

# OPTIMIZATION OF CONJUGATE RELEASE AND ANTIBODY CONCENTRATIONS IN THE CAPTURING ZONES TO ENHANCE THE SENSITIVITY OF LATERAL FLOW IMMUNOASSAY FOR DETECTION OF AFLATOXIN B<sub>1</sub>

Chu Duc Tien<sup>1\*</sup>, Nguyen Thi Thu Trang<sup>1</sup>, Nguyen Trong Dat<sup>2</sup>, Hoang Thi Truong<sup>1</sup>,  
Nguyen Van Chuyen<sup>1</sup>, Nguyen Van Ba<sup>1</sup>, Le Tuan Anh<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Vietnam Military Medicine University - 160 Phung Hung, Phuc La, Ha Dong, Hanoi, Vietnam

<sup>2</sup>Military Institute of Preventive Medicine - 21 Trung Liet, Dong Da, Hanoi, Vietnam

Received 10/05/2023

Revised 08/06/2023; Accepted 28/06/2023

## ABSTRACT

**Objectives:** Optimization of conjugate release and antibody concentrations in the capturing zones to enhance the sensitivity of lateral flow immunoassay for detection of Aflatoxin B<sub>1</sub>.

**Methods:** Optimal parameters include: the concentration of monoclonal antibodies spread in the capturing zones, the effects of different chemical buffers for pre-treatment conjugate pad.

**Results:** The concentration of the capturing antibody in the test line were 0,75 mg/ml. The results showed that the stability of the antibody and the conjugate release were highest when using borate buffer and sucrose.

**Conclusions:** We have enhanced the sensitivity of Lateral flow immunoassay by optimizing important parameters affecting detection limit and color signal intensity on test line.

**Keywords:** Lateral flow immunoassay; LFIA; rapid detection; Aflatoxin B<sub>1</sub>; sensitivity.

---

\*Corresponding author

Email address: ductien280190@gmail.com

Phone number: (+84) 983 248 407

<https://doi.org/10.52163/yhc.v64i4.724>



# TỐI ƯU GIẢI PHÓNG HẠT VÀNG KHÁNG THỂ TRÊN MÀNG CỘNG HỢP VÀ NỒNG ĐỘ KHÁNG THỂ TRÊN TEST LINE, ĐỂ TĂNG ĐỘ NHẠY CỦA QUE THỬ SẮC KÝ MIỄN DỊCH, PHÁT HIỆN NHANH ĐỘC TỐ VI NẤM AFLATOXIN B<sub>1</sub>

Chu Đức Tiên<sup>1\*</sup>, Nguyễn Thị Thu Trang<sup>1</sup>, Nguyễn Trọng Đạt<sup>2</sup>, Hoàng Thị Trường<sup>1</sup>, Nguyễn Văn Chuyên<sup>1</sup>, Nguyễn Văn Ba<sup>1</sup>, Lê Tuấn Anh<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Học viện Quân y - 160 Phùng Hưng, P. Phúc La, Hà Đông, Hà Nội, Việt Nam

<sup>2</sup>Viện Y học Dự phòng Quân đội - 21 P. Trung Liệt, Trung Liệt, Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài: 10 tháng 05 năm 2023

Chỉnh sửa ngày: 08 tháng 06 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 28 tháng 06 năm 2023

## TÓM TẮT

**Mục tiêu:** Tối ưu giải phóng hạt vàng kháng thể trên màng cộng hợp và nồng độ kháng thể trên test line để tăng độ nhạy của que thử sắc ký miễn dịch, phát hiện nhanh độc tố vi nấm Aflatoxin B<sub>1</sub>.

**Phương pháp:** Các thông số tối ưu bao gồm: nồng độ kháng thể đơn dòng trải trên vạch phát hiện, và nồng độ của các chất hóa học xử lý màng cộng hợp.

**Kết quả:** Nồng độ tối ưu của kháng thể ở vạch phát hiện là 0,75 mg/ml. Kết quả cho thấy tính ổn định của kháng thể và hiệu quả giải phóng phức hợp hạt vàng kháng thể là cao nhất khi sử dụng đệm Borat và đường sucrose.

**Kết luận:** Bằng cách tối ưu các thông số quan trọng ảnh hưởng đến giới hạn phát hiện và cường độ tín hiệu màu trên vạch test line chúng tôi đã cải thiện được độ nhạy của que thử sắc ký miễn dịch.

**Từ khóa:** Que thử sắc ký miễn dịch; LFIA; phát hiện nhanh; Aflatoxin B<sub>1</sub>; độ nhạy.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) được biết đến như một chất chuyển hóa thứ cấp độc hại được tạo bởi một số loài nấm *Aspergillus flavus* và *A. parasiticus* [1]. Phơi nhiễm với độc chất này có nguy cơ mắc ung thư biểu mô tế bào gan. Cơ quan Nghiên cứu Ung thư quốc tế đã phân loại AFB<sub>1</sub> là chất gây ung thư nhóm 1 [2]. AFB<sub>1</sub> xuất hiện trong các sản phẩm nông nghiệp như

lạc, ngô,... Nếu con người ăn phải thực phẩm bị ô nhiễm sẽ gây nguy hiểm nghiêm trọng tới sức khỏe. Để bảo vệ sức khỏe cho con người việc phát hiện thực phẩm bị nhiễm độc tố nấm mốc là cần thiết.

Để phân tích AFB<sub>1</sub>, một số phương pháp phân tích như sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC), sắc ký lỏng khối phổ (LC-MS), sắc ký khối phổ (GC-MS) và xét nghiệm miễn dịch liên kết với enzyme (ELISA) đã được sử

\*Tác giả liên hệ

Email: ductien280190@gmail.com

Điện thoại: (+84) 983 248 407

<https://doi.org/10.52163/yhc.v64i4.724>

dụng. Các phương pháp trên tốn nhiều thời gian, sử dụng thiết bị đắt tiền và cần có kỹ thuật viên có kinh nghiệm để vận hành máy. Các kỹ thuật trên không phù hợp với chẩn đoán tại chỗ. Que thử sắc ký miễn dịch dòng chảy bên ngày càng được quan tâm do khắc phục được những vấn đề trên. LFIA có khả năng phát hiện độc tố nấm mốc với chi phí thấp, thời gian nhanh và dễ dàng với người dùng. Đặc biệt, LFIA đã được dùng cho phân tích bán định lượng bằng cách sử dụng hạt nano từ tính và thiết bị đọc.

Mặc dù LFIA đã được ứng dụng rộng rãi, nhưng độ nhạy và độ ổn định còn hạn chế. Mục tiêu của nghiên cứu này là phát triển LFIA có độ nhạy cao để phát hiện độc tố nấm mốc AFB<sub>1</sub> thông qua việc tối ưu hóa các thông số quan trọng bao gồm: hóa chất xử lý màng cộng hợp để tăng hiệu quả giải phóng hạt vàng-kháng thể, và nồng độ kháng thể bất giữ. Thông qua việc tối ưu hóa này chúng tôi đã đạt được giới hạn phát hiện là 0,002 µg/ml và thời gian phát hiện trong vòng 10-15 phút.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Hóa chất

Hai kháng thể đơn dòng của AFB<sub>1</sub> (monoclonal antibody, OAEF00325 và clone 6A10) mua tại Biotrend; kháng nguyên AFB<sub>1</sub> (32754) được mua từ Sigma. Kháng thể đa dòng IgG kháng lại kháng thể OAEF00325 (M5899), BSA; đệm Borat; TBS; PBS; Tween 20; đường sucrose, lactose, được mua từ Sigma. Hạt nano vàng 20nm (ab269935) được mua từ abcam. Màng nitrocelullose (FF120HP whatman); màng cộng hợp (Standard 17 whatman); màng hút mẫu và màng hút trên (CF4 whatman).

### 2.2. Tối ưu giải phóng hạt vàng-kháng thể và tính ổn định của kháng thể trên màng cộng hợp

#### 2.2.1. Tối ưu giải phóng hạt vàng-kháng thể trên màng cộng hợp

Xử lý màng cộng hợp là rất quan trọng để đảm bảo giải phóng hạt vàng-kháng thể một cách nhất quán và đồng đều. Các nghiên cứu trước đã chứng minh rằng việc bổ sung đường vào dung dịch đệm tạo điều kiện thuận lợi cho việc giải phóng hạt vàng-kháng thể từ màng cộng hợp. Do đó nồng độ đường được lựa chọn là (5%, 10% và 20% (w/v)) và thử nghiệm trên các loại đường khác nhau (sucrose, lactose). Loại đường được lựa chọn là loại đường giữ được sự ổn định của kháng thể khi phun

trên màng cộng hợp và hiệu suất giải phóng hạt vàng kháng thể là cao nhất.

Lựa chọn dung dịch đệm tối ưu: có hiệu quả giải phóng phức hợp hạt vàng-kháng thể-kháng nguyên là cao nhất, và cường độ tín hiệu màu sắc trên test line là đậm nhất.

#### 2.2.2. Tối ưu hóa tính ổn định của kháng thể trên màng cộng hợp

Xử lý màng cộng hợp là để đảm bảo tính ổn định của kháng thể. Các thông số hóa học và vật lý ảnh hưởng đến tính ổn định, chức năng của kháng thể nên cần được tối ưu bằng cách sử dụng các dung dịch đệm khác nhau, và ở pH khác nhau.

Dung dịch đệm xử lý màng cộng hợp được chuẩn bị như sau:

a, Đệm PBS (10 mM, pH 7,4) chứa 1% (v/v) Tween 20; BSA 1%, với 5%, 10% hoặc 20% (w/v) sucrose

b, Đệm TBS (10 mM, pH 8,0) chứa 1% (v/v) Tween 20; BSA 1%, với 5%, 10% hoặc 20% (w/v) sucrose

c, Đệm Borat (10mM, pH 9,0) chứa 1% (v/v) Tween 20; BSA 1% với 5%, 10% hoặc 20% (w/v) sucrose

d, Đệm Borat (10mM, pH 9,0) chứa 1% (v/v) Tween 20; BSA 1% với 5%, 10% hoặc 20% (w/v) lactose

Chức năng của kháng thể được đánh giá sau thời gian bảo quản bằng cách kiểm tra cường độ tín hiệu màu sắc trên test line.

### 2.3. Chuẩn bị màng mao dẫn và chuẩn bị kháng thể bất giữ trên test line

#### 2.3.1. Blocking màng

Nếu không blocking màng, kháng thể và chất cần phân tích sẽ phản ứng với bề mặt của màng, kết quả là hạt vàng kháng thể và kháng nguyên bị giữ lại trên màng. Điều này sẽ dẫn đến kết quả sai do không thể xảy ra phản ứng miễn dịch ở test line nên là tín hiệu màu sắc sẽ yếu. Hóa chất dùng để blocking là BSA 2%; (0,05%) Tween 20 và đường 0,1% (w/v) sucrose.

#### 2.3.2. Tối ưu hóa nồng độ kháng thể bất giữ trên test line

Tối ưu hóa nồng độ kháng thể trên test line là cần thiết, vì nồng độ kháng thể đơn dòng thấp thì ít phức hợp hạt vàng-kháng thể-kháng nguyên được giữ lại ở vạch phát hiện. Vì thế tín hiệu trên test line nhạt. Ngược lại, nồng độ kháng thể đơn dòng cao, nhiều phức hợp được giữ lại trên test line và cường độ tín hiệu màu sẽ đậm. Tuy nhiên, khi nồng độ kháng thể đơn dòng trên test line

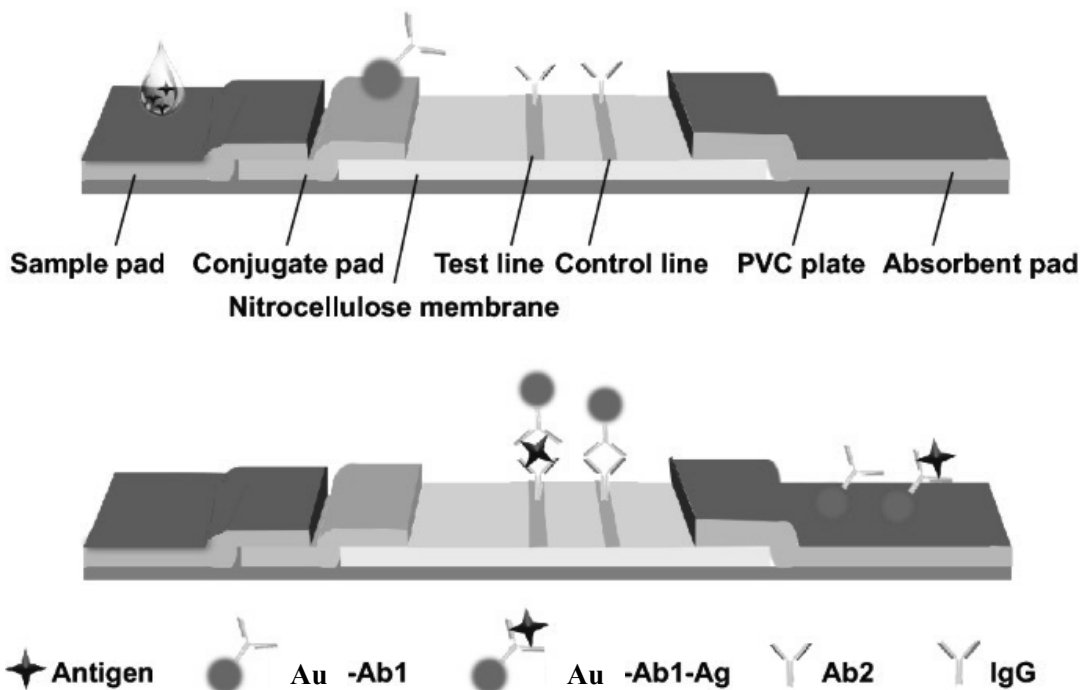


quá cao, vị trí Fab của kháng thể bị chồng lấn và khó bắt cặp kháng nguyên nên tín hiệu màu nhạt. Do đó chúng tôi lựa chọn nồng độ kháng thể đơn dòng ở test line được pha loãng như sau: 1mg/ml; 0,75 mg/ml; 0,50 mg/ml; 0,25 mg/ml để thử nghiệm. Tín hiệu màu sắc ở

vạch phát hiện rõ nhất sau khi thử nghiệm được coi là điều kiện tối ưu.

#### 2.4. Chuẩn bị que thử sắc ký miễn dịch dòng chảy bên

Hình 2.1. Que thử sắc ký miễn dịch dòng chảy bên



Que thử sắc ký miễn dịch dòng chảy bên như trong hình 2.1 gồm 4 phần: màng hút mẫu (sample pad), hạt vàng - kháng thể phun trên màng cộng hợp (gold-antibody conjugate), màng mao dẫn (màng nitrocellulose) và màng hút trên (absorbent pad).

Giới hạn phát hiện của kháng nguyên AFB<sub>1</sub> được thử nghiệm ở nồng độ 0 µg/ml; 0,001 µg/ml; 0,002 µg/ml; 0,02 µg/ml; 0,2 µg/ml. Tín hiệu màu sắc được phát hiện sau 10-15 phút. Kết quả của phương pháp phân tích nhanh (LFIA) được so sánh với phương pháp tham chiếu là sắc ký lỏng hiệu năng cao để kiểm soát tính hợp lệ của que thử.

### 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

#### 3.1. Tối ưu hóa hiệu quả của màng cộng hợp

Màng cộng hợp đóng vai trò quan trọng trong xét nghiệm sắc ký miễn dịch dòng chảy bên. Màng cộng

hợp có ba chức năng chính: bảo quản hạt nano vàng đã gắn kháng thể ở dạng khô, giải phóng hạt vàng, kháng thể khi gặp mẫu ướt và là nơi tương tác đầu tiên giữa hạt vàng kháng thể và chất cần phân tích. Chuẩn bị màng cộng hợp là một trong những giai đoạn quan trọng trong quá trình chế tạo que thử sắc ký miễn dịch. Màng cộng hợp cần duy trì sự ổn định của kháng thể đến khi xét nghiệm được tiến hành. Điều này được thực hiện bằng cách xử lý màng cộng hợp với muối đệm, đường, BSA, và Tween 20.

##### 3.1.1. Lựa chọn dung dịch đệm xử lý màng cộng hợp

Dung dịch đệm dùng để xử lý màng cộng hợp là yếu tố quan trọng của LFIA vì pH của dung dịch đệm ảnh hưởng đến khả năng phản ứng và cấu trúc của kháng thể. Do đó, lựa chọn dung dịch đệm phù hợp là cần thiết vì nó ổn định kháng thể và cải thiện hiệu suất của LFIA. Qua thử nghiệm chúng tôi lựa chọn dung dịch đệm là Borat pH 9 vì hệ đệm này có tín hiệu màu sắc là rõ nhất ở cả vạch test line và control line.

### 3.1.2. Tối ưu hóa chất ổn định và giải phóng hạt vàng-kháng thể trên màng cộng hợp

Bổ sung đường trong dung dịch đệm xử lý màng cộng hợp đã được chứng minh có 2 chức năng chính: tăng tính ổn định của kháng thể và hiệu suất giải phóng hạt vàng kháng thể là cao. Đường sucrose, lactose bảo quản cấu trúc tự nhiên của kháng thể khi sấy khô vì gốc hydroxyl của phân tử đường sẽ thay thế nước xung quanh kháng thể. Thêm vào đó, khi màng cộng hợp được sấy khô và sự có mặt của đường, các phân tử đường tạo thành một lớp bao quanh kháng thể do đó giữ được tính toàn vẹn và cấu trúc sinh học của chúng [3],[4]. Các phân tử đường sẽ nhanh chóng hòa tan khi mẫu ướt khuếch tán vào màng cộng hợp và mang theo kháng thể vào dòng chất lỏng.

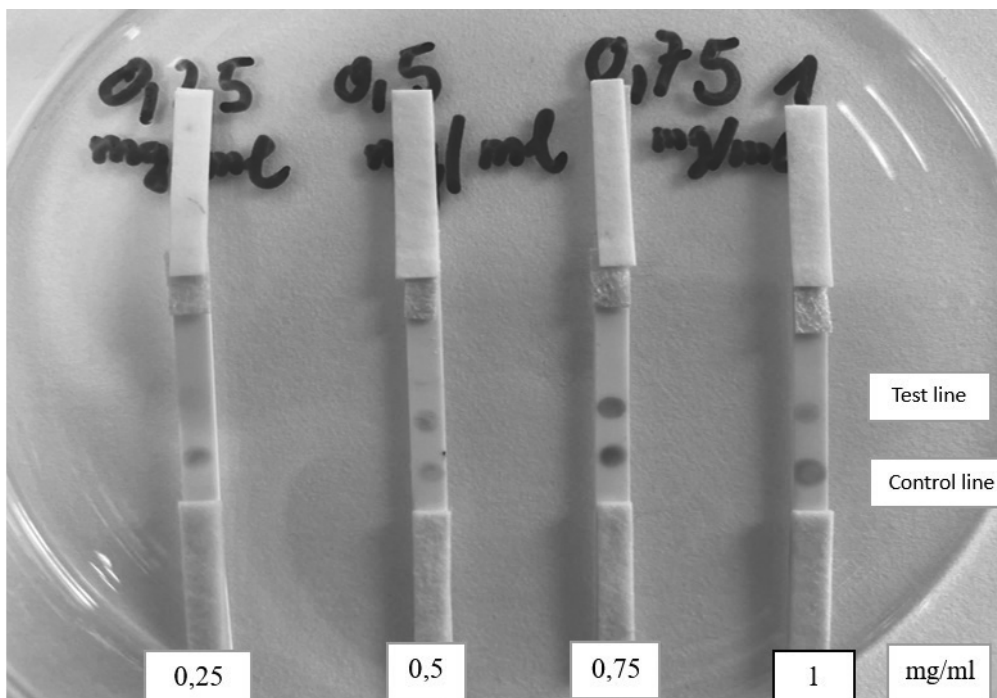
Kết quả cho thấy đường sucrose cải thiện đáng kể tính ổn định của kháng thể trên màng cộng hợp. Thêm vào

đó, việc sử dụng đường sucrose cho thấy tác dụng bảo vệ kháng thể và duy trì tính toàn vẹn của kháng thể ở tất cả nồng độ thử nghiệm. Do đó chúng tôi sử dụng đường sucrose trong dung dịch đệm để ổn định kháng thể và tăng hiệu quả giải phóng kháng thể.

### 3.2. Ảnh hưởng của hóa chất blocking và nồng độ kháng thể trải trên test line

Chúng tôi sử dụng BSA là hóa chất blocking để phản ứng hết với các gốc tự do trên màng nitrocellulose. Vì thế làm giảm các gắn kết không đặc hiệu. Đường sucrose làm chất bảo quản kháng thể. Tween 20 là chất hoạt động bề mặt giúp chất lỏng dễ thấm và di chuyển nhanh hơn. Sau khi sấy khô, màng mao dẫn được gắn lên que thử để sử dụng. Màng mao dẫn đã được xử lý có dòng chảy chậm, đều và phức hợp hạt vàng-kháng thể-kháng nguyên không bị đọng lại trên màng.

Hình 3.1. Lựa chọn nồng độ kháng thể ở vạch phát hiện



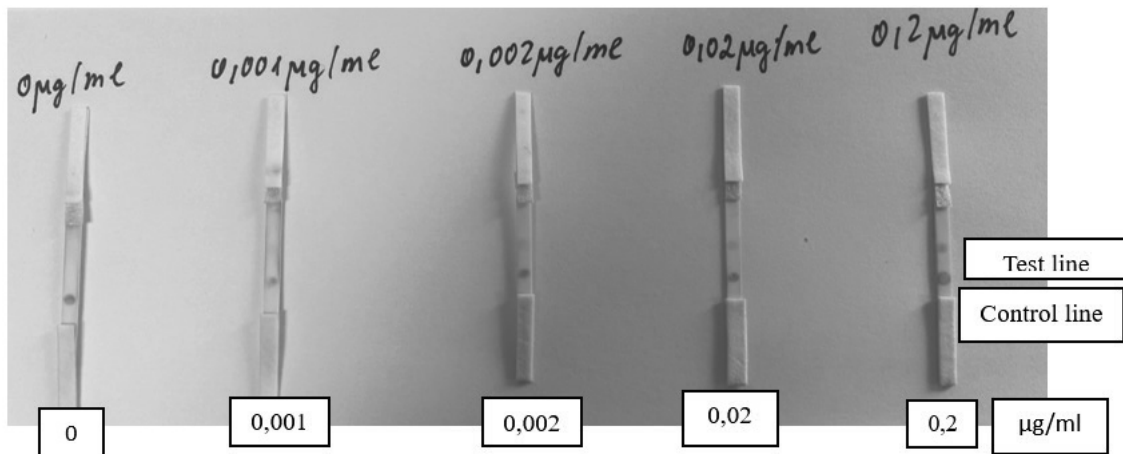
Nồng độ kháng thể bắt giữ trên test line là yếu tố ảnh hưởng đến cường độ màu sắc trên LFIA. Các nồng độ kháng thể bắt giữ pha loãng liên tiếp là 1mg/ml; 0,7 mg/ml; 0,5 mg/ml; 0,25 mg/ml, và nồng độ 0,75 mg/ml được coi là nồng độ tối ưu của xét nghiệm. Khi nồng độ kháng thể bắt giữ tăng lên, nhiều phức hợp kháng nguyên-kháng thể được giữ lại, do đó tăng tín hiệu

màu của test line. Nhưng khi nồng độ kháng thể bắt giữ là cao nhất thì tín hiệu màu giảm xuống. Do nồng độ kháng thể quá cao sẽ chòong lấn các vị trí Fab và khó bắt cặp kháng nguyên, làm tín hiệu màu giảm. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu khác [5].

### 3.3. Đặc điểm về ngưỡng phát hiện của LFIA



**Hình 3.2. Xác định giới hạn phát hiện của LFIA**



Các nồng độ khác nhau của kháng nguyên được sử dụng để đánh giá giới hạn phát hiện của LFIA. Thời gian xét nghiệm là 10-15 phút.

Giới hạn phát hiện của độc tố nấm mốc AFB<sub>1</sub> được tìm thấy là 0,002 µg/ml. Khi nồng độ chất cần phân tích tăng lên, thì cường độ màu ở vạch phát hiện tăng. Điều này là do nồng độ cao của kháng nguyên có trong dung dịch, thì nhiều phức hợp hạt vàng-kháng thể-kháng nguyên được giữ lại ở vạch phát hiện. Vì thế tín hiệu ở test line đậm hơn. Giới hạn phát hiện có thể chấp nhận được khi so sánh kết quả với tiêu chuẩn vàng là HPLC.

## 4. BÀN LUẬN

### 4.1. Tối ưu hóa hiệu quả của màng cộng hợp

#### Lựa chọn dung dịch đệm xử lý màng cộng hợp

Trong số dung dịch đệm được thử nghiệm, đệm Borat ổn định kháng thể đơn dòng AFB<sub>1</sub> hơn so với các hệ đệm khác. Điều này có thể là do pH của Borat là đúng điểm đẳng điện của kháng thể đơn dòng AFB<sub>1</sub> nên cho phép duy trì tính ổn định của kháng thể. Sau thời gian bảo quản, so sánh tín hiệu màu sắc trên test line của que thử cho thấy, đệm Borat có tín hiệu màu đậm nhất.

#### Tối ưu hóa chất ổn định và giải phóng hạt vàng-kháng thể trên màng cộng hợp

Qua thử nghiệm chúng tôi lựa chọn hệ đệm Borat với BSA 1%, tween 20 và 20% (w/v) sucrose, cho thời gian giải phóng từ từ và màu sắc rõ nhất ở vạch test line. Giải thích thêm khi sử dụng nồng độ 1% (v/v) Tween 20, đây là chất hoạt động bề mặt. Chất hoạt động bề mặt thúc đẩy giải phóng kháng thể khỏi màng cộng hợp,

nồng độ chất này càng cao thì giải phóng kháng thể khỏi màng nhanh hơn. Thời gian giải phóng kháng thể chính là thời gian phản ứng của kháng thể cộng hợp và kháng nguyên. Chính vì thế, để que thử có độ nhạy cao cần lựa chọn hệ đệm có nồng độ các chất hoạt hóa phù hợp, đủ thời gian phản ứng mà không ảnh hưởng đến thời gian đọc kết quả.

Nghiên cứu của chúng tôi chỉ ra rằng nồng độ đường sucrose 20% (w/v) có hiệu suất giải phóng phức hợp hạt vàng-kháng thể-kháng nguyên tối ưu hơn so với nồng độ 10% và 5%. Do phức hợp được giải phóng nhiều hơn nên hạt vàng-kháng thể-kháng nguyên được giữ lại nhiều trên test line. Kết quả là cường độ tín hiệu màu sắc trên test line của mẫu đường sucrose 20% (w/v) là rõ hơn so với mẫu còn lại. Hơn nữa, ưu điểm của nồng độ đường 20% là làm tăng độ nhớt của dòng chảy trên LFIA, do đó làm giảm vận tốc dòng mao dẫn. Tốc độ dòng chảy chậm là rất quan trọng vì nó cho phép tăng thời gian tương tác giữa kháng thể và kháng nguyên. Kết quả là hình thành nhiều phức hợp hạt vàng-kháng thể-kháng nguyên thể hơn, làm cho cường độ màu ở test line tăng.

### 4.2. Chuẩn bị màng mao dẫn và chuẩn bị kháng thể bắt giữ trên test line

#### Blocking màng

Đối với màng mao dẫn, bản chất là có các góc tự do trên màng có thể gây ra một số vấn đề khi phức hợp hạt vàng-kháng thể-kháng nguyên chạy qua. Để giảm thiểu các nguy cơ này, sau khi trải kháng thể, màng được ngâm trong dung dịch có chứa chất hoạt động bề mặt Tween 20; BSA; sucrose để khóa các góc tự do trên màng []. Sau khi blocking màng, chúng tôi hầu như

không gặp bất cứ tín hiệu không đặc hiệu nào, do đó nồng độ trên là thông số tối ưu.

#### *Tối ưu hóa nồng độ kháng thể bắt giữ trên test line*

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, nồng độ kháng thể là 0,75 mg/ml có tín hiệu màu sắc ở vạch phát hiện rõ hơn. Khi nồng độ tăng lên, tín hiệu màu không tăng, thậm chí còn giảm.

Giới hạn phát hiện của nghiên cứu của chúng tôi là 0,002 µg/ml. Giới hạn phát hiện của bộ kit do chúng tôi sản xuất có thể phát hiện nồng độ AFB<sub>1</sub> trong thực phẩm là vượt giới hạn tối đa cho phép hay đạt tiêu chuẩn cho phép. Qua đó có thể thấy với điều kiện trang thiết bị hiện có, chúng tôi có thể sản xuất được bộ kit sắc ký miễn dịch phát hiện AFB<sub>1</sub> trong thực phẩm.

## 5. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, chúng tôi phát triển que thử sắc ký miễn dịch dòng chảy bên để phát hiện nhanh độc tố nấm mốc AFB<sub>1</sub>. Kết quả cho thấy, việc tối ưu các thông số xét nghiệm: hóa chất để giải phóng hạt vàng kháng thể trên màng cộng hợp, nồng độ kháng thể bắt giữ là rất quan trọng. Chúng tôi đã chứng minh được rằng tăng độ nhạy của que thử LFIA bằng cách tối ưu hóa các thông số kỹ thuật.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Galvano F, Ritieni A, Piva G et al., The Mycotoxins Blue Book; Nottingham University Press: Nottingham, UK, 2005; pp. 187–224
- [2] Ammida NHS, Micheli L, Palleschi G, Electrochemical immunosensor for determination of AFB1 in barley. Anal. Chim. Acta 2004, 520, 159–164.
- [3] Oshima H, Kinoshita M, Effects of sugars on the thermal stability of a protein. J. Chem. Phys. 2013, 138, 245101.
- [4] Yazdani Y, Mohammadi S, Yousefi M et al., Preliminary Assessment of Various Additives on the Specific Reactivity of Anti-rHBsAg Monoclonal Antibodies. Avicenna J. Med. Biotechnol. 2015, 7, 145–150.
- [5] Pan R, Jiang Y, Sun L et al., Gold nanoparticle-based enhanced lateral flow immunoassay for detection of Cronobacter sakazakii in powdered infant formula. J Dairy Sci. 2018;101(5):3835–3843.
- [6] Sangdae L, Performance Improvement of the One-Dot Lateral Flow Immunoassay for AFB1 by Using a Smartphone-Based Reading System. Sensors 2013, 13, 5109-5116.

