiplex Lateral-Flow Test Strips Fabricated by Two-Dimensional Shaping," *Acs Appl Mater Inter*, **1**(1), 124-129(2009).
- Nie, J. F., Liang, Y. Z., Zhang, Y., Le, S. W., Li, D. N. and Zhang, S. B., "One-step Patterning of Hollow Microstructures in Paper by Laser Cutting to Create Microfluidic Analytical Devices," *Analyst*, **138**(2), 671-676(2013).
- Evans, E., Gabriel, E. F. M., Coltro, W. K. T. and Garcia, C. D., "Rational Selection of Substrates to Improve Color Intensity and Uniformity on Microfluidic Paper-based Analytical Devices," *Analyst*, **139**(9), 2127-2132(2014).
- Lu, Y., Shi, W. W., Jiang, L., Qin, J. H. and Lin, B. C., "Rapid Prototyping of Paper-based Microfluidics with Wax for Low-cost, Portable Bioassay," *Electrophoresis*, **30**(9), 1497-1500(2009).
- Carrilho, E., Martinez, A. W. and Whitesides, G. M., "Understanding Wax Printing: A Simple Micropatterning Process for Paper-Based Microfluidics," *Anal Chem*, **81**(16), 7091-7095(2009).
- Olkkonen, J., Lehtinen, K. and Erho, T., "Flexographically Printed Fluidic Structures in Paper," *Anal Chem*, **82**(24), 10246-10250(2010).
- Dungchai, W., Chailapakul, O. and Henry, C. S., "A Low-cost, Simple, and Rapid Fabrication Method for Paper-based Microfluidics Using Wax Screen-printing," *Analyst*, **136**(1), 77-82(2011).

14. Kim, D. H., Jeong, S. G. and Lee, C. S., "Angular-based Measurement for Quantitative Assay of Albumin in Three-dimensional Paper-based Analytical Device," *Korean Chem Eng Res*, **58**(2), 286-292(2020).
15. Chen, B., Kwong, P. and Gupta, M., "Patterned Fluoropolymer Barriers for Containment of Organic Solvents within Paper-Based Microfluidic Devices," *Acs Appl Mater Inter*, **5**(23), 12701-12707 (2013).
16. Dornelas, K. L., Dossi, N. and Piccin, E., "A Simple Method for Patterning Poly(dimethylsiloxane) Barriers in Paper Using Contact-printing with Low-cost Rubber Stamps," *Anal Chim Acta*, **858**, 82-90(2015).
17. Wang, J. Y., Monton, M. R. N., Zhang, X., Filipe, C. D. M., Pelton, R. and Brennan, J. D., "Hydrophobic Sol-gel Channel Patterning Strategies for Paper-based Microfluidics," *Lab on a chip*, **14**(4), 691-695(2014).
18. McDonald, J. C. and Whitesides, G. M., "Poly(dimethylsiloxane) as a Material for Fabricating Microfluidic Devices," *Accounts Chem Res*, **35**(7), 491-499(2002).
19. Tanaka, H., Yamamoto, S., Nakamura, A., Nakashoji, Y., Okura, N., Nakamoto, N., Tsukagoshi, K. and Hashimoto, M., "Hands-Off Preparation of Monodisperse Emulsion Droplets Using a Poly (dimethylsiloxane) Microfluidic Chip for Droplet Digital PCR," *Anal Chem*, **87**(8), 4134-4143(2015).
20. Baipaywad, P., Kim, Y., Wi, J. S., Paik, T. and Park, H., "Size-controlled Synthesis, Characterization, and Cytotoxicity Study of Monodisperse Poly(dimethylsiloxane) Nanoparticles," *J Ind Eng Chem*, **53**, 177-182(2017).
21. Jeong, H. H., "Controlled Production of Monodisperse Polycaprolactone Microparticles using Microfluidic Device," *Clean Technol*, **25**(4), 283-288(2019).
22. Shim, G., Jeong, S. G., Hong, W., Kang, K. K. and Lee, C. S., "Fabrication of Fluorescent Labeled Bi-compartmental Particles via the Micromolding Method," *Korean Chem Eng Res*, **56**(6), 826-831(2018).
23. Lee, J. N., Park, C. and Whitesides, G. M., "Solvent Compatibility of Poly(dimethylsiloxane)-based Microfluidic Devices," *Anal Chem*, **75**(23), 6544-6554(2003).
24. Lee, J., Kim, M. J. and Lee, H. H., "Surface Modification of Poly(dimethylsiloxane) for Retarding Swelling in Organic Solvents," *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids*, **22**(5), 2090-2095(2006).
25. Riekkola, M. L., "Recent Advances in Nonaqueous Capillary Electrophoresis," *Electrophoresis*, **23**(22-23), 3865-3883(2002).
26. Bao, D. D., Millare, B., Xia, W., Steyer, B. G., Gerasimenko, A. A., Ferreira, A., Contreras, A. and Vullev, V. I., "Electrochemical Oxidation of Ferrocene: A Strong Dependence on the Concentration of the Supporting Electrolyte for Nonpolar Solvents," *J Phys Chem A*, **113**(7), 1259-1267(2009).
27. Bruzewicz, D. A., Reches, M. and Whitesides, G. M., "Low-cost Printing of Poly(dimethylsiloxane) Barriers to Define Microchannels in Paper," *Anal Chem*, **80**(9), 3387-3392(2008).