

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES
SCIENCES
DEPARTEMENT
MICROBIOLOGIE ET BIOCHIMIE

N°...../2024



DOMAINE : SCINCES DE LA
NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : SCIENCE
ALIMENTAIRE

OPTION : NUTRITION ET
SCIENCE ALIMENTERE

Mémoire présenté pour l'obtention Du diplôme de Master
Académique

Par : BOUABDALLAH RAHIMA,

GUENFOUD DJAMEL EDDINE, ALILI SAMIA.

Intitule :

**Récentes avancées dans l'analyse des mycotoxines avec un
accent sur la préparation des échantillons alimentaires**

Soutenu devant le jury composé de :

Dr. Amine BELBAHI	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Président
Dr. Yamina BEN MIRI	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Rapporteur
Dr. Mounira ARIECH	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Examineur

Année universitaire : 2023-2024.

Remerciements

Tout d'abord, nous tenons à remercier "Allah" qui éclaire mes chemins, qui nous a donné la force, la volonté et la patience de réaliser ce modeste travail.

Cette thèse est l'aboutissement d'un long processus ; au terme de celui-ci, nous devons remercier :

Notre directrice de thèse, Dr. YAMINA BEN MIRI, Professeur à l'Université Mohamed Boudiaf, M'sila, pour avoir dirigé cette thèse et pour ses qualités scientifiques et humaines. Nous tenons à ce qu'elle trouve ici l'expression de nos sincères remerciements pour son attention et sa minutie. Pour son attention et sa relecture minutieuse de ce travail, qui nous a sans doute permis de préciser notre objectif. Merci pour votre disponibilité, votre travail et vos conseils avisés. Veuillez accepter ce faible témoignage de notre profond respect.

Le président du jury, **Dr. AMINE BELBAHI**, Professeur à l'Université Mohamed Boudiaf, M'sila, pour avoir accepté de lire ce manuscrit et de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de cette thèse. Nous en sommes très touchés et honorés. Veuillez accepter nos très sincères remerciements.

Dr. MOUNIRA ARIECH, Professeur à l'Université Boudiaf, M'sila, pour l'intérêt que vous avez bien voulu porter à ce travail en acceptant de le juger. Veuillez trouver ici le témoignage de notre sincère gratitude et de mon profond respect.

A tous ceux qui nous ont accompagnés et qui nous ont tendu la main tout au long de ce travail.

Dédicace

C'est avec une profonde gratitude et des mots sincères que nous dédions ce modeste travail à nos chers parents, qui ont sacrifié leur vie pour notre réussite et nous ont éclairé le chemin par leurs judicieux conseils. Nous espérons qu'un jour, nous pourrons leur rendre un peu de ce qu'ils ont fait pour nous. Que Dieu leur accorde bonheur et longue vie.

Résumé

Cette revue explore les récents progrès dans l'analyse des mycotoxines, en mettant l'accent sur les innovations dans la préparation des échantillons alimentaires. Les mycotoxines, produites par les champignons, posent des menaces significatives pour la sécurité alimentaire et la santé humaine. Des progrès substantiels ont été réalisés dans le perfectionnement des techniques analytiques, notamment la chromatographie, la spectroscopie, les immunoessais et d'autres encore. Les améliorations des méthodes d'extraction des échantillons et les avancées dans les technologies de détection, telles que les spectromètres de masse, les détecteurs de fluorescence et les capteurs électrochimiques, ont toutes contribué à améliorer la précision, la sensibilité et l'efficacité de l'analyse des mycotoxines. La revue évalue de manière critique ces avancées, en tenant compte de leurs implications pour les cadres réglementaires régissant la sécurité alimentaire et leur impact sur les stratégies d'évaluation et de mitigation des risques. En fournissant un aperçu détaillé des récents progrès dans l'analyse des mycotoxines, la revue vise à équiper les chercheurs, les régulateurs et les parties prenantes d'une compréhension actualisée de l'état actuel du domaine tout en identifiant des voies pour la recherche future. À travers son examen exhaustif, la revue vise à contribuer aux efforts continus visant à assurer la sécurité et l'intégrité de la chaîne d'approvisionnement alimentaire mondiale face à la contamination par les mycotoxines.

Mots-clés : Mycotoxines, alimentation, préparation des échantillons, techniques analytiques, technologies de détection, évaluation des risques.

Abstract

This review explores recent advancements in mycotoxin analysis, with a specific focus on innovations in food sample preparation. Mycotoxins, produced by fungi, pose significant threats to food safety and human health. Substantial progress has been achieved in refining analytical techniques, including chromatography, spectroscopy, immunoassays, and others. Improvements in sample extraction methods and advancements in detection technologies, such as mass spectrometers, fluorescence detectors, and electrochemical sensors, have all contributed to enhancing the accuracy, sensitivity, and efficiency of mycotoxin analysis. The review critically evaluates these advancements, considering their implications for regulatory frameworks governing food safety and their impact on risk assessment and mitigation strategies. By providing a detailed overview of recent strides in mycotoxin analysis, the review aims to equip researchers, regulators, and stakeholders with an up-to-date understanding of the field's current state while identifying avenues for future research. Through its comprehensive examination, the review aims to contribute to ongoing efforts to ensure the safety and integrity of the global food supply chain in the face of mycotoxin contamination.

Key-words: Mycotoxins, food, sample preparation, analytical techniques, detection technologies, risk assessment.

ملخص

تستكشف هذه المراجعة التطورات الأخيرة في تحليل السموم الفطرية، مع التركيز الخاص على الابتكارات في تحضير عينات الطعام. السموم الفطرية، التي تنتجها الفطريات، تشكل تهديدات كبيرة لسلامة الغذاء وصحة الإنسان. تم تحقيق تقدم كبير في تحسين التقنيات التحليلية، بما في ذلك الكروماتوغرافيا، والطيفية، والاختبارات المناعية، وغيرها. ساهمت التحسينات في طرق استخراج العينات والتقدمات في تقنيات الكشف، مثل مطياف الكتلة، ومكتشفات الفلورسنس، وأجهزة الاستشعار الكهروكيميائية، في تعزيز الدقة والحساسية والكفاءة في تحليل السموم الفطرية. تقيم المراجعة هذه التطورات بشكل نقدي، مع مراعاة تأثيرها على الأطر التنظيمية التي تحكم سلامة الغذاء وتأثيرها على استراتيجيات تقييم وتخفيف المخاطر. من خلال توفير نظرة عامة مفصلة على التقدمات الأخيرة في تحليل السموم الفطرية، تهدف المراجعة إلى تجهيز الباحثين والمنظمات التنظيمية والأطراف المعنية بفهم أحدث للحالة الحالية للمجال مع تحديد طرق للبحث المستقبلي. من خلال فحصها الشامل، تهدف المراجعة إلى المساهمة في الجهود المستمرة لضمان سلامة ونزاهة سلسلة التوريد الغذائي العالمية في مواجهة تلوث السموم الفطرية .

الكلمات الرئيسية: السموم الفطرية، الغذاء، تحضير العينات، التقنيات التحليلية، تقنيات الكشف، تقييم المخاطر.

Remerciements

Dédicace

Résumé

Abstract

ملخص

Listes des abréviations

Listes des tableaux

Listes des figures

Introduction1

Synthèse bibliographique4

I. Généralités sur les mycotoxines5

I.1. Les différents types de mycotoxines5

I.2 Biosynthèse des mycotoxines.....8

I.3 Impact des Mycotoxines sur la santé humaine et les animaux d'élevage.....9

I.4 Impacts économiques des mycotoxines11

I.5 Régulation et législation sur les mycotoxines12

II. Techniques de préparation des échantillons15

II.1 Méthodes traditionnelles utilisées.....16

II.2 Approches basées sur extraction en phase solide.....17

II.2.1 Extraction en phase solide 17

II.2.1.1 Évolution des matériaux dans les colonnes SPE 18

II.2.2 Extraction en phase solide magnétique 20

II.2.3 Extraction en phase solide- microextraction..... 20

II.2.4 Extraction en phase solide microdispersive 21

II.2.5 Extraction de la phase solide- micro 22

II.3 Perspectives basées sur de l'extraction liquide-liquide.....22

II.3.1 Utilisation de l'extraction liquide-liquide assistée de la saleté (SALLE). 22

II.3.2 Microextraction liquide à une seule goutte 23

II.3.3 Utilisation de la microextraction dispersive liquide-liquide (DLLME)... 23

II.4 Extraction des échantillons par une procédure QuEChERS.....24

II.5 Dispersion de la phase solide dans la matrice25

II.6	Comparaison des diverses techniques de prétraitement des échantillons	26
II.7	Autres méthodes.....	28
III	Analyse et détection des principales mycotoxines dans les aliments	28
III.1	Techniques analytiques pour l'analyse et la détection des mycotoxines.....	29
III.2	Méthodes de diagnostic rapide pour la détection des mycotoxines	36
III.2.1	Méthodes basées sur les immunoessais.....	36
III.2.2	Biocapteurs pour la détection des mycotoxines.....	37
III.2.2.1	Biocapteurs électrochimiques pour la détection des mycotoxines	41
III.2.2.2	Biocapteurs optiques pour la détection des mycotoxines.....	43
III.2.2.3	Biocapteurs piézoélectriques pour la détection des mycotoxines.....	43
III.3	Technologies émergentes dans l'analyse et la détection des mycotoxines.....	44
III.3.1	Méthodes protéomiques et génomiques.....	44
III.3.2	Techniques moléculaires	45
III.3.3	Nez électronique.....	45
III.3.4	Emission induite par l'agrégation	46
III.3.5	Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire.....	46
III.3.6	Imagerie hyperspectrale.....	47
	Conclusion et perspectives.....	49
	Références	51

AC : Carbone actif.

ACN : Acétonitrile.

ACNP : nanoparticules de carbone amorphe.

AF : Aflatoxine.

AIE : Emission induite par l'agrégation.

AME : Ether monométhyle d'alternariol.

AOH : Alternariol.

CCM : Chromatographie sur couche mince.

CE : Commission européenne.

CLHP : Chromatographie liquide à haute performance.

CPG : chromatographie en phase gazeuse.

DAD : détection à barrette de diodes.

DLLME : microextraction dispersive liquide-liquide.

DON : déoxynivalénol.

EIS : technique de spectroscopie d'impédance électrochimique.

ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay.

FB1/2/3: Fumonisine B1/B2/B3.

FDA: Food and drug administration.

FISH: Hybridation fluorescente in situ.

FLD : Détection de fluorescence.

FLD : Fluorescence.

Fus : les fumonisines.

GNP : Nanoparticules d'or.

HSI : Imagerie hyperspectrale.

IAC : Colonnes d'immuno- affinité.

Ils : Liquides ioniques.

LAMP : Amplification isotherme en boucle.

LOD : Seuil de détection.

LOD : Limite de détection.

LOQ : Seuil de quantification.

LPME : Microextraction en phase liquide.

MAbs : Anticorps monoclonaux.

MAE : Eextraction par microondes.

M-CNTs : Nanotube de carbone magnétiques.

MIP : polymères à empreinte moléculaire.

MS : Spectrométrie de masse.

NRPS : Nonribosomal peptide synthase.

OT : Ochratoxines.

PCR : Polymérase chaîne réaction.

PHWE : Extraction eau chaude sous pression.

PKS : Polycétide synthase.

PLE : Extraction par liquide sous pression.

QuEChERS: Quick, Easy, Cheap, Rugged and Effective Safe.

RMN : Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire.

RT-PCR : PCR de transcription inverse.

SALLE : extraction liquide assisté de la saleté.

SDME : Microextraction à une seule goutte.

SLE : Extraction en phase solide-liquide.

SPE : Extraction en phase solide.

SPME : Microextraction en phase solide.

SWE : Extraction d'eau sous critique.

T-2 : Toxine T-2.

T-RFLP : Restriction terminale.

UAATPE : Extraction aqueuse biphasée assisté par ultrasons.

UA-DLLME : Microextraction dispersive liquide-liquide assisté par ultrasons.

VA-DLLME : Microextraction dispersive liquide-liquide assisté par vortex.

ZEA : Zéaralénone.

Tableau I : Principaux types de mycotoxines, espèces fongiques, aliments contaminés.....	7
Tableau II: Effets des mycotoxines sur la santé humaine.....	11
Tableau III : Niveaux maximums ($\mu\text{g/kg}$) de mycotoxines dans divers aliments humains dans certains pays d'Afrique du Nord.....	14
Tableau IV : Les avantages et les inconvénients des différentes méthodes d'extraction	27
Tableau V : Méthodes de chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC/MS-MS) pour l'analyse des mycotoxines dans les aliments.	33
Tableau VI : Utilisation de biocapteurs pour la détection des mycotoxines.....	39

Figure 1 :Les structures de mycotoxines les plus courantes.	7
Figure 2 :Voies de biosynthèse des mycotoxines.....	8
Figure 3 : Représentation schématique de plusieurs méthodes de détection de mycotoxines .	29

Introduction

Ces dernières années, une prise de conscience accrue des effets néfastes des mycotoxines sur la sécurité alimentaire et la santé publique a incité à une attention et à une action renforcée pour améliorer les méthodes de détection et de mesure. Les mycotoxines sont des composés nocifs ayant la capacité de contaminer divers produits agricoles tels que les céréales, les noix, les fruits et les aliments pour animaux, ce qui présente des défis significatifs pour toutes les parties prenantes impliquées dans la production alimentaire, la réglementation et la consommation (**Eskola *et al.*, 2020 ; Belasli *et al.*, 2023 ; Ben Miri *et al.*, 2024**).

La nature omniprésente des mycotoxines signifie qu'elles peuvent infiltrer les denrées alimentaires à n'importe quelle étape de la production, de la culture au stockage et à la transformation. Leur présence dans les aliments et les aliments pour animaux pose des risques multifacettes pour la santé humaine et animale, allant des effets toxiques aigus aux problèmes de santé chroniques (**Kizis *et al.*, 2021**). La consommation d'aliments contaminés par des mycotoxines peut entraîner une gamme de conséquences néfastes pour la santé, notamment des troubles gastro-intestinaux, une suppression du système immunitaire, des lésions neurologiques et même le cancer (**Agriopoulou *et al.*, 2020**). De plus, la contamination par les mycotoxines compromet non seulement la santé humaine, mais impose également des charges économiques aux producteurs et distributeurs alimentaires, car les lots contaminés doivent souvent être jetés ou rappelés, entraînant des pertes financières et des dommages à la réputation de la marque (**Oswald & Massin, 2020 ; Modrzewska *et al.*, 2022**).

Face aux conséquences étendues de la contamination par les mycotoxines, il y a eu une recrudescence des efforts pour faire progresser les techniques analytiques de détection et de quantification de ces toxines. Les besoins actuels en matière de détection des mycotoxines sont motivés par la découverte régulière de mycotoxines émergentes aux profils de toxicité incomplètement caractérisés, ainsi que par la présence de composés modifiés par les processus métaboliques des plantes ou des denrées alimentaires, agissant parfois comme des mycotoxines masquées. Ces défis sont exacerbés par la co-occurrence de multiples mycotoxines et la complexité des matrices alimentaires, entraînant des difficultés dans leur extraction (**Wang *et al.*, 2022**).

Les approches analytiques actuelles, notamment chromatographiques et immunologiques, offrent une haute spécificité et sensibilité, allant des tests rapides aux dosages quantitatifs. Les méthodes chromatographiques incluent la liquide haute performance

(HPLC), ainsi que la spectrométrie de masse, permettant la détection simultanée de multiples mycotoxines dans diverses matrices alimentaires (**Gupta et al., 2022 ; Li et al., 2022 ; Abreu et al., 2023 ; Badji et al., 2023**). Les méthodes immuno-chimiques, telles que l'ELISA et les tests immunochromatographiques, offrent des solutions portables et rapides. De plus, des approches novatrices telles que la spectroscopie NIR et Raman élargissent les possibilités de détection. Les méthodes moléculaires, telles que la PCR en temps réel et le séquençage de métabarcodes, permettent la détection précoce des moisissures productrices de toxines, contribuant ainsi à prévenir la contamination des denrées alimentaires (**Huang et al., 2021 ; Mayo et al., 2020 ; Cordeiro et al., 2021 ; Heuer et al., 2021**). Par ailleurs, la nanotechnologie a ouvert de nouvelles perspectives dans l'analyse des mycotoxines. Des nanoparticules fonctionnalisées peuvent être utilisées pour capturer sélectivement les mycotoxines dans les échantillons alimentaires, offrant ainsi une sensibilité élevée et une sélectivité améliorée. De plus, les nanomatériaux peuvent être intégrés dans des dispositifs de détection miniaturisés, permettant une analyse rapide et portable des contaminants alimentaires (**Shahdeo et al., 2022 ; Guan et al., 2023 ; Hu et al., 2023**).

Cette revue exhaustive vise à explorer en détail les récents progrès dans l'analyse des mycotoxines, en mettant particulièrement l'accent sur les innovations dans la préparation des échantillons alimentaires. En se concentrant sur cette période critique, une vue d'ensemble détaillée des dernières méthodologies, technologies et tendances façonnant le paysage de l'analyse des mycotoxines peut être fournie. Cette approche ciblée permet une compréhension complète des techniques de pointe et de leurs applications dans la résolution des défis posés par la contamination par les mycotoxines dans les aliments et les aliments pour animaux.

La compréhension de ces développements récents est d'une importance capitale pour diverses parties prenantes, notamment les chercheurs, les professionnels de la sécurité alimentaire et les organismes de réglementation. L'amélioration continue des méthodes de détection des mycotoxines est essentielle pour renforcer la précision, la sensibilité et l'efficacité des analyses, permettant ainsi des stratégies de gestion des risques plus efficaces et la protection de la santé publique. En explorant les avancées réalisées dans l'analyse des mycotoxines au cours de cette période, les parties prenantes peuvent acquérir les connaissances et les informations nécessaires pour rester informées des tendances et des technologies émergentes dans le domaine.

Synthèse bibliographique

I. Généralités sur les mycotoxines

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires ubiquitaires contaminant les denrées alimentaires destinées à la consommation humaine et animale. Elles sont produites par des moisissures potentiellement toxigènes appartenant, essentiellement, aux genres *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Claviceps* et *Alternaria* spp., infectant une large variété de denrées alimentaires avant, après la récolte et au cours du stockage (Santos *et al.*, 2022). Elles contaminent de nombreux produits agricoles dont les céréales, les fruits secs, les épices, les grains de café, les fruits, les légumes et les graines (Holanda *et al.*, 2021 ; Bouelet Ntsama *et al.*, 2023 ; Hao *et al.*, 2023 ; Salvatore *et al.*, 2023). Les mycotoxines sont des molécules de faible poids moléculaire (PM <1000 Daltons) de structures chimiques très diverses selon leurs voies de biosynthèse (Ali *et al.*, 2023 ; Ben Miri *et al.*, 2024). Il s'agit de composés dérivés des acides aminés, d'autres des polycétoacides et d'autres sont des dérivés terpéniques (Zebiri *et al.*, 2020). Par ailleurs, il convient de préciser que plusieurs facteurs d'ordre biologique, physique et chimique conditionnent la mycotoxinogénèse (Lopes *et al.*, 2023). La nature et la quantité des mycotoxines produites dépendent des espèces fongiques, des conditions écologiques et de la stabilité de ces toxines dans les milieux alimentaires (Mastanjević *et al.*, 2023). En effet, les moisissures et mycotoxines se développent dans certaines conditions particulières de température, d'humidité et de teneur de l'air en gaz. Ces conditions sont propres à chaque espèce et varient d'une toxine à l'autre (Gökmen Ülger *et al.*, 2020 ; Li *et al.*, 2021). Les mycotoxines sont les contaminants naturels les plus fréquemment retrouvés dans l'alimentation. Ces toxines sont très résistantes aux différents procédés de fabrication et de transformation des aliments (Delphine *et al.*, 2021).

I.1. Les différents types de mycotoxines

Les aflatoxines, produites principalement par *A. flavus* et *A. parasiticus*, sont des métabolites secondaires hypertoxiques que l'on trouve généralement dans les céréales, le lait, les fruits à coque et les graines oléagineuses (Ndiaye *et al.*, 2022 ; Sohrabi *et al.*, 2022). Les aflatoxines sont légèrement solubles dans l'eau, insolubles dans les solvants non polaires, solubles dans les solvants organiques à forte polarité tels que le chloroforme et le chlorure de sodium. Les ochratoxines sont produites par les *Penicillium* et *Aspergillus*, présentes dans des produits tels que les céréales, le café, le cacao, les épices, la bière, le vin, les fruits secs et les aliments pour animaux (Janik *et al.*, 20020) et comptent plus de 10 dérivés. L'ochratoxine A (OTA) est la mycotoxine la plus courante et la plus toxique. La **tableau 1** fournit un aperçu

des principaux types de mycotoxines, espèces fongiques, aliments contaminés. L'OTA est au moins dix fois plus toxique que OTB, OTC ou la citrine, et a été identifiée par le CIRC comme un cancérigène possible pour l'homme dans le groupe 2B. La patuline est une mycotoxine produite principalement par *Aspergillus* et *Penicillium*, présente dans des fruits tels que les raisins, les poires et les pêches, en particulier les pommes. Elle est classée dans le groupe 3 selon la classification des risques cancérigènes du CIRC. La patuline est hautement toxique pour le foie, les reins, le tractus gastro-intestinal et le système immunitaire. Les fumonisines (fumonisine B1 (FB1), fumonisine B2 (FB2) et fumonisine B3 (FB3)) sont des métabolites secondaires cancérigènes et génotoxiques présents dans les aliments à base de maïs dans le monde entier, produits par *Fusarium verticillioides* et *F. proliferatum* (**Bian et al., 2023**). Parmi ces espèces, le zéaralénone (ZEA), un acide lactone macrocyclique résorcyclique, est une mycotoxine œstrogène non stéroïdienne produite par les *Fusarium*. L'Union européenne a déclaré que la teneur maximale en ZEA pour les grains non transformés devrait être de 100 µg/kg (**CE, 2007**). Le ZEA est présent dans l'orge, le riz. Les trichothécènes (C-4, C-15) sont divisés en trichothécènes macrocycliques et non macrocycliques et sont généralement présents dans l'orge, le blé, le seigle, le maïs et l'avoine. **Tableau (I).** Plus de 180 trichothécènes mycotoxines ont été identifiées au cours des 40 dernières années, et son groupe époxy (C-12, C-13) est considéré comme responsable des effets toxiques. Les signes cliniques de l'exposition aux trichothécènes sont : vomissements, perte de poids, immunomodulation, coagulopathie (**Gökmen Ülger et al., 2020**). La **Figure 1** fournit quelques exemples des structures de mycotoxines.

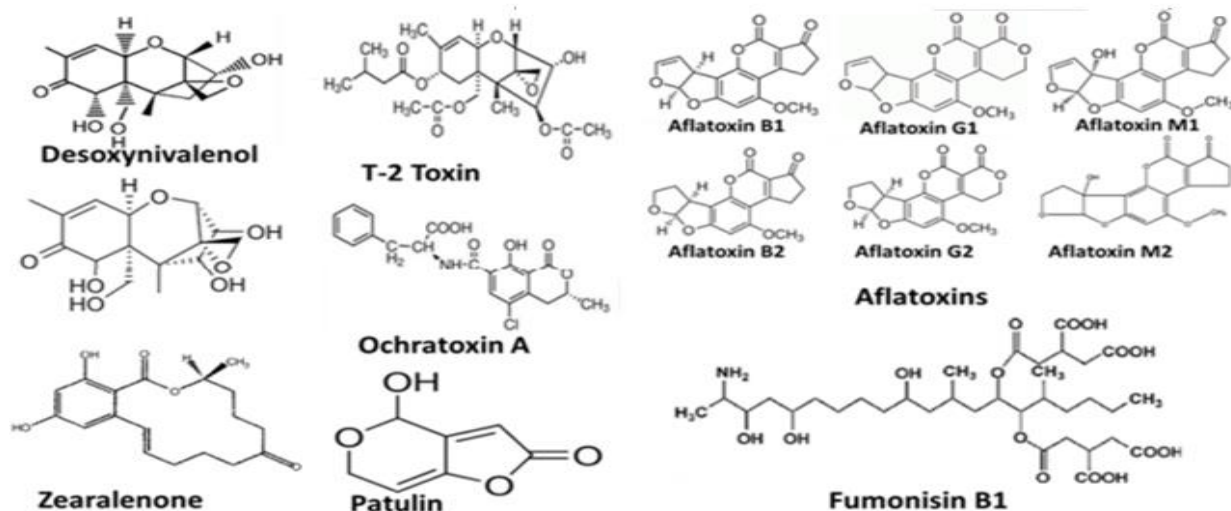


Figure 1 .Les structures de mycotoxines les plus courantes (Ndiaye *et al.*, 2022).

Tableau I. Principaux types de mycotoxines, espèces fongiques, aliments contaminés (Ben Miri *et al.*, 2024).

Mycotoxines	Espèces fongiques	Aliments contaminés
AFs	<i>A. flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> , <i>A. No-mius</i> , Penicilium.	Céréales, fruits, fruits secs, lait.
Trichothécènes (DON, T2, HT2...)	<i>F. graminarum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. sporotrichioides</i>	Céréales et légumineuses.
OTA	<i>A. ochraceus</i> , <i>P. nordicum</i> , <i>P. verrucosum</i> , <i>A. carbonarius</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. Alliaceus</i> , <i>A. terreus</i>	Vin, raisins, café, cacao, céréales.
FB	<i>F. moniliforme</i> , <i>F. verticillioides</i> , <i>F. Proliferatum</i> .	Céréales (maïs).
Patuline	<i>A. cyclopium</i> , <i>P. expansum</i> , <i>P. granulatum</i> , <i>Paecilomyces variorti</i> .	Céréales et fruits.
ZEA	<i>F. graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. semitectum</i> .	Céréales.

I.2 Biosynthèse des mycotoxines

La biosynthèse des mycotoxines est un processus complexe impliquant différentes voies métaboliques et enzymes spécifiques, conduisant à la diversité structurale de ces toxines (Cighir *et al.*, 2023). Elles sont dérivées de précurseurs du métabolisme primaire, tels que l'acétyl-CoA, les acides aminés et les terpènes, et leur production est catalysée par des enzymes telles que la polycétide synthase (PKS), la nonribosomal peptide synthase (NRPS) et la diterpènes cyase (TC) (Modrzeska *et al.*, 2022). Les gènes codant pour ces enzymes sont regroupés en clusters dans le génome fongique, cependant, la présence d'un cluster ne garantit pas toujours la capacité d'un champignon à synthétiser une mycotoxine spécifique. De plus, la production de mycotoxines est influencée par des facteurs environnementaux externes tels que le pH, la température et la nature du substrat, ainsi que par des facteurs agronomiques et de récolte (Li *et al.*, 2021). La distribution géographique des principales mycotoxines varie selon les régions du monde en raison des conditions climatiques et des pratiques agricoles spécifiques à chaque région (Baddi *et al.*, 2021 ; Leite *et al.*, 2021).

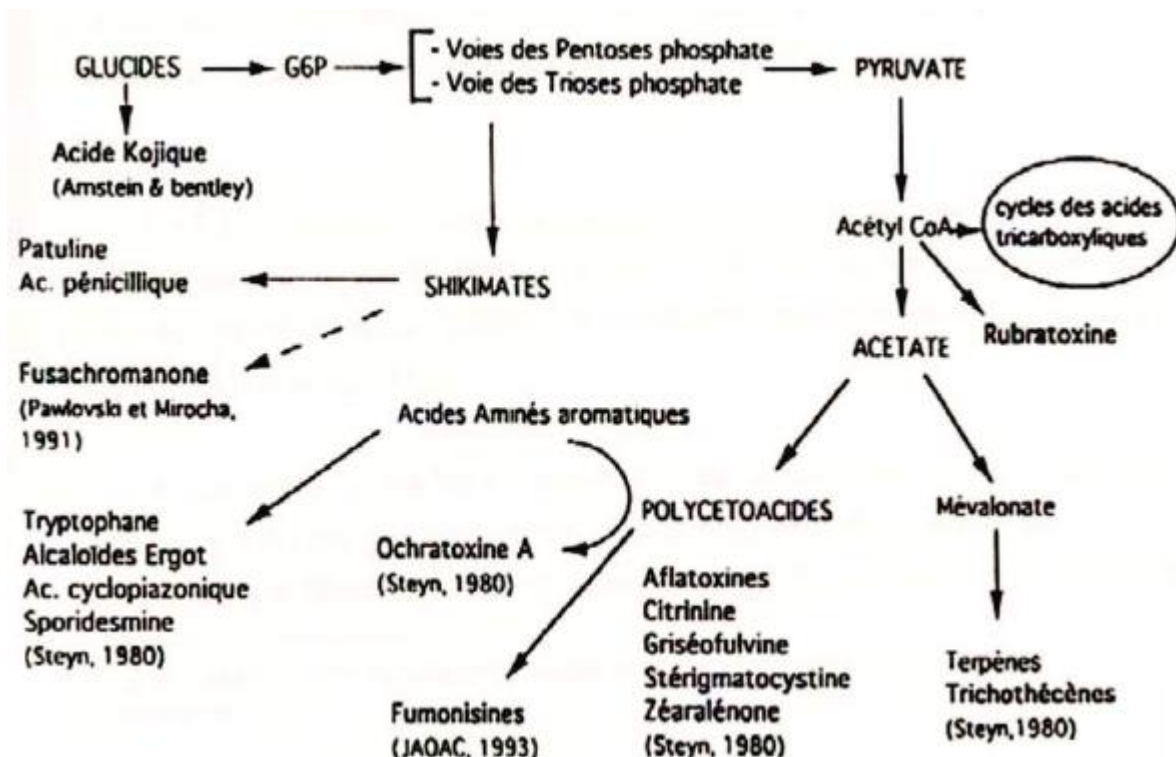


Figure 2. Voies de biosynthèse des mycotoxines (Ben Miri *et al.*, 2024).

I.3 Impact des Mycotoxines sur la santé humaine et les animaux d'élevage

L'impact aigu des mycotoxines sur la santé humaine est souvent observé sous forme d'épidémies, principalement causées par les aflatoxines. Les symptômes de l'aflatoxicose comprennent l'œdème, les convulsions, les vomissements et la jaunisse, pouvant entraîner une insuffisance hépatique et même la mort. Des épidémies d'aflatoxicose ont été signalées en Inde, au Kenya, en Tanzanie et ailleurs, résultant souvent en de nombreux décès (**Yu and Ramos Pedroso, 2023**). Les mycotoxines produites par *Fusarium*, telles que le DON et la toxine T-2, peuvent également causer des problèmes de santé graves, notamment des gastro-entérites, des irritations et des hémorragies. Les effets toxiques aigus des fumonisines, bien que moins graves, peuvent affecter plusieurs organes chez les animaux (**Chen et al., 2021 ; Dey et al., 2022 Ekwomadu et al., 2022**). En revanche, la zéaralénone présente une toxicité aiguë relativement faible. Les études sur l'ochratoxicose aiguë chez l'homme sont principalement basées sur des modèles animaux, montrant des effets toxiques significatifs, notamment chez les chiens et les porcs (**Dey et al., 2022 ; Papatsiros et al., 2023**).

L'impact chronique sur la santé des fumonisines est significatif. Structuellement, elles sont similaires aux sphingolipides, et la FB1 est neurotoxique, hépatotoxique et néphrotoxique chez les animaux. Bien qu'il y ait suffisamment de preuves de la cancérogénicité des fumonisines chez les animaux d'expérimentation, cette association n'est pas encore claire chez les humains (**Khoi et al., 2021**). Des études épidémiologiques en Asie et en Afrique du Sud ont révélé un lien entre les cancers de l'œsophage/du foie et l'exposition alimentaire aux fumonisines. Certaines études ont montré une teneur élevée en FB1 dans les régimes alimentaires de certaines régions, avec des associations possibles entre l'AFB1 et le cancer du foie, et entre la FB1 et le cancer de l'œsophage (**Claeys et al., 2020 ; Alvito et al., 2022**). Cependant, d'autres études sont nécessaires pour confirmer ces associations. Les trichothécènes, notamment le DON, le T-2 et le NIV, peuvent provoquer des effets toxiques graves chez l'homme, tels que des troubles gastro-intestinaux et une immunosuppression (**Janik et al., 2021 ; Chilaka et al., 2022 ; Pavlenko et al., 2024**). Enfin, la zéaralénone, un analogue de l'oestrogène, présente des effets néfastes sur le système reproducteur, y compris une réduction de la fertilité et des anomalies hormonales (**Ropejko et al., 2021**).

Les mycotoxines produisent une large gamme d'effets nocifs chez les animaux. L'impact économique des mycotoxines, dû à la réduction de la productivité animale, à l'augmentation de l'incidence des maladies (en raison de l'immunosuppression et des lésions

des organes importants) et à la diminution de la capacité de reproduction, est bien plus élevé que l'impact sur la mortalité animale. Les mycotoxines compromettent les fonctions de différents organes et tissus à des concentrations plus faibles, notamment le système digestif, les tissus rénaux ou hépatiques, ainsi que les systèmes neurologiques, reproducteurs et immunitaires (**Fang et al., 2022**). Étant donné la grande variété d'aliments pour animaux utilisés et les variations entre et au sein des animaux, la gravité de la mycotoxicose alimentaire diffère selon de nombreuses espèces animales. Par exemple, les monogastriques sont sensibles aux trichothécènes, tandis que les volailles et les ruminants semblent moins sensibles à certains trichothécènes (**Polak-Śliwińska et al., 2021**). Les volailles sont également affectées de manière défavorable par à la fois la T-2 et le DON mais sont très résistantes aux effets œstrogéniques du ZEA (**Zhai et al., 2021**). Bien que les symptômes des aflatoxicoses varient selon l'espèce animale, certains symptômes sont communs à tous les animaux. L'aflatoxine peut causer des lésions hépatiques, une diminution des performances reproductrices, une réduction de la production de lait ou d'œufs, la mort embryonnaire, la tératogénicité (anomalies congénitales), des tumeurs et une suppression de la fonction du système immunitaire, même à de faibles doses orales. Les animaux non sevrés peuvent être affectés par l'exposition à l'AFM1 et à d'autres métabolites d'aflatoxine sécrétés dans le lait, tandis que les jeunes animaux au moment du sevrage sont les plus sensibles aux effets de l'aflatoxine, bien que tous les âges soient affectés. Les signes cliniques incluent des dysfonctionnements gastro-intestinaux, une réduction de la productivité, une diminution de l'utilisation et de l'efficacité des aliments, une anémie et un ictère (**Gallo et al., 2022 ; Popescu et al., 2022**). L'OTA s'est avérée tératogène dans plusieurs modèles animaux, y compris chez les rats, les souris, les hamsters, les cailles et les poussins, avec une diminution du poids à la naissance et des anomalies craniofaciales étant les signes les plus courants. **Tableau (II)**. La présence d'OTA entraîne également des défauts congénitaux chez le fœtus (**Tamilmani et al., 2020**).

Tableau II : Effets des mycotoxines sur la santé humaine (Ben Miri *et al.*, 2024).

Mycotoxines	Effets toxiques
AFs	Cancérogénicité, hépatotoxicité, tératogénicité, suppression du système immunitaire, altération de la structure de l'ADN, hépatite, hémorragie, lésions rénales.
Trichothécènes (DON, T2, HT2...)	Induction de l'apoptose dans les progéniteurs, tissu hématopoïétique et cellules immunitaires, impact sur la synthèse des protéines, altération des immunoglobulines.
OTA	Dommages aux reins et au foie, perte d'appétit, nausées et vomissements, suppression du système immunitaire, cancérigène.
FB	Cancérogène, neurogène, dommages au foie.
Patuline	Hémorragie cérébrale, troubles neuronaux, lésions cutanées, cancer de la peau, pulmonaire, mutagénicité, impact antibactérien.
ZEA	Cancérogène, déséquilibre hormonal, effet œstrogénique, problèmes de reproduction, tératogénicité.

I.4 Impacts économiques des mycotoxines

Les pertes économiques attribuées aux mycotoxines sont multifactorielles et peuvent avoir un impact significatif à différents niveaux de la chaîne alimentaire. Tout d'abord, les coûts associés au traitement des animaux malades représentent une part importante des pertes économiques. Les animaux contaminés par des mycotoxines peuvent développer diverses maladies, ce qui nécessite des soins vétérinaires coûteux et peut entraîner une diminution de la productivité et de la qualité des produits dérivés, tels que le lait et la viande. De plus, les pertes de production animale sont un autre aspect crucial des pertes économiques liées aux mycotoxines. L'exposition des animaux aux mycotoxines peut entraîner une diminution de leur croissance, une réduction de leur taux de reproduction et une augmentation de la mortalité, ce qui se traduit par une baisse de la production agricole et des revenus pour les agriculteurs.

Les coûts de décontamination des aliments constituent également une part importante des pertes économiques. Les aliments contaminés par des mycotoxines doivent

être éliminés ou traités pour éliminer les toxines, ce qui nécessite des investissements importants en termes de technologie et de ressources. De plus, la décontamination des aliments peut affecter leur qualité et leur valeur marchande, entraînant des pertes économiques supplémentaires pour les producteurs et les distributeurs **(Houissa, 2021)**.

En outre, les pertes de marché dues à des restrictions à l'exportation représentent une préoccupation majeure pour les économies nationales. Les réglementations internationales de plus en plus strictes en matière de sécurité alimentaire imposent des limites strictes aux niveaux de mycotoxines autorisés dans les aliments exportés. Les pays qui ne parviennent pas à respecter ces normes risquent de perdre l'accès aux marchés internationaux, ce qui peut avoir des répercussions économiques importantes sur leurs industries agricoles et alimentaires **(Baddi et al., 2021)**.

Les pays en développement sont particulièrement vulnérables aux effets économiques des mycotoxines, car ils dépendent souvent fortement de l'agriculture pour leur subsistance et leur économie. De plus, les agriculteurs et les consommateurs dans ces régions sont souvent confrontés directement aux effets néfastes des mycotoxines, ce qui peut entraîner des pertes économiques et des problèmes de santé généralisés **(Chelaghema, 2022)**.

Pour lutter contre les mycotoxines et atténuer leurs effets économiques, il est essentiel de mettre en œuvre des stratégies de prévention et de contrôle efficaces. Cela comprend la mise en place de bonnes pratiques agricoles pour minimiser la contamination des cultures par les moisissures, le développement de méthodes de décontamination des aliments sûres et rentables, et la mise en œuvre de systèmes de surveillance régulière pour détecter et prévenir la présence de mycotoxines dans les produits alimentaires. Ces efforts nécessitent une collaboration entre les gouvernements, les industries alimentaires, les chercheurs et les organisations internationales pour garantir la sécurité alimentaire et réduire les pertes économiques associées aux mycotoxines **(Badji et al., 2023 ; Belfar et al., 2023)**.

I.5 Régulation et législation sur les mycotoxines

Les États-Unis, la Commission européenne et de nombreux autres pays ont établi des niveaux maximaux de résidus (LMR) pour l'AFB1, l'OTA, les FBs, la ZEA, le DON (groupe 3) et les trichothécènes (T-2, HT-2) dans différents produits alimentaires. En ce qui concerne les AF, la limite est fixée dans la plage de 2 à 4 µg/kg dans les céréales, les produits

séchés et les arachides (**Commission européenne (CE), 2010**). Pour les FBs et l'OTA, la limite a été fixée à 200 à 1 000 µg/kg dans les céréales et les produits à base de céréales, et à 2 à 10 µg/kg dans les céréales, le vin, le café, le fromage et le cacao, respectivement. Les limites de la ZEA vont de 20 à 100 µg/kg dans les céréales et les produits céréaliers. Pour le DON et la PAT, les limites réglementaires sont de 200 à 500 µg/kg dans les céréales et les produits céréaliers et de 10 à 50 µg/kg dans les pommes et les concentrés de pommes, respectivement. La Food and Drug Administration (FDA) a établi des directives réglementaires pour les principales mycotoxines dans les aliments et les aliments pour animaux. Les États-Unis ont fixé des LMR à 20 µg/kg pour les AF dans différents produits alimentaires tels que le maïs, le blé, le riz et les arachides, à 0,5 µg/kg pour l'AFM1 dans le lait et les produits laitiers, à 2 000 à 4 000 µg/kg pour les FBs dans le maïs et les produits à base de maïs, à 1 000 µg/kg pour le DON dans les céréales et les produits céréaliers, et à 50 µg/kg pour la PAT dans les pommes et les jus de pomme (FDA, 2002). En raison de l'occurrence fréquente de mycotoxines réglementées (AFs, ZEA, DON, FBs, OTA), leur nature toxique pose un risque pour la santé humaine et animale, ce qui nécessite une solution pour la protection de la faune. Bien que certaines toxines n'aient pas été réglementées telles que les alternarias, les sporidesmins, les mycotoxines d'endophytes, la stérigmatocystine et les phomposines (**Woudenberg et al., 2013 ; Rodríguez-Carrasco et al., 2014., Nieto et al., 2018**).

En Afrique, quinze pays ont des réglementations spécifiques sur les mycotoxines, la plupart concernant les aflatoxines (**Ben Miri et al., 2023**). Le **Tableau (II)** montre les limites pour les mycotoxines dans les aliments et les matières premières dans quelques pays d'Afrique du Nord. **Tableau (III)**. De nombreux pays (environ 100) ont adopté des réglementations concernant les niveaux de toxines fongiques dans les aliments et les aliments pour animaux (Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture).

Tableau III : Niveaux maximums ($\mu\text{g/kg}$) de mycotoxines dans divers aliments humains dans certains pays d'Afrique du Nord (Zebiri, 2020).

Mycotoxines	Produits alimentaires	Maroc	Tunisie	Algérie	Égypte
AFB1	Farine de blé	3	2	10	5
	Céréales	10		20	10
	Maïs, arachides, pistaches, noix et amandes, graines oléagineuses	1		10	
AFB1, B2, G1 et G2	Céréales sauf maïs		10		
	Maïs		20		
	Arachides et graines oléagineuses		10		
AFM1	Lait pour adultes	0.05			0.5
	Lait pour enfants	0.03			
OTA	Céréales		30		
	Café		5		
Zéaralénone	Céréales		200		1000
Désoxynivalénol	Blé et farine de blé			700	1000
	Orge et farine d'orge			1000	

Pour mieux comprendre l'effet global de la contamination par les mycotoxines, des méthodes précises, plus rapides et hautement sensibles sont essentielles pour l'identification et la détection routinières de ces composés. La nature diversifiée de la matrice, la cible, l'environnement, les exigences temporelles, les niveaux de détection et l'accessibilité de la technologie appropriée sont considérés comme des défis. Pour développer une méthode efficace, précise et sensible pour l'analyse des mycotoxines, une grande attention doit être accordée à l'effet de la matrice. L'effet de la matrice est l'effet combiné de tous les composants de l'échantillon autres que l'analyte d'intérêt sur la quantification. Si un élément particulier peut être défini comme ayant un effet, on l'appelle interférence. L'effet de la matrice peut se manifester par une perte ou une augmentation de la réponse et donc entraîner une sous-estimation ou une surestimation des mycotoxines. L'effet de la matrice affecte donc la précision, l'exactitude et la sensibilité de la méthode analytique. Pour l'analyse des

mycotoxines, l'effet de la matrice est très important, car les mycotoxines elles-mêmes sont de différentes entités chimiques et présentes dans diverses matrices d'échantillons.

Ainsi, l'investigation et la détection de la contamination par les mycotoxines dans les aliments et les aliments pour animaux ont été au cœur des activités internationales et nationales au fil des ans. Pour une détermination précise et rapide de ces mycotoxines dans les céréales non transformées et les produits à base de céréales, des méthodes analytiques sensibles sont hautement pertinentes pour les implications toxicologiques pour les animaux et les humains, et hautement souhaitables afin de mesurer le risque d'exposition, et de confirmer les niveaux réglementaires fixés par les États-Unis, l'Union européenne ou différentes organisations internationales. L'analyse des mycotoxines nécessite généralement l'extraction de la toxine de la matrice avec un solvant d'extraction approprié, une procédure de nettoyage afin d'éliminer les éléments interférents de l'extrait, et enfin, la détermination/détection de la toxine par un instrument analytique approprié.

II. Techniques de préparation des échantillons

La détection des mycotoxines dans les échantillons de nourriture nécessite plusieurs étapes distinctes, telles que la collecte et la préparation des échantillons disponibles. L'extraction et le nettoyage constituent deux étapes cruciales qui ne peuvent être dissociées. En respectant correctement chacune de ces étapes, il est possible d'assurer une identification précise des mycotoxines (**Edyta Janik *et al.*, 2021**).

Au cours de l'analyse des échantillons, il est essentiel de procéder à un prétraitement, qui demande du temps et a un impact limité, ce qui affecte directement la précision, la reproductibilité et la limite de détection (LOD). Grâce à des méthodes appropriées de prétraitement des échantillons, il est possible d'éviter toute interférence potentielle dans la matrice, de détecter des traces de substances et de prolonger la durée de vie de l'instrument, tout en enrichissant l'analyte cible à partir de la matrice complexe, répondant ainsi aux exigences des méthodes de détection. Le développement des méthodes de prétraitement des échantillons est également influencé par l'émergence de nouvelles technologies et de nouveaux matériaux (**Huertas-Perez *et al.*, 2018 ; Jix *et al.*, 2023**).

II.1 Méthodes traditionnelles utilisées

L'extraction solide-liquide (ESL) est couramment utilisée pour extraire les mycotoxines des échantillons en raison de sa simplicité et de son absence d'exigence en instruments. Pour les substrats secs, l'hydratation est nécessaire pour assurer une extraction efficace des mycotoxines et faciliter les étapes de nettoyage ultérieures. Le choix du solvant est crucial et doit être adapté à la matrice de l'échantillon et aux mycotoxines ciblées. Pour améliorer l'efficacité de l'extraction, l'optimisation des types de solvants est nécessaire.

Huertas-Pérez *et al.* (2018) ont obtenu des résultats satisfaisants en utilisant 100 % d'acétonitrile (ACN) pour extraire les AFs du riz blanc (récupérations > 85 %, déviations relatives normales (DRN) < 5 %). Cependant, l'utilisation de 100 % d'ACN pour le riz brun a entraîné des récupérations inacceptables (44-80 %) des AF. Pour remédier à cela, le ratio de solvant d'extraction a été optimisé. Finalement, l'extraction des AF a été réalisée en ajoutant 100 % de solvant d'extraction en canne pour le riz blanc et ACN : H₂O (8 :2, v/v) pour les échantillons de riz brun, avec des récupérations entre 84,5 % et 105,3 % et des DRN inférieures à 6 %.

D'après **Pachol *et al.* (2017)**, une méthode d'extraction rapide a été développée pour étudier les enzymes AFB₁, B₂, G₁, G₂, FB₁ et ZEA dans le flocon de blé. Trois solvants d'extraction ont été testés, avec des récupérations élevées pour toutes les enzymes. La complexité de l'extraction de FB₁ a été attribuée à son poids moléculaire élevé et à ses multiples sites d'interaction. Le méthanol, plus polaire et acide que l'ACN, a permis des récupérations plus élevées lorsqu'il était utilisé en proportion plus élevée. Ainsi, le mélange MeOH/ACN/H₂O (60 :20 :20, v/v/v) a été retenu pour ses récupérations satisfaisantes (75,16 % à 97,66 %).

Cependant, les solvants organiques traditionnels tels que l'ACN et le MeOH présentent des risques pour la santé humaine et l'environnement. Avec l'avènement de la chimie verte, le solvant eutectique profond (SEF), un nouveau type de solvant vert et un substitut aux solvants organiques traditionnels, a suscité un vif intérêt. Les composants du SEF sont obtenus par l'interaction de deux ou plusieurs composés sûrs, abordables et biodégradables grâce à l'hydrogène. Ils présentent des caractéristiques favorables telles que leur non-toxicité, leur écocompatibilité et leur facilité de préparation. De plus, ils offrent une grande stabilité

thermique, une faible pression de vapeur et une adaptabilité, ce qui en fait des extracteurs écologiques et efficaces (**Tan et al., 2016**).

L'extraction par liquide sous pression (PLE) et son sous-ensemble, l'extraction d'eau sous-critique (SWE) ou extraction d'eau chaude sous pression (PHWE), sont des méthodes efficaces pour extraire les contaminants des échantillons alimentaires. Contrairement à la PLE qui utilise des solvants organiques sous pression, la SWE utilise de l'eau pure, offrant ainsi une méthode respectueuse de l'environnement et permettant un lavage sélectif de l'extract obtenu. Une étude de **Miró-Abella et al. (2018)** a démontré que la SWE avec un solvant d'eau contenant 1 % d'acide formique, suivie d'une purification par SPE, a permis d'obtenir des performances d'extraction satisfaisantes pour les trichothécènes dans divers types de céréales, de pseudo-céréales et de graines oléagineuses.

II.2 Approches basées sur extraction en phase solide

L'extraction en phase solide (SPE) permet de concentrer et de purifier les mycotoxines à partir de matrices complexes telles que les céréales, les fruits secs et les produits laitiers. Cette technique utilise des matériaux sorbants spécifiques qui ont une affinité sélective pour les mycotoxines, permettant ainsi leur isolation des composés interférents.

II.2.1 Extraction en phase solide

L'utilisation principale de l'extraction en phase solide (SPE) est de séparer, purifier et enrichir des composés cibles, visant principalement à réduire l'interférence de la matrice des échantillons et à améliorer la sensibilité de détection. Actuellement, c'est l'une des méthodes de prétraitement les plus populaires, offrant des avantages tels qu'une faible consommation de solvants, une préconcentration efficace et une récupération élevée. De plus, l'évolution des étapes stationnaires, des technologies de microextraction et des technologies en ligne ont ouvert de nouvelles possibilités pour la SPE.

Le processus traditionnel de la SPE comprend quatre étapes : (1) préconditionnement, (2) chargement de l'échantillon, (3) rinçage et (4) élution (**Yu et al., 2023**). L'adsorbant joue un rôle crucial dans la SPE, et selon la polarité des composés, les adsorbants commerciaux peuvent être classés en quatre catégories : (1) phase inversée pour les composés apolaires ou peu polaires comme C18 et C8, (2) phase positive pour les composés polaires comme CN, NH₂ et Florisil, (3) échangeurs d'ions comme SAX, PRS et PSA, et (4) adsorbants

supplémentaires comme Oasis HLB, les colonnes d'immuno-affinité (IAC) et PRiME (**Hu et al., 2022**). Les HLB commerciaux, SAX et IAC sont parmi les adsorbants les plus couramment utilisés pour extraire les mycotoxines (**Luo et al., 2022**).

Pendant le processus de nettoyage, l'optimisation de l'adsorbant est généralement nécessaire pour obtenir de meilleurs résultats. **Dong et al. (2019)** ont comparé les propriétés purifiantes de deux cartouches SPE et de trois adsorbants dans le processus de nettoyage QuEChERS de sept mycotoxines présentes dans les fruits et légumes. Les résultats ont montré que la méthode QuEChERS ne permettait pas d'éliminer efficacement les pigments et que les taux de récupération étaient très faibles avec divers adsorbants. Les cartouches HLB SPE ont donné les taux de récupération les plus élevés (85 % à 108 %), les rendant idéales pour la purification.

Gab-Allah et al. (2022) ont utilisé des colonnes d'immuno-affinité T2/HT2 (IAC) comme adsorbants SPE pour purifier les toxines T-2 et HT-2 dans les produits céréaliers. Après rinçage avec de l'eau pure, de l'éthanol a été appliqué sur l'IAC pour sélectionner les cibles. Les résultats ont montré des récupérations satisfaisantes de T2 et HT2 (78,6 % à 98,6 %) avec une précision intrajournalière et interjournalière inférieure à 7 %. De plus, la méthode a permis une excellente sélection, sans pics d'interférences matricielles sur toute la chromatographie. La colonne IAC peut également être combinée avec d'autres colonnes pour améliorer l'efficacité de purification et d'enrichissement. Dans une autre étude, **Ye et al. (2019)** ont combiné une colonne de purification multifonctionnelle (MFC) avec une colonne IAC pour purifier les aflatoxines AFB1, B2, G1 et G2 dans le thé noir. Cette méthode a considérablement réduit l'interférence de la matrice, avec des AA.

II.2.1.1 Évolution des matériaux dans les colonnes SPE

Les colonnes SPE, avec leur haute sélectivité en détection moléculaire, sont des outils essentiels dans la purification des échantillons alimentaires. Cependant, leur utilisation est parfois entravée par des limitations inhérentes aux colonnes IAC, telles que la sensibilité à la matrice de l'échantillon, le coût élevé et la difficulté d'obtention. Les polymères à empreinte moléculaire (MIP) se révèlent être une alternative prometteuse, offrant une stabilité accrue et un coût moindre. L'utilisation de MIP dans les colonnes SPE offre une sélectivité élevée et une réutilisabilité améliorée, comme le démontrent les travaux de **Lhotská et al. (2018)** et **Rico et al. (2018)**.

Les aptamères, sélectionnés pour leur forte affinité avec les cibles, représentent une autre avancée dans les adsorbants SPE. Les études de **Zhang et al. (2021)** montrent que l'utilisation d'aptamères modifiés comme monomères fonctionnels dans les colonnes SPE offre une spécificité et une reproductibilité élevées pour l'enrichissement des cibles ultra-traces.

Les nanomatériaux, tels que le graphène, sont également prometteurs dans les adsorbants SPE. Le graphène, avec sa grande surface spécifique et ses propriétés exceptionnelles, offre une alternative efficace pour l'adsorption des contaminants. Les recherches de **Soldano et al. (2010)** et **Stoller et al. (2008)** mettent en évidence le potentiel du graphène dans les colonnes SPE. En outre, les adsorbants SPE à base de silica liés, comme les colonnes HAS, offrent une sélectivité accrue pour l'extraction des mycotoxines dans les échantillons d'huile, comme le montrent les travaux de **Zhou et al. (2017)**. Enfin, l'utilisation des liquides ioniques (ILs) comme sorbants dans les colonnes SPE représente une avancée importante vers une chimie plus verte. Les ILs, en raison de leur stabilité thermique élevée et de leur efficacité d'extraction, offrent une alternative sûre et respectueuse de l'environnement pour l'isolement des contaminants dans les échantillons alimentaires, comme décrit par **Fang et al. (2018)**.

Ces avancées dans les adsorbants SPE ouvrent de nouvelles perspectives pour l'amélioration de la détection et de la purification des contaminants dans les échantillons alimentaires, contribuant ainsi à garantir la sécurité des produits alimentaires et la santé publique.

Une approche novatrice dans la technologie de la SPE consiste à adopter des méthodes en ligne. Plutôt que de manipuler manuellement les échantillons hors ligne, cette approche propose des programmes automatisés qui permettent une préparation rapide et précise des échantillons. La SPE en ligne réduit la procédure de prétraitement des échantillons, minimisant ainsi les erreurs expérimentales et la consommation d'agents organiques. Cette méthode, décrite par **Bian et al. (2023)**, offre une alternative efficace pour accélérer les analyses tout en maintenant une précision élevée.

II.2.2 Extraction en phase solide magnétique

L'extraction en phase solide magnétique (MSPE), avec une dispersion homogène de l'adsorbant magnétique dans la solution d'échantillon, permet une séparation rapide et un enrichissement de l'analyte cible grâce à une énergie magnétique externe. Contrairement à la SPE traditionnelle, la MSPE offre une solution efficace pour éviter les procédures laborieuses telles que le conditionnement de l'adsorbant et le déchargement des échantillons, ainsi que les problèmes potentiels de colmatage de la colonne. Cette technologie gagne en popularité ces dernières années, suscitant un intérêt croissant de la part des chercheurs.

L'adsorbant magnétique joue un rôle crucial dans la MSPE, influençant directement son efficacité et sa durée d'extraction. Ainsi, de nouveaux adsorbants magnétiques efficaces sont en cours de synthèse, comme les réseaux organiques covalents magnétiques (MCOFs) et les réseaux organiques métalliques magnétiques (MOFs). La magnétite (Fe_3O_4) est souvent utilisée pour conférer des propriétés magnétiques à ces composés.

Pour accélérer encore davantage le processus d'extraction et améliorer son efficacité, la MSPE est souvent combinée à d'autres technologies auxiliaires. **Wei et al. (2023)** ont développé une méthode de MSPE assistée par vortex pour extraire des mycotoxines dans le maïs. Cette approche a permis d'obtenir des récupérations satisfaisantes avec des temps d'adsorption et de désorption très courts.

Les nanotubes de carbone magnétiques (M-CNTs) sont également prometteurs en tant qu'adsorbants MSPE en raison de leurs propriétés uniques. **Han et al. (2017)** ont mis au point une méthode fiable utilisant des MWCNTs-nanoparticules magnétiques pour purifier et enrichir le ZEA et ses dérivés dans le maïs, obtenant ainsi des résultats significatifs en termes de réductions des MEs et des récupérations améliorées.

II.2.3 Extraction en phase solide- microextraction

L'extraction en phase solide – microextraction (SPEM), issue de SPE, offre une approche miniaturisée dans la chimie analytique contemporaine. Elle se distingue par sa simplicité d'utilisation, son transport aisé, ses coûts de fabrication bas et son évitement des problèmes de colmatage. Intégrant l'échantillonnage, l'extraction et la concentration, elle nécessite uniquement un dispositif semblable à une seringue pour le prétraitement complet. Bien que traditionnellement les revêtements en fibres les plus couramment utilisés présentent

des limitations en termes de sensibilité et de sélectivité, l'attention se porte désormais sur de nouveaux matériaux de fibres tels que les adsorbants à base de graphène et les ILs, ainsi que sur des méthodes d'extraction innovantes telles que le SPME en tubes (IT-SPME).

Cependant, le SPME traditionnel est confronté à des problèmes tels que la fragilité de la fibre et la dégradation du revêtement lors du recyclage, ce qui est résolu par l'IT-SPME. Cette dernière offre également des avantages tels que l'automatisation et le couplage en ligne avec la méthode de détection. Fondamentalement, le mécanisme de l'IT-SPME repose sur l'équilibre des cibles entre la phase stationnaire et la solution échantillon, soulignant l'importance du choix d'un adsorbant approprié pour le prétraitement des cibles (**Wu et al., 2018 ; Tsai et al., 2022**).

II.2.4 Extraction en phase solide microdispersive

La méthode de SPE est largement utilisée pour la préparation des échantillons, mais elle peut être chronophage, complexe et coûteuse en raison de ses multiples étapes. Pour répondre à ces défis, les chercheurs explorent des approches telles que l'extraction en phase solide microdispersive, qui s'alignent sur la tendance actuelle de miniaturisation et de simplification de la chimie analytique. Cette méthode ne nécessite que des micro- ou nano-adsorbants pour adsorber les analytes ciblés, ce qui la rend économique et respectueuse de l'environnement. **Mohebi et al. (2022)** ont utilisé un MOF à base de vitamines comme sorbant pour la D- μ -SPE afin d'extraire les AFs des échantillons de soja commercial, obtenant des résultats prometteurs avec une efficacité d'extraction élevée, une durée d'extraction courte. D'autre part, l'extraction assistée par micro-ondes (MAE) émerge comme une technologie écologique à fort potentiel. Cette méthode, rapide et efficace, utilise les micro-ondes pour chauffer rapidement le solvant, réduisant ainsi le temps d'extraction. Par exemple, le protocole d'extraction du MAE optimisé implique l'utilisation d'ACN comme solvant à une température de 60 °C pendant 5 minutes. Validée, cette méthode présente une bonne linéarité et une précision acceptable (**Kalogiouri, 2021**). Comparées à des méthodes traditionnelles comme Soxhlet, ces techniques d'extraction à haute énergie facilitent le transfert des aflatoxines des échantillons aux solvants d'extraction en appliquant une température et une pression élevées de manière contrôlée et efficace. Cependant, l'utilisation de ces technologies peut entraîner l'ajout de composants de matrice supplémentaires (**Kai Zhang et al., 2020**).

II.2.5 Extraction de la phase solide- micro

Au cours des dernières années, la microextraction a connu une croissance rapide afin de surmonter certaines contraintes des techniques traditionnelles qui utilisent de grandes quantités d'agents organiques et de matériaux complexes. La technologie SPME est facile, rapide et écologique. Cependant, il présente également quelques inconvénients, tels que la facilité de découpe de la fibre et la manière dont plusieurs utilisations peuvent manifester le phénomène de reprise. En vue de surmonter ces lacunes, une nouvelle technique d'extraction de la phase solide-micro (μ -SPE) a été développée. Une petite quantité d'adsorbent a été emballée dans différents formats, tels qu'une boîte de thé fermée, une seringue et une étiquette en polypropylène, dans le but de réduire la taille du prototype SPE. Cette procédure est facile et le temps de préparation de l'échantillon est court (**Chmangui et al., 2021**).

Jayasinghe et al. (2020) ont développé une méthode UAE-MIP- μ -SPE pour extraire les AF dans les aliments pour poissons. Les adsorbants MIP étaient protégés dans une membrane poreuse. Dans les conditions optimisées, des DRN inférieurs à 20 %, un FE de 33,3 et des récupérations analytiques comprises entre 80 et 100 % ont été obtenus. De plus, les appareils peuvent être réutilisés 20 fois (20 cycles de chargement/élution) sans perdre en précision, ce qui constitue un avantage pratique par rapport aux appareils disponibles dans le commerce. Cartouches SPE jetables.

II.3 Perspectives basées sur de l'extraction liquide-liquide

Les perspectives basées sur l'extraction liquide-liquide sont prometteuses, offrant un potentiel considérable pour répondre aux défis actuels en matière de séparation et de purification de composés chimiques, tout en ouvrant la voie à de nouvelles applications innovantes dans divers domaines industriels et scientifiques.

II.3.1 Utilisation de l'extraction liquide-liquide assistée de la saleté (SALLE)

La méthode de prétraitement actuellement utilisée est principalement la SPE, mais elle ne convient pas à la détection à haut débit en raison de son coût élevé et de son opération relativement complexe. L'utilisation de l'extraction liquide-liquide assistée de la saleté (SALLE) permet une séparation plus efficace du solvant d'extension du mélange en ajoutant des sels inorganiques adaptés au mélange d'échantillons aquatiques et de solvants organiques

qui peuvent être mélangés à l'eau. Cette méthode offre les avantages d'un fonctionnement facile, d'une consommation réduite de réactifs organiques et d'une extraction efficace.

Selon **Hamed et al. (2017)**, une méthode appelée SALLE a été mise au point afin d'extraire les toxines de *Fusarium* des laits végétaux fonctionnels sans nécessiter de nettoyage supplémentaire. La solution contenant l'échantillon et le phosphate de dihydrogène de potassium a été enrichie en ACN contenant 5% de FA, puis MgSO_4 , NaCl, citrate de sodium et citrate d'hydrogène de disodium ont été ajoutés afin de favoriser l'extraction de la cible. Dans les conditions optimales, les récupérations ont dépassé 80 % et la DRS (Détection et Récupération Systématique) n'a pas dépassé 12 %. Cela démontre l'efficacité et la simplicité de la stratégie SALLE pour le traitement des échantillons ne nécessitant pas de nettoyage supplémentaire.

II.3.2 Microextraction liquide à une seule goutte

La microextraction liquide à goutte unique (SD-LLLME) est une méthode de prétraitement des échantillons résiduels qui se distingue par sa simplicité, sa rapidité, son faible coût et son impact minimal sur l'environnement. Elle est largement utilisée pour extraire divers types d'échantillons. Dans ce processus, l'analyte est d'abord extrait de la phase aqueuse de l'échantillon dans la couche supérieure du solvant organique, puis réextrait dans les gouttelettes de phase d'accepteur suspendues dans la phase organique. Cette technique permet de séparer efficacement les substances très polaires, comme le sucre, conservées dans la phase aqueuse, des substances moins polaires, conservées dans la phase organique. Ainsi, elle permet de réduire considérablement les interférences de la matrice de l'échantillon, facilitant ainsi l'extraction, la purification et l'enrichissement des cibles. Par exemple, une méthode simple de SD-LLLME a été utilisée pour pré-traiter la patuline dans le jus de pomme, n'utilisant que 1,5 mL d'acétate d'éthyle et 20 minutes pour une seule extraction. Cette approche simplifiée évite les étapes complexes telles que l'extraction, la purification, l'évaporation et la redissolution, réduisant ainsi les perturbations de la matrice sucrée et permettant une extraction rapide, simple et respectueuse de l'environnement des cibles recherchées (**Bai et al., 2012 ; Li et al., 2018**).

II.3.3 Utilisation de la microextraction dispersive liquide-liquide (DLLME)

Au cours des dernières années, la microextraction en phase liquide (LPME) est devenue populaire en raison de sa faible consommation de réactifs organiques et de son coefficient de

préconcentration élevé. Parmi les méthodes de prétraitement d'échantillons, la microextraction dispersive liquide-liquide (DLLME) est de plus en plus utilisée pour sa simplicité, sa rapidité, son faible coût et son efficacité élevée de récupération. Les systèmes DLLME sont composés de trois éléments : le solvant d'extraction, le solvant de dispersion et la solution d'enquête. Cette méthode permet une extraction rapide grâce à une zone de contact adéquate entre la cible et les gouttelettes fines, réduisant ainsi le temps d'analyse.

Salim et al. (2021) ont développé une technique de DLLME pour extraire des mycotoxines multiples des branches de riz, avec des récupérations allant de 70,2 à 99,4%. Pour optimiser l'extraction, des variantes telles que le DLLME assisté par l'air (AA-DLLME) (**Karami et al., 2018**), le DLLME assisté par ultrasons (UA-DLLME) (**Gursoy et al., 2022**) et le DLLME assisté au vortex (VA-DLLME) (**Somsusinsin et al., 2018**) ont été introduites. Par exemple, **Karami et al. (2018)** ont développé une méthode AA-DLLME pour purifier et enrichir les enzymes AFB1, B2, G1 et G2 à partir d'échantillons de riz, obtenant une récupération supérieure à 90%.

L'utilisation de la technologie d'impression à jet d'encre en combinaison avec la DLLME permet une injection plus précise des échantillons, réduisant ainsi la consommation de réactifs organiques. **Sun et al. (2019)** ont développé une méthode DLLME à jet d'encre pour extraire les AFs du blé, obtenant des résultats satisfaisants avec une faible variabilité. De plus, l'utilisation de solvants d'extraction à faible toxicité ou non toxiques, tels que les IL (**Zhao et al., 2021**), les DES (**Gursoy et al., 2022**) et le solvant de faible densité (LDS) (**Somsusinsin et al., 2018**), permet une analyse plus respectueuse de l'environnement. Par exemple, VADLLME développé par Somsusinsin et al., (2018) utilise du LDS non toxique comme solvant d'extraction pour prévenir les AFB1, B2, G1 et G2 présents dans les échantillons de riz, offrant des performances comparables à celles de l'ACI mais avec une procédure plus rapide et économique.

II.4 Extraction des échantillons par une procédure QuEChERS

Actuellement, la méthode QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Rugged and Effective Safe) est largement préférée pour le nettoyage en raison de sa rapidité, de sa simplicité, de son coût abordable, de son efficacité, de sa robustesse et de sa sécurité, en plus de convenir à la détermination multi-analyte. Développée par **Anastassiades et al. (2003)** à l'origine pour extraire les résidus de pesticides des fruits et légumes, cette méthode combine deux aspects :

la distribution liquide-liquide, généralement avec de l'acétonitrile (ACN) pour extraire les cibles dans un environnement aquatique, suivi de l'ajout de sels comme le MgSO_4 et le NaCl pour séparer l'eau de la phase organique et la déshydrater, et une méthode d'extraction de phase solide dispersive (d-SPE) utilisant des agents comme l'amine secondaire primaire (PSA) ou le sorbant C18 pour purifier l'extrait. **He et al. (2017)** ont utilisé la méthode QuEChERS pour extraire le DON et le ZEA dans les céréales. Après optimisation, un mélange de méthanol et d'acétonitrile (MeOH/ACN) (8 :2, v/v) a été choisi comme solvant d'extraction, et une agitation vigoureuse a donné des récupérations supérieures par rapport à d'autres méthodes d'agitation. Le PSA a été sélectionné comme le meilleur sorbant, et une période de clarification de 60 secondes a été déterminée. Des récupérations satisfaisantes et des faibles coefficients de variation ont été obtenus dans les conditions optimisées. Cependant, la méthode traditionnelle QuEChERS utilisant le PSA ou le C18 peut s'avérer inefficace pour atténuer les interférences provenant des lipides dans les échantillons à forte teneur lipidique. Pour remédier à ce problème, des méthodes modifiées ont été développées. **Alcántara et al. (2017)** ont mis au point une méthode QuEChERS utilisant des lipides EMR comme adsorbant pour prétraiter différentes mycotoxines dans les noix comestibles. Comparé aux sorbants traditionnels, le lipide EMR a montré des interférences minimales et a donné des résultats satisfaisants pour l'extraction des mycotoxines.

II.5 Dispersion de la phase solide dans la matrice

Le Prétraitement par dispersion de phase solide (MSPD) implique le mélange homogène d'une petite quantité d'échantillon avec un support solide, suivi de l'élution de la poudre obtenue avec un solvant. Cette méthode permet de séparer, extraire et purifier la cible dans des échantillons solides et semi-solides. En utilisant une faible quantité de support solide et de solvants, le coût de l'analyse est réduit, ce qui en fait une méthode respectueuse de l'environnement. De plus, le dispersant utilisé dans le MSPD augmente la surface de contact avec la molécule cible, facilitant ainsi sa dissolution rapide. **De Oliveira et al. (2017)** ont développé une méthode MSPD pour extraire les FB1 et B2 de diverses variétés de maïs. Après optimisation, le gel de silice a été choisi comme dispersant, la solution d'extraction ne contenant que 30% de solvant organique, et un volume d'élution plus faible (6 ml) a été utilisé. Les résultats ont montré des récupérations fiables (86-106%) et une bonne précision ($\text{RSD} < 19\%$).

Pour améliorer encore l'efficacité de l'extraction, **Massarolo *et al.* (2018)** ont utilisé le MSPD avec vortex pour extraire les composés AFG2, G1, B2 et B1 de la farine de maïs. Avec 25 mg de C18 comme support solide, 10 mL d'ACN/MeOH (1 :1, v/v) comme solvant d'élution, et une agitation pendant 3 minutes, ils ont obtenu les meilleures récupérations, allant de 85,7 à 114,8%. Ces résultats suggèrent que cette méthode est adaptée à la farine de maïs grossière et moyenne.

II.6 Comparaison des diverses techniques de prétraitement des échantillons

Il est avantageux de fusionner différentes approches de prétraitement d'échantillons pour réduire au minimum les interférences de la matrice et améliorer la récupération et la sensibilité. **Nouri *et al.* (2019)** ont développé une méthode combinant la SPE in-syringe et la DLLME pour préparer les AFs dans le soja. Les nanofibres électrofilées PU/GO recouvertes d'une lame métallique ont été utilisées comme adsorbants de SPE. Après l'optimisation des paramètres de SPE et de DLLME, des résultats satisfaisants ont été obtenus (76–101%).

De plus, la LLE ou la SLE seule a des limitations pour éliminer les matrices, ce qui nécessite souvent l'utilisation d'un processus de nettoyage SPE (**Eyring *et al.*, 2021**). Cette approche combinée permet de surmonter les limitations individuelles de chaque méthode et d'améliorer l'efficacité globale du prétraitement des échantillons.

Tableau IV : Les avantages et les inconvénients des différentes méthodes d'extraction

Méthodes	Avantages	Inconvénients
SPE	– Préconcentration efficace – Haute récupération, efficacité et sélectivité. – Automatisation facile à réaliser.	– Obstrue facilement les pores de remplissage. – Il est nécessaire d'utiliser de nombreux réactifs organiques, ce qui entraîne une pollution environnementale.
MSPE	– Rapide et facile. – Écologique. – Réutilisable.	– Préparation complexe de matériaux. – Coût élevé.
SPME	– Moins de consommation de réactifs organiques. – Plus simple à exploiter et à mettre en œuvre. – Facilement élué et récupération élevée.	– Fibres facilement dégradées (usages multiples). – Un phénomène de transfert se produit entre extractions. – Capacité d'adsorption limitée.
D-μSPE	– Extraction miniaturisée. – Simple à utiliser. – Sans solvant ni micro- ou nano-sorbants.	– Forte tendance à l'agrégation (Nano-adsorbants). – Besoin d'énergie externe.
μ-SPE	Évitez la dégradation des fibres et le phénomène de reprise.	– Le solvant flotte ou se fixe à la paroi.
SALLE	– Matériel simple et pratique. – Application étendue.	– Mélangé avec beaucoup de sel neutre.
SDME	– Simple et abordable. – Moins de consommation de solvants et un facteur d'enrichissement plus élevé. – Compatibilité avec les systèmes GC et LC.	– L'instabilité du droplet. – Les types d'extracteurs limités. – La durée d'extraction prolongée.
DLLME	– Facilité d'utilisation. – Faible coût. – Très bonne réussite, efficacité et facteur d'enrichissement.	– Extraction non sélective. – Problème d'automatisation. – Nécessité d'un troisième élément.

QuEChERS	– Rapide, facile, abordable, efficace, robuste et sécurisé.	– Dépendances matricielles. – Besoin de beaucoup de réactifs organiques. – Difficulté d'automatisation.
MSPD	– Structure simple et large application. – Temps d'extraction court. – Basse consommation de solvant.	– Capacité d'adsorption limitée

II.7 Autres méthodes

La technique de PCR ITS-RFLP a été efficacement employée pour l'identification des isolats de champignons filamenteux présents sur les raisins. Après l'extraction de l'ADN, des PCR-ITS ont été réalisées, permettant de différencier 96,3 % des souches testées au niveau de l'espèce en utilisant seulement quatre endonucléases. Cette approche a été étendue à l'analyse de 199 souches de champignons filamenteux provenant de divers vignobles de Bourgogne, révélant la diversité fongique au niveau des espèces dans ces vignobles. La méthode s'est avérée hautement efficace, avec un taux de réussite de 97 %, et sa limite de détection a été évaluée à 6,3 pg d'ADN, équivalant à 540 spores. Cette méthode rapide, sélective et sensible pourrait être utile pour surveiller la propagation du champignon *Botrytis* sur les baies de raisin dans les vignobles (**Michèle Guilloux-Bénatier et al., 2021**).

Une nouvelle approche basée sur l'extraction aqueuse biphasée assistée par ultrasons (UAATPE) a été développée pour la détermination simultanée de plusieurs mycotoxines dans les aliments médicinaux et comestibles. Cette méthode utilise la chromatographie liquide haute performance (HPLC) avec détection à barrette de diodes (DAD) et détection de fluorescence (FLD) en série. En employant un système aqueux à deux phases (ATPS) composé d'acétonitrile et de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ comme agent d'extraction, les effets de la composition de l'ATPS, de la température et du temps d'extraction ont été étudiés pour extraire efficacement les mycotoxines des échantillons (**Pi et al., 2022**).

III Analyse et détection des principales mycotoxines dans les aliments

L'analyse et la détection des principales mycotoxines dans les aliments revêtent une importance cruciale pour garantir la sécurité alimentaire. Ces mycotoxines, produites par certains champignons, peuvent présenter des risques pour la santé humaine lorsqu'elles sont

présentes en quantités significatives dans les denrées alimentaires. Par conséquent, il est impératif de mettre en place des méthodes précises de surveillance et de caractérisation de ces substances toxiques.

Cette section explorera en détail les différentes techniques utilisées pour détecter et quantifier les mycotoxines dans les aliments. Ces méthodes incluent l'utilisation de techniques chromatographiques telles que la chromatographie liquide et la chromatographie en phase gazeuse, ainsi que des techniques immunoanalytiques comme l'ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). En outre, seront discutés les progrès récents dans ce domaine en constante évolution, mettant en lumière les avancées technologiques et les nouvelles recherches qui contribuent à améliorer la capacité à garantir la sécurité des aliments (Figure3).

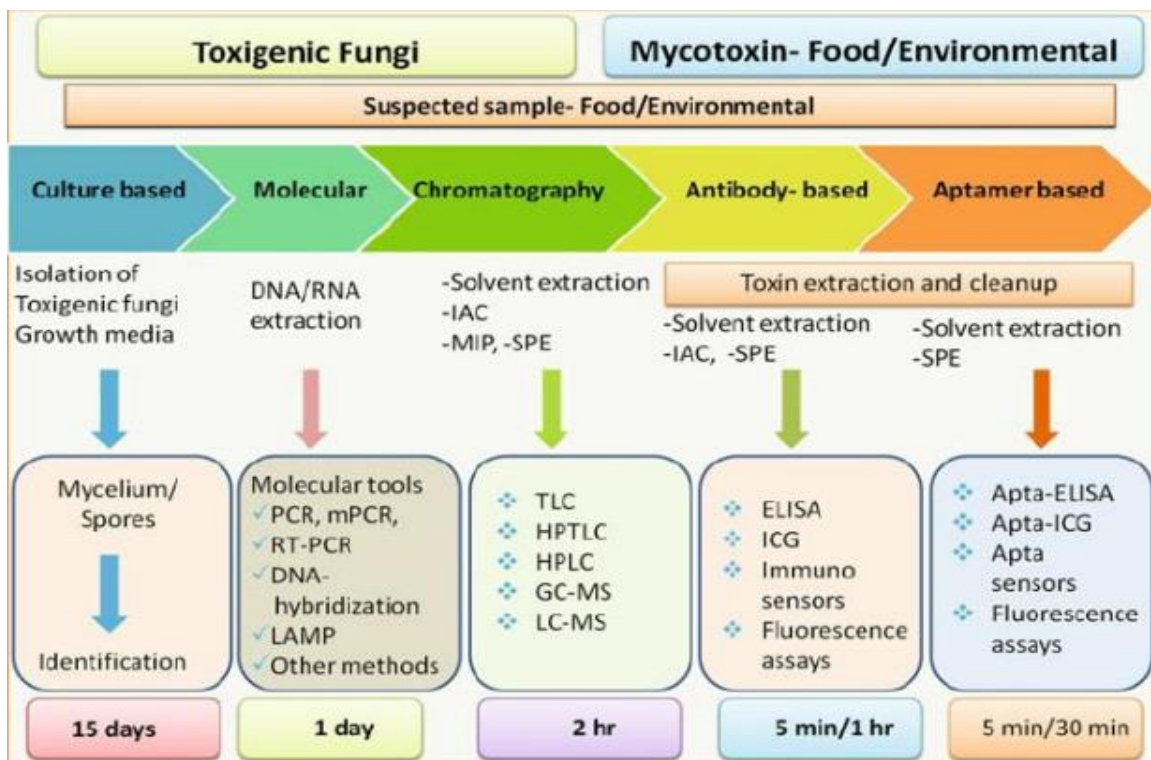


Figure 3: Représentation schématique de plusieurs méthodes de détection de mycotoxines.

III.1 Techniques analytiques pour l'analyse et la détection des mycotoxines

L'établissement de limites maximales admissibles dans de nombreux pays du monde nécessite l'application de techniques capables de fournir des résultats précis et fiables dans l'analyse des mycotoxines (Pereira *et al.*, 2014). La chromatographie est la principale

technique analytique utilisée pour cette analyse dans les denrées alimentaires et les aliments pour animaux (**Alshannaq et al., 2017**). Les séparations chromatographiques permettent d'effectuer des déterminations qualitatives et quantitatives de manière flexible. Néanmoins, ces techniques présentent des

Inconvénients, notamment un prétraitement de l'échantillon nécessitant un temps de détection long, un analyste expérimenté, des instruments coûteux, ainsi qu'un temps considérable pour le traitement des résultats (**Soares et al., 2018**).

La présence de mycotoxines à de très faibles concentrations, la coexistence de nombreuses mycotoxines dans la même matrice alimentaire et leurs différentes structures chimiques entraînent des difficultés supplémentaires dans leur identification par des techniques analytiques (**Stroka et al., 2016**). Parmi les techniques chromatographiques, la chromatographie sur couche mince (CCM) est considérée comme la plus ancienne et peut être utilisée pour le dépistage rapide des mycotoxines. Bien qu'elle soit peu coûteuse, les mesures obtenues ne peuvent pas être considérées comme précises et sensibles (**Lin et al., 1998**). De plus, une étape de préparation de l'échantillon est nécessaire, et la structure physique et chimique de chaque mycotoxine détermine l'étape de nettoyage (**Eskilsson et al., 2000**).

Une recherche menée en Inde a analysé 63 échantillons d'herbes et de produits à base de plantes, mettant en évidence la présence de mycotoxines telles que l'AFB1, l'AFB2, l'AFG1, l'AFG2 et le CIT. L'étude a révélé un seuil de détection (LOD) de 10 ng/mL pour l'AFB1, mais les LOD pour les autres mycotoxines n'ont pas été spécifiés (**Aiko et al., 2016**). Une autre recherche au Nigeria a examiné 210 échantillons de médicaments à base de plantes, identifiant les mycotoxines AFB1, AFB2, AFG1 et AFG2. Cependant, les seuils de détection (LOD) et de quantification (LOQ) n'ont pas été précisés dans cette étude (**Ezekwesili-ofili et al., 2014**). Dans une étude menée au Brésil sur 67 échantillons de noix du Brésil, les chercheurs ont trouvé des traces d'AFB1, AFB2, AFG1 et AFG2. Bien que le LOD ne soit pas spécifié, le LOQ était de 2 mg/kg (**Andrade et al., 2013**). Une investigation en Arabie Saoudite a porté sur 5 échantillons comprenant des amandes, des noix de cajou, des châtaignes, des noisettes, des pistaches et des noix. Cette étude a identifié un large éventail de mycotoxines, avec des LOD variant selon les substances, notamment un seuil de 5 µg/kg pour les AFBs (**Abdel-Gawad et al., 1993**). Au Pakistan, une recherche sur 30 échantillons de plantes médicinales a détecté la présence d'AFB1, AFB2, AFG1, AFG2 et OTA, mais les seuils de détection et de quantification n'ont pas été précisés (**Ahmad et al., 2014**). Enfin, une

étude brésilienne portant sur 208 échantillons de produits alimentaires à base de maïs a révélé la présence d'AFB1, AFB2, AFG1 et AFG2, avec un LOQ de 2 µg/kg, bien que les LOD ne soient pas spécifiés (**Caldas et al., 2007**).

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est rarement utilisée pour l'analyse des mycotoxines en raison de leur nature non volatile et polaire. Pour les rendre détectables, une étape de dérivation est nécessaire pour les convertir en dérivés volatils (**Pereira et al., 2014 ; Alshannaq et al., 2017**). Cette étape, généralement réalisée par silylation ou acylation, intervient après le nettoyage de l'échantillon (**Zhang et al., 2018**). Parmi les détecteurs utilisés en chromatographie en phase gazeuse (GC), la spectrométrie de masse (MS) est le plus largement utilisée. D'autres analyseurs, tels que le piège à ions et le quadripôle, ont également été employés (**Pereira et al., 2014**). L'analyseur à temps de vol (TOF) a été utilisé pour l'analyse des toxines du *Fusarium* dans le blé, et le triple quadripôle (QqQ) a été utilisé pour l'analyse des toxines de *Fusarium*, de l'aflatoxine et de la zéaralénone dans la semoule de blé (**Jelen et al., 2008 ; Rodriguez-Carrasco et al., 2012**).

Le choix de la technique analytique est principalement lié à la nature spécifique de la mycotoxine (**Soares et al., 2018**). La chromatographie liquide à haute performance (CLHP) associe une haute résolution à une automatisation avancée (**Guo et al., 2019**). Les détecteurs conventionnels utilisés avec la CLHP comprennent la fluorescence (FLD), l'UV-visible (UV), le réseau de photodiodes (PDA) et la spectrométrie de masse (MS) simple ou en tandem (MS/MS) (**Valenta et al., 1998**). La CLHP couplée à des détecteurs FLD ou UV peut être utilisée pour la détermination des mycotoxines chimiquement apparentées (**Zhang et al., 2018**). La CLHP couplée à la FLD est la méthode prédominante pour la quantification de l'OTA, offrant une fiabilité et une sensibilité élevées en un seul passage, grâce à la fluorescence naturelle de l'OTA (**Valenta et al., 1998 ; Lai et al., 2015**).

Cependant, pour d'autres mycotoxines telles que les fumonisines (FB), la dérivation est une étape nécessaire car ces mycotoxines ne sont pas fluorescentes en raison de l'absence de chromophores dans leur structure chimique (**Valenta et al., 1998**). De nombreuses études ont souligné l'utilité de la CLHP-FLD pour l'analyse des aflatoxines (AF), de la zéaralénone (ZEA) et du déoxynivalénol (DON) (**Valenta et al., 1998**). La CLHP couplée à la PDA a été utilisée pour la détection des ochratoxines (OT), et un système HPLC-PDA-FLD a été employé pour la détermination simultanée des aflatoxines, de la zéaralénone et du déoxynivalénol (**Pascale et al., 2019**). Pour la détermination simultanée des aflatoxines,

du déoxynivalénol, de l'OTA et de la zéaralénone dans le son de blé, la CLHP a été utilisée (Iracli *et al.*, 2017).

On sait que divers produits agricoles peuvent contenir plusieurs mycotoxines différentes. Cette constatation a incité la communauté scientifique à développer de nouvelles techniques capables de détecter simultanément de multiples mycotoxines (Pascale *et al.*, 2019). Actuellement, la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) est largement utilisée pour obtenir des informations précises sur la masse, tandis que la chromatographie liquide (LC) est utilisée pour l'identification des mycotoxines (Pascale *et al.*, 2019). La LC-MS/MS est considérée comme la méthode la plus moderne et la plus largement utilisée pour l'analyse des mycotoxines à l'état de traces, en raison de sa sensibilité, spécificité et fiabilité supérieures à celles de la CLHP (Al-Taher *et al.*, 2017 ; Bessaire *et al.*, 2019 ; Woo *et al.*, 2019). Cette technique a été couronnée de succès dans la quantification simultanée de mycotoxines de structures chimiques différentes en un seul passage (Delmulle *et al.*, 2006 ; Spanjer *et al.*, 2008 ; Zhang *et al.*, 2018).

Le Comité européen de normalisation (CEN) a récemment publié la première méthodologie officielle pour l'analyse de la zéaralénone (ZEN) dans les huiles végétales comestibles, ainsi que pour les mycotoxines T2 et HT2 dans les céréales et les produits céréaliers. La technique LC/MS-MS a été largement utilisée dans de nombreuses études pour la détermination de plusieurs mycotoxines dans diverses matrices alimentaires, telles que 12 mycotoxines de *Fusarium* dans la bière, 17 mycotoxines différentes dans l'orge et le malt, ainsi que 35 mycotoxines dans des matrices médicales (Han *et al.*, 2012 ; Bolechová *et al.*, 2015 ; Habler *et al.*, 2017). Le Tableau (V) présente des exemples de méthodes LC/MS-MS pour l'analyse des mycotoxines dans les aliments

Tableau V : Méthodes de chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC/MS-MS) pour l'analyse des mycotoxines dans les aliments.

Mycotoxines	Pays	Échantillon	Solution_d'extraction	Méthode d'extraction	Nettoyage	LOD	LOQ*	Référence
AFs	China	Cerneau de noix	Méthanol-eau (70 :30, v/v)	Sonication	Autofabrication d'une Fonction amino Fe ₃ O ₄ nanométrique Polymère magnétique SPE	0,004-0,013µg/kg	0,012–0,042 µg/kg	Li et al. (2014)
AFs, OTA <i>Fusarium</i> mycotoxins	Italy	Céréales et dérivés	Méthanol-eau (60 :40, v/v)	Mélange	IAC	1 µg/kg for AFs and OTA 5–30 µg/kg pour <i>Fusarium</i> toxins	Nd	Lattanzio et al. (2014)
5 Alternaria mycotoxines,CIT	Belgium	Tomates et Jus de tomate	Méthanol2,4-dinitrophénylhydrazine	Vortex	Cartouche SPE	1–20 µg/kg	2-50µg/kg	Tölgyesi et al. (2015)
4 Alternaria Mycotoxins	China	Grains de blé	Acétonitrile-eau méthanol (45 :45 :10, v/v/v)	Sonication	Cartouche SPE	0,04–1,3 µg/kg	0,1–4,2	Xu et al. (2016)
AFs, FB1, FB2, DON, OTA, ZEA	Thailand	Riz brun	Acétonitrile avec 10% (v/v)	Vortex	QuEChERS	1,4–25 µg/kg	4,1–75 µg/kg	Hidalgo-Ruiz et al.

15 mycotoxins	Spain	Lait de vache	D'acide acétique Acétonitrile (2% d'acide formique)	Secousse	Acétate sodium	de 0,02–10,14 ng/mL	Nd	(2019) Flores-Flores et al. (2017)
16 mycotoxins	China	Huiles végétales	85% Acétonitrile	Secousse	QuEChERS	0,04–2,9 ng/g	Nd	Zhao et al. (2016)
11 mycotoxins	USA	Céréales pour nourrissons	Acétonitrile/eau/acide formique (80 :19,9 :0,1, v/v/v)	Secousse	Nd	0,01–10,0 ng/g	0,05–50 ng/g	Al-taher et al. (2017)
12 Fusarium mycotoxins	Germany	Bière	Acétonitrile/eau (70 :30, v/v) Acétonitrile/eau (84 :16, v/v)	Secousse	SPE cartridge	0,05–6,9 µg/L	0,15–20 µg/L	Habler et al. (2017)
AFB1 OTA FB1 DON T2 HT-2 ZEA	Italy	Échantillons à base de céréales	Acétonitrile-eau-acide acétique (79 :20 :1, v/v/v)	Secousse	Nd	0,06–0,13 µg/kg pour AFB1 0,4–0,8 µg/kg pour OTA 8–16 µg/kg pour FB1 20 µg/kg pour DON 4–8 µg/kg pour T-2 20 µg	Nd	De santis et al. (2017)

							kg-1pour HT-2		
							1,6-3,2 µg/kg		
							pour ZEA		
13 mycotoxins	Korea	Grains de céréales	Méthanol 80%, contenant 0,5 % d'acide acétique	Secousse	IAC	0,1-18,1 ng/g	0,4-54,8 ng/g	Kim et al. (2017)	
20 mycotoxins	Korea	Pâte de soja	Méthanol-eau (60 :40, v/v) et PBS	Mélange	IAC	0,06-4,68 µg/kg	0,17-13,24	Woo et al. (2019)	
6 <i>Alternaria</i> toxins	China	Raisins	Acétonitrile et Extraction en phase solide dispersive D'extraction	Secousse	QuEChERS	0,03-0,21 µg/kg	0,09-0,48 µg/kg	Gu et al. (2019)	
AFs, ZEA, α-ZOL	Spain	Huiles végétales	Acétonitrile	Secousse	QuEChERS	Nd	0,5 µg/kg pour AFs 1 µg/kg pour ZEA and α-ZOL	Hidalgo-Ruiz et al. (2019)	

III.2 Méthodes de diagnostic rapide pour la détection des mycotoxines

Les méthodes de diagnostic rapide pour la détection des mycotoxines sont des outils essentiels dans le domaine de la sécurité alimentaire. Ces méthodes offrent des avantages significatifs en termes de rapidité, de sensibilité et de spécificité par rapport aux techniques conventionnelles d'analyse des mycotoxines. En permettant une détection précoce et précise des mycotoxines dans les denrées alimentaires et les aliments pour animaux, ces méthodes contribuent à garantir la qualité et l'innocuité des produits alimentaires. Cette section explore les différentes méthodes de diagnostic rapide disponibles, mettant en lumière leurs principes de fonctionnement, leurs applications et leurs implications dans la prévention des risques liés aux mycotoxines.

III.2.1 Méthodes basées sur les immunoessais

Les méthodes de diagnostic rapide reposent principalement sur des tests immunochimiques, parmi lesquels figurent les tests ELISA, les bandelettes, les membranes à circulation et les LFD. L'ELISA est particulièrement notable, représentant l'outil le plus important pour une détection et une quantification rapide des mycotoxines (**Alshannaq et al., 2017**). Son principe repose sur l'interaction du complexe antigène-anticorps avec des substrats chromogènes, et le résultat mesurable est obtenu par mesure spectrophotométrique de la couleur développée (**Pereira et al., 2014**). Des méthodes ELISA ont été développées pour tester diverses mycotoxines telles que les AF, ZEA, OTA, DON, T2/HT2 et FB dans différents produits agricoles (**Urusov et al., 2015 ; Oplatowska-stqchowiak et al., 2016**).

Le principe de fonctionnement de la bandelette est similaire à celui de l'ELISA, et les immunodosages basés sur une membrane en écoulement permettent d'obtenir des résultats qualitatifs et semi-quantitatifs, bien que leur performance commerciale soit souvent médiocre en raison de résultats proches du seuil de détection (**Alshannaq et al., 2017**).

Les LFD (également appelés immunostrips ou immunodipsticks) sont des outils de dépistage rapide et in situ pour les tests immunochromatographiques, produisant des résultats visuels positifs ou négatifs. Ils fonctionnent de manière compétitive avec des anticorps marqués comme réactifs de signal, et l'amplification du signal dans les LFD a été obtenue grâce à de nouveaux matériaux tels que les points quantiques, les nanoparticules d'or, les

nanoparticules magnétiques et les nanoparticules de carbone. Cependant, leur utilisation est limitée en raison d'interférences potentielles et de leur complexité dans l'identification des traces d'analytes. La reproductibilité, la fiabilité avec différentes matrices et la sensibilité sont également des considérations importantes limitant leur utilisation (**Zhang et al., 2018**). **Fobert et al. (2016)** ont investigué l'utilisation de points quantiques (QDs) recouverts de silice fonctionnalisée à l'époxy, révélant une sensibilité allant de 80 µg/kg à 1000 µg/kg pour le déoxynivalénol (DON), la zéaralénone (ZEA) et la toxine T-2/H-T2. Dans une autre étude, **Song et al. (2014)** ont employé des anticorps monoclonaux (mAbs) conjugués à de la sérum-albumine bovine (BSA) pour détecter l'aflatoxine B1 (AFB1), la ZEA et le DON, avec une sensibilité variant de 0,05 µg/kg à 3 µg/kg. **Yu et al. (2015)** ont utilisé des nanoparticules d'or (AuNPs) pour la détection de la fumonisine B1 (FB1) et du DON, atteignant une sensibilité de 2,0 ng/ mL à 40 ng/mL. De plus, **Li et al. (2019)** ont étudié l'utilisation de nanoparticules de carbone amorphe (ACNP) pour détecter le DON, la toxine T-2 (T-2), la ZEA et l'AFB1, avec une sensibilité allant de 1 µg/kg à 20 µg/kg. **Duan et al. (2015)** ont utilisé des points quantiques CdSe/SiO₂ et des microbilles pour la détection de la ZEA, de l'AFB1 et du DON, avec une sensibilité oscillante entre 10 pg/mL⁻¹ et 500 pg/mL. **Pirinçci et al. (2018)** ont obtenu une sensibilité de 3,6 mg/mL pour la ZEA en utilisant des billes de sumicro à points quantiques marquées d'anticorps. Enfin, **Anfossi et al. (2018)** ont obtenu une sensibilité de 62,5 µg/kg pour les fumonisines (Fus) en utilisant des QDs CdSe/ZnS et des nanoparticules d'or (GNP). Ces recherches illustrent la diversité des approches de détection des mycotoxines et leurs performances variables en termes de sensibilité.

III .2.2 Biocapteurs pour la détection des mycotoxines

L'utilisation de biocapteurs dans l'industrie alimentaire offre une solution prometteuse pour réduire la présence de mycotoxines. Ces dispositifs présentent plusieurs avantages, notamment une analyse rapide, facile et économique des échantillons, ainsi que la reproductibilité, la stabilité et la précision des résultats, permettant même des analyses sur site (**Slaughter et al., 2018**). Récemment, **Oliveira et al. (2019)** ont mis en avant les progrès réalisés dans ce domaine, soulignant l'efficacité des biocapteurs pour la détection des mycotoxines dans les aliments.

Les biocapteurs utilisent principalement des transducteurs optiques (comme la résonance plasmonique de surface et la fluorescence), piézoélectriques (comme la microbalance à cristal de quartz-QCM) et électrochimiques (**Schulz et al., 2019**). Les

éléments de reconnaissance les plus courants incluent les peptides, les enzymes, les anticorps, les cellules et les acides nucléiques, mais d'autres matériaux comme les aptamères et les polymères à empreintes moléculaires sont également utilisés (**Oliveira et al., 2019**). Pour améliorer la sensibilité des biocapteurs, des nanoparticules métalliques, des nanotubes de carbone et des nanofibres sont souvent intégrés, grâce à leurs propriétés physicochimiques uniques telles qu'une grande surface-volume et une résistance à la corrosion élevée (**Malekzad et al., 2017**). Dans le **Tableau (VI)**, illustrant l'utilisation des biocapteurs dans la détection des mycotoxines sont répertoriés, mettant en lumière leur diversité et leur efficacité dans ce domaine.

Tableau VI : Utilisation de biocapteurs pour la détection des mycotoxines

Mycotoxine	Élément de reconnaissance	Transducteur/Technique	Alimentation	Détection Limit	Référence
AFB1	Cadre organique	Piézoélectrique (QCM)	Arachides, pistaches, riz,et blé	2,8 pg/mL	Gu et al. (2019)
AFB1	Composite	Impédimétrique (EIS)	Maïs	0,05 ng/mL	Yagati et al. (2018)
AFB1	Anticorps	Piézoélectrique (EQCM)	Céréales	8 pg/mL	Chauhan et al. (2016)
AFB1	Anticorps	Piézoélectrique (QCM)	Cacahuète	0,83 ng/kg	Tang et al. (2018)
AFB1	Anticorps	Potentiométrique (DPV)	Poudre de maïs	3,5 pg/mL	Zhang et al. (2016)
Cyclopiazonic acid	Anticorps	Optique (SPR)	Maïs et fromage	0,29 mg/mL	Hossain et al. (2019)
DON, ZEN, T-2toxin	Anticorps	Optique (SPR)	Blé	15µg/kg 24 µg/kg 12 µg/kg	Hossain et al. (2018)
HT-2 toxin, T-2 toxin, AFM1	Anticorps	Ampérométrique (CV)	Urine humaine	0,4 ng/mL ng/mL 0,3	Hossain et al. (2018)
T-2 toxin, T-2 toxin-3-glucoside (T2-G)	Anticorps	Optique (iSPR)	Blé	1,2 ng/mL	Nan et al. (2019)
OTA	Aptamère	Impédimétrique (EIS)	Raisin et produits de base	0,030 ng/mL	Zhu et al. (2015)
OTA	Aptamère	SPR	Vin et huile d'arachide	0,005 ng/mL	Tang et al. (2018)
OTA	Anticorps	Piézoélectrique (QCM)	Tampon	17,2 ng/mL	Pirinçi et al. (2018)
OTA	Aptamère	Amperometric (CV)	Vin rouge	0,23 pg/mL	Tang et al. (2018)
OTA	Anticorps	Piézoélectrique (QCM)	Vin rouge	0,16 ng/mL	Karczmarczyk et al. (2017)
OTA	Anticorps	Optique (SPR)	Café	3,8 ng/mL	Rehmat et al. (2019)
OTA	Aptamèr	Potentiométrique (DPV)	Jus de raisin et vin rouge	0,18 µg/mL	Xiang et al. (2018)

Synthèse bibliographique

OTA	Anticorps	Piézoélectrique (QCM-D)	Vin rouge	0,16 ng/mL	Karczmarczyk et al. (2017)
OTA, AFM1	Anticorps	Potentiométrie (CV)	Vin rouge et lait	0,15 ng/mL 3,04 ng/mL	Karczmarczyk et al. (2017)
AFM1	Anticorps	Optique (SPR)		18 pg/mL	Karczmarczyk et al. (2016)
PAT	Aptamère	Potentiométrie (EIS/DPV)	Le lait	0,27 pg/mL	He et al. (2018)
PAT	Aptamère	Impédimétrie (EIS)	Jus	2,8 ng/L	Khan et al. (2019)
ZEN	Aptamère	Ampérométrie (CV/DPV)	Jus de pomme	0,17 pg/mL	He et al. (2019)
ZEN	Anticorps	Ampérométrie (CV/DPV)	Mais	1,5 pg/mL	Lui et al. (2016)
ZEN	Aptamèr	Potentiométrie (CV/DPV)	Maïs et produits à base de maïs	0,105 pg/mL	He et al. (2019)
DON, T-2, ZEA, FB1	Anticorps	Optique (iSPR)	Orge	64 µg/kg, 26 µg/kg, 96 µg/kg, 13 µg/kg	Joshi et al. (2016)

III.2.2.1 Biocapteurs électrochimiques pour la détection des mycotoxines

Les biocapteurs électrochimiques sont des dispositifs innovants qui exploitent des composants biologiques pour détecter les mycotoxines dans les produits alimentaires. Leur principe repose sur la mesure des changements électrochimiques induits par les interactions entre les mycotoxines. Cette approche offre une sensibilité remarquable, capable de détecter même de faibles concentrations de mycotoxines, ce qui est crucial pour garantir la sécurité alimentaire. De plus, les biocapteurs électrochimiques sont hautement sélectifs, car ils peuvent cibler spécifiquement les mycotoxines recherchées, minimisant ainsi les risques de faux positifs ou d'interférences avec d'autres composés. Leur rapidité d'analyse, souvent réalisée en quelques minutes seulement, permet une surveillance en temps réel dans les industries alimentaires. En détectant les mycotoxines précocement, ces biocapteurs permettent une intervention rapide pour prévenir les risques pour la santé publique liés à la consommation de produits alimentaires contaminés. Ainsi, les biocapteurs électrochimiques émergent comme une technologie prometteuse pour renforcer la sécurité alimentaire et protéger la santé des consommateurs :

- **Capteurs impédimétriques** : La technique de spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS) a été développée pour identifier les mycotoxines. Cette technique enregistre les altérations observées dans l'interface entre l'électrode et la sonde redox (**Ram et al., 2016**). Trois électrodes constituent un capteur impédimétrique : l'électrode de travail, l'électrode de référence et la contre-électrode. Des capteurs impédimétriques ont été testés avec succès pour l'AFB1, AFM1, OTA et PAT (**Nan et al., 2019**). Les biocapteurs impédimétriques se distinguent par leur sensibilité et leur sélectivité élevées, ainsi que par leur efficacité en termes de temps et leur simplicité d'utilisation. De plus, ils offrent une réponse rapide et une grande mobilité grâce à l'instrumentation portable et à la miniaturisation. Cependant, leur construction complexe et l'utilisation de marqueurs d'étiquetage coûteux constituent des limitations importantes (**Oliveira et al., 2019**).
- **Capteurs potentiométriques** : Les capteurs potentiométriques utilisent des électrodes sélectives d'ions. Pour cette technique, on peut utiliser des systèmes à deux (de travail et de référence) ou trois (de travail, de référence et de comptage) électrodes.

L'information sur l'événement de reconnaissance est fournie par les changements de potentiel de circuit entre les électrodes de travail et de référence (**Perumal et al., 2014**). Pour la détermination des mycotoxines dans les aliments, la voltampérométrie différentielle à impulsion (DPV), la voltampérométrie cyclique (CV) et la voltampérométrie à ondes carrées (SWV) ont été utilisées (**Xu et al., 2016**). Des capteurs potentiométriques ont été testés avec succès pour l'AFB1 dans la poudre de maïs (**Zhang et al., 2016**), pour l'OTA dans le jus de raisin et le vin rouge (**Xiang et al., 2018**), pour le PAT dans le jus (**He et al., 2018**) et pour le ZEN dans le maïs (**He et al., 2019**). Les biocapteurs potentiométriques permettent une réduction du temps d'analyse et offrent une mobilité accrue grâce à l'instrumentation portable et à la miniaturisation. Leur sensibilité et leur sélectivité sont également des points forts, tout comme leur capacité à fonctionner sans traitement préalable de l'échantillon. Cependant, leur sensibilité et leur durée de vie peuvent être sérieusement influencées par des facteurs tels que la température, le pH, le support d'immobilisation et les réactions immunologiques croisées (**Xiang et al., 2018**).

- **Capteurs ampérométriques** : Pour la technique du capteur ampérométrique, deux (travail et référence) ou trois (travail, référence et contre) systèmes d'électrodes sont nécessaires. Les biocapteurs ampérométriques calculent les courants produits par des espèces électroactives. L'apport de médiateurs peut améliorer l'efficacité du capteur ampérométrique en facilitant le transfert d'électrons (**Hammond et al., 2016**). Un métal inerte tel que le Pt ou l'Au peut être utilisé comme électrode de travail, ou bien des nanotubes de carbone et du graphène peuvent également être utilisés. La régénération observée entre les mesures doit être particulièrement soignée, car il s'agit d'un inconvénient de la technique. De nos jours, des électrodes imprimées jetables sont utilisées à la place, car elles sont bon marché et peuvent être produites à grande échelle (**Ferreira et al., 2013**). Des capteurs ampérométriques ont été testés avec succès pour la toxine HT-2, la toxine T-2 et l'AFM1 dans l'urine humaine (**Schulz et al., 2019**), pour l'OTA dans le vin rouge (**Tang et al., 2018**) et pour le ZEN dans le maïs et les produits à base de maïs (**He et al., 2019**). Les biocapteurs ampérométriques se distinguent par leur mobilité grâce à l'instrumentation portable et à la miniaturisation, ainsi que par leur haute sensibilité et sélectivité. Cependant, la nécessité de régénérer l'appareil entre les mesures peut être une limite importante (**Vidal et al., 2013**).

III.2.2.2 Biocapteurs optiques pour la détection des mycotoxines

Parmi les différentes méthodes de biocapteurs optiques, la résonance plasmonique de surface (SPR) se distingue par ses caractéristiques telles qu'une spécificité élevée, une sensibilité accrue et un rapport coût-efficacité favorable. La SPR permet une détection directe en temps réel, offrant ainsi des résultats rapides et précis. Cette technique innovante permet également une détection sans étiquetage, ainsi que l'analyse qualitative et quantitative de plusieurs polluants simultanément (**Damborsky et al., 2016**). Des biocapteurs basés sur la SPR ont été développés et testés avec succès pour détecter des mycotoxines telles que le DON, le ZEN et la toxine T-2 dans le blé (**Hossain et al., 2019**), l'OTA dans le café (**Rehmat et al., 2019**) et l'AFM1 dans le lait (**Karczmarczyk et al., 2017**).

La résonance plasmonique de surface présente de nombreux avantages, notamment une spécificité et une sensibilité élevées, une compacité et une rentabilité. Elle permet une analyse directe en temps réel sans nécessiter de marquage, ce qui favorise le développement d'appareils portables pour une utilisation sur le terrain. Cependant, malgré ses promesses, son déploiement à grande échelle reste encore en cours de développement (**Oliveira et al., 2019**).

III.2.2.3 Biocapteurs piézoélectriques pour la détection des mycotoxines

Les biocapteurs basés sur la microbalance à cristal de quartz (QCM) ont été largement étudiés pour leur utilisation dans l'analyse des mycotoxines et la surveillance des agents pathogènes. Le transducteur QCM est composé d'un cristal de quartz plaqué or, dont la fréquence de résonance est modifiée en réponse à un signal électrique. La surface du quartz est revêtue d'une couche sensorielle spécifique, provoquant des changements de masse et des vibrations caractéristiques (**Montagut et al., 2011**). Des biocapteurs exploitant la QCM ont été efficacement testés pour détecter l'AFB1 dans des produits tels que les arachides, les pistaches, le riz et le blé (**Gu et al., 2019**), ainsi que l'OTA dans le vin rouge (**Karczmarczyk et al., 2017**).

Ces biocapteurs, basés sur la microbalance à cristal de quartz, offrent des avantages significatifs, notamment un coût relativement faible, une sensibilité élevée et une sélectivité accrue. De plus, ils permettent la réutilisation, offrent une sortie en temps réel et permettent la détection sans marquage ni irradiation, ce qui favorise leur intégration dans des appareils portables. Cependant, il convient de noter qu'ils peuvent être limités par un signal de fond

relativement élevé par rapport au signal de l'essai, ce qui nécessite une attention particulière (Tang *et al.*, 2018).

III.3 Technologies émergentes dans l'analyse et la détection des mycotoxines

L'émergence de nouvelles technologies dans l'analyse et la détection des mycotoxines offre des perspectives prometteuses pour améliorer la sécurité alimentaire et environnementale. Ces avancées permettent une précision accrue dans l'identification des mycotoxines, permettant la détection même à des concentrations infimes. De plus, elles accélèrent le processus de détection, offrant une réponse plus rapide dans les situations d'urgence. Enfin, ces technologies offrent une sensibilité améliorée, assurant une surveillance plus rigoureuse et une réduction des risques de contamination. En combinant ces avantages, elles jouent un rôle crucial dans la préservation de la santé publique et dans la protection des ressources alimentaires mondiales.

III.3.1 Méthodes protéomiques et génomiques

Les méthodes protéomiques comprennent l'extraction initiale des peptides/protéines des aliments et une analyse plus poussée par spectrométrie de masse à temps de vol par désorption ou ionisation laser assistée par matrice (MALDI-TOF MS). La technique MALDI-TOF MS détecte rapidement les isolats fongiques et les mycotoxines et les identifie avec une grande précision. Cette analyse est réalisée en détectant les protéines dans une gamme de masse de 2 à 20 kDa après avoir calculé les valeurs m/z . L'identification du micro-organisme est réalisée grâce à l'empreinte MS créée pour chacun d'entre eux. La technique MALDI-TOF MS est une approche très prometteuse car elle permet d'identifier des espèces de champignons filamenteux étroitement liées. Toutefois, la nécessité de créer une base de données publique dans laquelle toutes les entrées internes soient accessibles a été signalée. En outre, l'industrie alimentaire considère actuellement cette technique comme coûteuse. La MALDI-TOF MS a été utilisée pour détecter rapidement l'AFB1, le CIT, le DON, le ZEA, le T2 et la griséofulvine, et pour le dépistage rapide des mycotoxines d'*Alternaria*, l'alternariol (AOH), l'éther monométhyle d'alternariol (AME) (Hleba *et al.*, 2017).

Les méthodes génomiques comprennent l'extraction initiale de l'ADN ou de l'ARN des moules à partir des aliments, suivie d'une détection par réaction en chaîne de la polymérase (PCR), PCR quantitative (qPCR), amplification isotherme en boucle (LAMP) et PCR de transcription inverse (RT-PCR). Ces méthodes permettent de détecter les isolats

fongiques, mais il n'est pas possible de les quantifier. Il n'est pas non plus possible de détecter des espèces spécifiques, mais seulement de détecter les souches ayant la capacité de produire des mycotoxines (**Bintvihok et al., 2016**). Grâce à la technique PCR, l'amplification de séquences d'ADN se fait in vitro. L'amplification sélective et répétitive nécessite l'existence des amorces et de l'ADN polymérase Taq. La combinaison en temps réel de la sensibilité de la PCR conventionnelle à un signal fluorescent spécifique permet à la qPCR de quantifier des cibles d'ADN spécifiques. LAMP utilise une ADN polymérase et quatre amorces pour amplifier les acides nucléiques. Elle est utilisée à la place de la PCR pour la détection des moisissures d'altération. Des champignons producteurs d'OTA ont été détectés par des méthodes basées sur la PCR (**Hayat et al., 2012**), les espèces de *Fusarium*, *Penicillium* et *Aspergillus* ont également été détectées par la même méthode et analysées comme étant associées à l'expression des gènes impliqués dans le développement de la maladie. Par la même méthode, elles ont été analysées comme étant associées à l'expression de gènes impliqués dans la voie de biosynthèse de plusieurs mycotoxines (**Rodriguez et al., 2015**).

III.3.2 Techniques moléculaires

Les techniques moléculaires comprennent notamment la PCR, l'hybridation fluorescente in situ (FISH) et le codage à barres de l'ADN. Les techniques qui varient avec la PCR, telles que la qPCR, la RT-PCR, l'électrophorèse sur gel en gradient de dénaturation (PCR-DGGE) et la PCR-ELISA, peuvent être utilisées pour contrôler les champignons dans les aliments (**Bintvihok et al., 2016**). Parmi ces méthodes, la PCR-DGGE présente l'avantage de l'analyse du polymorphisme de longueur des fragments de restriction terminale (T-RFLP), ce qui permet d'identifier de manière satisfaisante les champignons toxigènes (**El Sheikha et al., 2015**). La PCR-ELISA s'est avérée plus sensible que la PCR simple. L'amplification de l'ADN par LAMP a été rapportée par (**Luo et al., 2012**) pour détecter les espèces d'*Aspergillus* productrices d'aflatoxines.

III.3.3 Nez électronique

Les propriétés physicochimiques des métabolites fongiques secondaires peuvent être évaluées par le nez électronique, qui fonctionne partiellement comme un système GC. Plus précisément, cette analyse est basée sur la détection des composés volatils libérés par un aliment contaminé au moyen d'un capteur à l'état (**Palascni et al., 2012**). La sensibilité des capteurs utilisés dans cette analyse permet de créer une empreinte digitale unique pour chaque

aliment, caractéristique de son goût et de son arôme. La détection de l'odeur caractéristique donne des informations initiales sur la catégorie des métabolites produits (**Sanaeifar et al., 2017**). Les pommes, les oranges, les fraises et les pêches sont des fruits pour lesquels l'application de cette technique a été réalisée avec succès pour la détection des champignons qui produisent des (**Jia et al., 2019**).

III.3.4 Emission induite par l'agrégation

L'émission induite par l'agrégation (AIE) exploite l'augmentation de la fluorescence pour un groupe de colorants fluorescents à l'état d'agrégation. La fluorescence intense de ces colorants peut être le résultat de la réduction des rotations intramoléculaires observées à l'état d'agrégat. Le développement de biocapteurs est basé sur l'analyse de la fluorescence des colorants AIE (**Liu et al., 2014**). Les colorants AIE qui présentent une émission de fluorescence élevée à l'état d'agrégat sont le 9,10-distyrylanthracène (DSA), le tétraphényléthène (TPE) et le silacrylate de méthyle (TPE) et le silacyclopentadiène (silole) (**Wang et al., 2018**).

Zhu et al. (2019) ont mis au point un aptasenseur à base de colorants AIE pour la détection de l'OTA. Les colorants AIE présentent une grande affinité avec les aptamères et sont fluorescents grâce au processus d'agrégation des colorants. Une seule séquence d'aptamère a été utilisée dans cette étude, la limite de détection atteignant 0,4 ng/mL. De plus, l'aptamère présentait une spécificité significative pour la reconnaissance de l'OTA. L'application a été utilisée avec succès pour analyser l'OTA dans le vin et le café. La détection sur place des contaminations alimentaires et la simplicité d'utilisation rendent l'application des colorants AIE très efficace.

III.3.5 Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire

La spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) est une technique fondamentale pour l'identification des composés organiques et l'une des principales technologies analytiques fréquemment utilisées dans la métabolomique (**Xu et al., 2014**). Elle adopte une approche holistique pour l'étude des métabolites. Les méthodologies RMN les plus couramment utilisées se concentrent sur l'analyse des propriétés physiques des noyaux d'hydrogène (protons) dans les tissus, notamment la RMN du proton. D'autres noyaux atomiques, tels que le ^{31}P , le ^{13}C , le ^{19}F et le ^{23}Na , sont également étudiés. Parmi les inconvénients de la RMN, on compte sa sensibilité limitée, sa résolution spectrale et

temporelle insuffisante. De plus, le nombre restreint de logiciels commerciaux disponibles et les méthodes de quantification limitées sont des caractéristiques de cette technique (**Serkova et al., 2012**). Néanmoins, la RMN présente plusieurs avantages, tels que la préparation simple des échantillons, le haut débit d'analyse, les déplacements chimiques stables et la capacité à quantifier simultanément plusieurs métabolites endogènes dans un organisme vivant. En métabolomique, la RMN fournit des informations structurales détaillées en permettant la détection simultanée et l'interprétation statistique des multiples métabolites endogènes dans un système vivant.

III.3.6 Imagerie hyperspectrale

L'imagerie hyperspectrale (HSI) est une technique qui peut être appliquée à l'évaluation des champignons et des mycotoxines avec des avantages significatifs. Les analyses par cette technique sont peu coûteuses, non destructives, rapides et fournissent des données spectrales pour chaque pixel. Cette technique est considérée comme capable de remplacer les méthodes coûteuses et fastidieuses pour l'analyse des mycotoxines dans les céréales, contribuant ainsi de manière significative au dépistage des céréales contaminées. L'étude de **Femenias et al. (2020)** décrit le principe de la technique HSI et son utilisation pour la gestion des risques liés au pathogène *Fusarium* et au DON dans les céréales. De plus, les algorithmes de prédiction de l'HSI sont des outils innovants importants pour la détermination du DON. L'HSI est un outil de triage des grains qui permet de classer les grains contaminés individuellement. Un système HSI se compose d'une caméra pour la détection spectrale et spatiale, d'un spectrographe pour la production d'un spectre pour chaque pixel, d'une lentille objective qui focalise le faisceau de lumière vers le détecteur, d'un dispositif d'illumination qui produit et envoie de la lumière à l'échantillon (**Elmasry et al., 2010**), une unité mobile avec une platine de translation et un moteur responsables du mouvement de l'échantillon, et un instrument d'acquisition de données (**Elmasry et al., 2012**).

Sans normes, l'identification fiable des métabolites des isolats (**Kleigrew et al., 2012**) est difficile. Les technologies RMN ont été utilisées avec succès pour élucider le mécanisme de réarrangement de la mycotoxine *Fusarium*, notamment le Fusarin C (**Lopez-Ruiz et al., 2019**). **Tekle et al. (2015)** ont étudié une caméra infrarouge à courte longueur d'onde avec un détecteur au tellurure de mercure pour la surveillance des grains de céréales contaminés par le *Fusarium* et le DON, avec des longueurs d'onde de travail de l'appareil situées entre 1000 et 2500 nm. L'Imagerie Hyperspectrale Visuelle (IHV) présentée par

(Barbedo *et al.*, 2017) consistait en une caméra XENICS couplée à un spectromètre VIS/NIR, utilisant des longueurs d'onde de travail de 528 à 1785 nm. Ils ont étudié l'utilisation de l'HSI pour le dépistage du DON dans les grains de blé à l'aide d'un nouvel algorithme. Cependant, les résultats ont montré que l'algorithme conçu exclusivement pour cette étude ne fournissait pas de preuves suffisantes de corrélation entre l'infection par le DON et la présence de Fusarium. Un nouvel algorithme a été conçu pour classer les échantillons en lots, ce qui pourrait être un outil précieux pour détecter les premiers signes d'infection par le Fusarium, suivi d'une analyse du DON

Conclusion et perspectives

Les avancées examinées dans l'analyse des mycotoxines, mettant particulièrement l'accent sur les innovations dans la préparation des échantillons alimentaires, ont des implications profondes pour la sécurité alimentaire et la santé publique. Le domaine a connu une évolution notable des techniques analytiques, des méthodes de préparation des échantillons et des technologies de détection, toutes visant à améliorer la précision, la sensibilité et l'efficacité de la détection des mycotoxines dans les échantillons alimentaires. En évaluant de manière critique ces développements, cette revue exhaustive souligne leur potentiel pour révolutionner divers aspects de la gestion de la sécurité alimentaire, y compris les cadres réglementaires, les méthodologies d'évaluation des risques et les stratégies d'atténuation.

Pour l'avenir, plusieurs pistes prometteuses pour progresser davantage dans l'analyse des mycotoxines émergent. Tout d'abord, la recherche en cours sur les techniques de préparation d'échantillons novatrices promet de rationaliser le processus analytique, réduisant ainsi le temps et les ressources nécessaires tout en améliorant la sensibilité de la détection. L'exploration de méthodes de préparation d'échantillons miniaturisées et automatisées, associée aux avancées en microfluidique et en technologies lab-on-a-chip, présente un intérêt particulier à cet égard.

L'intégration de technologies émergentes telles que la nanotechnologie et l'intelligence artificielle (IA) offre des opportunités passionnantes pour améliorer la sensibilité, la spécificité et la rapidité des méthodes de détection des mycotoxines. Les capteurs à base de nanomatériaux et les algorithmes d'analyse de données pilotés par l'IA montrent un grand potentiel pour révolutionner le domaine en permettant une détection rapide et sur site des mycotoxines avec une précision et une fiabilité élevée.

Il existe une reconnaissance croissante de l'importance des protocoles normalisés et des matériaux de référence pour garantir la reproductibilité et la comparabilité des résultats entre différents laboratoires et régions. Les efforts collaboratifs entre les chercheurs, les régulateurs et les acteurs de l'industrie sont cruciaux pour établir et mettre en œuvre ces normes de manière efficace.

Références

- Abdel-Gawad, K.M.; Zohri, A.A. Fungal flora and mycotoxins of six kinds of nut seeds for human consumption in Saudi Arabia. *Mycopathologia* 1993, 124, 55–64.
- Ahmad, B.; Ashiq, S.; Hussain, A.; Bashir, S.; Hussain, M. Evaluation of mycotoxins, mycobiota, and toxigenic fungi in selected medicinal plants of Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. *Fungal Boil.* 2014, 118, 776–784.
- Aiko, V.; Mehta, A. Prevalence of toxigenic fungi in common medicinal herbs and spices in India. *3 Biotech* 2016, 6, 159.
- Alcántara-Durán, J.; Moreno-González, D.; García-Reyes, J.; Molina-Díaz, A. Use of a modified QuEChERS method for the determination of mycotoxin residues in edible nuts by nano flow liquid chromatography high resolution mass spectrometry. *Food Chem.* 2019, 279, 144–149.
- Alshannaq, A.F.; Yu, J.-H. Occurrence, Toxicity, and Analysis of Major Mycotoxins in Food. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2017, 14, 632.
- Al-Taher, F.; Cappozzo, J.; Zweigenbaum, J.; Lee, H.; Jackson, L.S.; Ryu, D. Detection and quantitation of mycotoxins in infant cereals in the U.S. market by LC-MS/MS using a stable isotope dilution assay. *Food Control* 2017, 72, 27–35.
- Andrade, P.; Homem-De-Mello, M.; França, J.; Caldas, E.D. Aflatoxins in food products consumed in Brazil: A preliminary dietary risk assessment. *Food Addit. Contam. Part A* 2013, 30, 127–136.
- Anfossi, L.; Di Nardo, F.; Cavalera, S.; Giovannoli, C.; Spano, G.; Speranskaya, E.S.; Goryacheva, I.; Baggiani, C. A lateral flow immunoassay for straightforward determination of fumonisin mycotoxins based on the quenching of the fluorescence of CdSe/ZnS quantum dots by gold and silver nanoparticles. *Microchim. Acta* 2018, 185, 94.
- Bai, Y.; Zhang, J.; Bai, Y.; Liu, H. Direct analysis in real time mass spectrometry combined with single-drop liquid-liquid-liquid microextraction for the rapid analysis of multiple phytohormones in fruit juice. *Anal. Bioanal. Chem.* 2012.
- Barbedo, J.G.; Tibola, C.S.; Lima, M.I.P. Deoxynivalenol screening in wheat kernels using hyperspectral imaging. *Biosyst. Eng.* 2017, 155, 24–32.
- Bessaire, T.; Perrin, I.; Tarres, A.; Bebius, A.; Reding, F.; Theurillat, V. Mycotoxins in green coffee: Occurrence and risk assessment. *Food Control* 2019, 96, 59–67.

- Bian, Y.; Zhang, Y.; Zhou, Y.; Wei, B.; Feng, X. Recent Insights into Sample Pretreatment Methods for Mycotoxins in Different Food Matrices: A Critical Review on Novel Materials. *Toxins* 2023, 15, 215.
- Bintvihok, A.; Treebonmuang, S.; Srisakwattana, K.; Nuanchun, W.; Patthanachai, K.; Usawang, S. A Rapid and Sensitive Detection of Aflatoxin-producing Fungus Using an Optimized Polymerase Chain Reaction (PCR). *Toxicol. Res.* 2016, 32, 81–87.
- Bintvihok, A.; Treebonmuang, S.; Srisakwattana, K.; Nuanchun, W.; Patthanachai, K.; Usawang, S. A Rapid and Sensitive Detection of Aflatoxin-producing Fungus Using an Optimized Polymerase Chain Reaction(PCR). *Toxicol. Res.* 2016, 32, 81–87.
- Bolechová, M.; Benešová, K.; Běláková, S.; Čáslavský, J.; Pospíchalová, M.; Mikulíková, R. Determination of seventeen mycotoxins in barley and malt in the Czech Republic. *Food Control* 2015, 47, 108–113.
- Caldas, E.D.; Silva, A.C.S. Mycotoxins in Corn-Based Food Products Consumed in Brazil: An Exposure Assessment for Fumonisin. *J. Agric. Food Chem.* 2007, 55, 7974–7980.
- Chauhan, R.; Singh, J.; Solanki, P.R.; Manaka, T.; Iwamoto, M.; Basu, T.; Malhotra, B.D. Label-free piezoelectric immunosensor decorated with gold nanoparticles: Kinetic analysis and biosensing application. *Sens. Actuators B Chem.* 2016, 222, 804–814.
- Chmangui, A.; Jayasinghe, G.; Driss, M.R.; Touil, S.; Bermejo-Barrera, P.; Bouabdallah, S.; Moreda-Piñeiro, A. Assessment of trace levels of aflatoxins AFB1 and AFB2 in non-dairy beverages by molecularly imprinted polymer based micro solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Methods Adv. Methods Appl.* 2021,13, 3433–3443
- de Oliveira, G.B.; de Castro Gomes Vieira, C.M.; Orlando, R.M.; Faria, A.F. Simultaneous determination of fumonisins B1 and B2 in different types of maize by matrix solid phase dispersion and HPLC-MS/MS. *Food Chem.* 2017, 233, 11–19.
- De Santis, B.; Debegnach, F.; Gregori, E.; Russo, S.; Marchegiani, F.; Moracci, G.; Brera, C. Development of a LC-MS/MS Method for the Multi-Mycotoxin Determination in Composite Cereal-Based Samples. *Toxins* 2017, 9, 169.

- Dong, H.; Xian, Y.; Xiao, K.; Wu, Y.; Zhu, L.; He, J. Development and comparison of single-step solid phase extraction and QuEChERS clean-up for the analysis of 7 mycotoxins in fruits and vegetables during storage by UHPLC-MS/MS. *Food Chem.* 2019, 274, 471–479
- Duan, H.; Chen, X.; Xu, W.; Fu, J.; Xiong, Y.; Wang, A. Quantum-DoT submicrobead-based immunochromatographic assay for quantitative and sensitive detection of zearalenone. *Talanta* 2015, 132, 126–131.
- El Sheikha, A.F. New Strategies for Tracing Foodstuffs: Biological Barcodes Utilising PCR-DGGE. *Adv. Food Technol. Nutr. Sci. Open J.* 2015, 1, S1–S7.
- El Masry, G.; Kamruzzaman, M.; Sun, D.-W.; Allen, P. Principles and Applications of Hyperspectral Imaging in Quality Evaluation of Agro-Food Products: A Review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2012, 52, 999–1023.
- El Masry, G.; Sun, D.W. Principles of hyperspectral imaging technology. In *Hyperspectral Imaging for Food Quality Analysis and Control*; Sun, D.W., Ed.; Elsevier: London, UK, 2010; pp. 3–43.
- Elmulle, B.S.; De Saeger, S.; Adams, A.; De Kimpe, N.; Van Peteghem, C. Development of a liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for the simultaneous determination of 16 mycotoxins on cellulose filters and in fungal cultures. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2006, 20, 771–776.
- Eskilsson, C.S.; Björklund, E. Analytical-scale microwave-assisted extraction. *J. Chromatogr. A* 2000, 902, 227–250.
- Eyring, P.; Tienstra, M.; Mol, H.; Herrmann, S.S.; Rasmussen, P.H.; Frandsen, H.L.; Poulsen, M.E. Development of a new generic extraction method for the analysis of pesticides, mycotoxins, and polycyclic aromatic hydrocarbons in representative animal feed and food samples. *Food Chem.* 2021,
- Ezekwesili-Ofili, J.; Onyemelukwe, N.; Agwaga, P.; Orji, I. The Bioload and Aflatoxin Content of Herbal Medicines from Selected States in Nigeria. *Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med.* 2014, 11, 143–147.
- Fang, L.; Tian, M.; Yan, X.; Xiao, W. Isolation of Aflatoxin B1 from Moldy Foods by Solid-Phase Extraction Combined with Bifunctional Ionic Liquid-Based Silicas. *J. Anal. Methods Chem.* 2018, 2018, 8427580.

- Femenias, A.; Gatiús, F.; Ramos, A.J.; Sanchis, V.; Marín, S. Use of hyperspectral imaging as a tool for Fusarium and deoxynivalenol risk management in cereals: A review. *Food Contr.* 2020, 108, 106819.
- Ferreira, A.A.P.; Venturini, C.; Castilho, M.D.S.; Canaverolo, N.; Vinicius, M.; Dos Santos, G.P.; Sadao, C.; Vicente, A.; Yamanak, H. Amperometric Biosensor for Diagnosis of Disease; InTech: Rijeka, Croatia, 2013; pp. 253–289.
- Flores-Flores, M.E.; González-Peñas, E. An LC–MS/MS method for multi-mycotoxin quantification in cow milk. *Food Chem.* 2017, 218, 378–385.
- Gab-Allah, M.A.; Tahoun, I.F.; Yamani, R.N.; Rend, E.A.; Shehata, A.B. Eco-friendly and sensitive analytical method for determination of T-2 toxin and HT-2 toxin in cereal products using UPLC-MS/MS. *J. Food Compos. Anal.* 2022, 107, 104395.
- Gámiz-Gracia, L.; García-Campaña, A.M. Simple determination of aflatoxins in rice by ultra-high performance liquid chromatography coupled to chemical post-column derivatization and fluorescence detection. *Food Chem.* 2018 31677-1
- Gu, Y.; Wang, Y.; Wu, X.; Pan, M.; Hu, N.; Wang, J.; Wang, S. Quartz crystal microbalance sensor based on covalent organic framework composite and molecularly imprinted polymer of poly(o-aminothiophenol) with gold nanoparticles for the determination of aflatoxin B1. *Sens. Actuators B Chem.* 2019, 291, 293–297.
- Gu, Y.; Wang, Y.; Wu, X.; Pan, M.; Hu, N.; Wang, J.; Wang, S. Quartz crystal microbalance sensor based on covalent organic framework composite and molecularly imprinted polymer of poly(o-aminothiophenol) with gold nanoparticles for the determination of aflatoxin B1. *Sens. Actuators B Chem.* 2019, 291, 293–297
- Guo, W.; Fan, K.; Nie, D.; Meng, J.; Huang, Q.; Yang, J.; Shen, Y.; Tangni, E.K.; Zhao, Z.; Wu, Y.; et al. Development of a QuEChERS-Based UHPLC-MS/MS Method for Simultaneous Determination of Six Alternaria Toxins in Grapes. *Toxins* 2019, 11, 87.
- Gürsoy, N.; Sırtbaşı, B.; Şimşek, S.; Elik, A.; Altunay, N. Optimization and application of ultrasound-assisted sugar based deep eutectic solvent dispersive liquid–liquid microextraction for the determination and extraction of aflatoxin M1 in milk samples. *Microchem. J.* 2022

- Habler, K.; Gotthardt, M.; Schöler, J.; Rychlik, M. Multi-mycotoxin stable isotope dilution LC—MS/MS method for *Fusarium* toxins in beer. *Food Chem.* 2017, 218, 447–454.
- Hamed, A.M.; Arroyo-Manzanares, N.; García-Campaña, A.M.; Gámiz-Gracia, L. Determination of *Fusarium* toxins in functional vegetable milks applying salting-out-assisted liquid–liquid extraction combined with ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Food Addit. Contam. Part A* 2017, 34, 2033–2041.
- Hammond, J.L.; Formisano, N.; Carrara, S.; Tkac, J. Electrochemical biosensors and nanobiosensors. *Essays Biochem.* 2016, 60, 69–80.
- Han, Z.; Jiang, K.; Fan, Z.; Di Mavungu, J.D.; Dong, M.; Guo, W.; Fan, K.; Campbell, K.; Zhao, Z.; Wu, Y. Multi-walled carbon nanotubes-based magnetic solid-phase extraction for the determination of zearalenone and its derivatives in maize by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Control* 2017, 79, 177–184.
- Han, Z.; Ren, Y.; Zhu, J.; Cai, Z.; Chen, Y.; Luan, L.; Wu, Y. Multianalysis of 35 Mycotoxins in Traditional Chinese Medicines by Ultra-High-Performance Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Coupled with Accelerated Solvent Extraction. *J. Agric. Food Chem.* 2012, 60, 8233–8247.
- Hayat, A.; Paniel, N.; Rhouati, A.; Marty, J.-L.; Barthelmebs, L. Recent advances in ochratoxin A-producing fungi detection based on PCR methods and ochratoxin A analysis in food matrices. *Food Contr.* 2012, 26, 401–415.
- He, B.; Dong, X. Aptamer based voltammetric patulin assay based on the use of ZnO nanorods. *Microchim. Acta* 2018, 185, 462.
- He, B.; Yan, X. A “signal-on” voltammetric aptasensor fabricated by hcPt@AuNFs/PEI-rGO and Fe₃O₄NRs/rGO for the detection of zearalenone. *Sens. Actuators B Chem.* 2019, 290, 477–483.
- He, B.; Yan, X. An amperometric zearalenone aptasensor based on signal amplification by using a composite prepared from porous platinum nanotubes, gold nanoparticles and thionine-labelled graphene oxide. *Microchim. Acta* 2019, 186, 383.

- He, Q.; Peng, H.; Yang, J.; Xu, Z.; Fan, C.; Sun, Y. QuEChERS extraction followed by enzyme-linked immunosorbent assay for determination of deoxynivalenol and zearalenone in cereals. *Food Agric. Immunol.* 2017
- Hidalgo-Ruiz, J.L.; Romero-González, R.; Vidal, J.L.M.; Frenich, A.G. A rapid method for the determination of mycotoxins in edible vegetable oils by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Chem.* 2019, 288, 22–28.
- Hidalgo-Ruiz, J.L.; Romero-González, R.; Vidal, J.L.M.; Frenich, A.G. A rapid method for the determination of mycotoxins in edible vegetable oils by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Chem.* 2019, 288, 22–28.
- Hleba, L.; Císarová, M.; Shariati, M.A.; Tancinová, D. Detection of mycotoxins using MALDI-TOF Mass Spectrometry. *J. Microbiol. Biotechnol. Food Sci.* 2017, 7, 181–185.
- Hossain, M.Z.; Maragos, C.M. Gold nanoparticle-enhanced multiplexed imaging surface plasmon resonance (iSPR) detection of Fusarium mycotoxins in wheat. *Biosens. Bioelectron.* 2018, 101, 245–252.
- Hossain, Z.; Busman, M.; Maragos, C.M. Immunoassay utilizing imaging surface plasmon resonance for the detection of cyclopiazonic acid (CPA) in maize and cheese. *Anal. Bioanal. Chem.* 2019, 411, 3543–3552.
- Hossain, Z.; McCormick, S.; Maragos, C.M. An Imaging Surface Plasmon Resonance Biosensor Assay for the Detection of T-2 Toxin and Masked T-2 Toxin-3-Glucoside in Wheat. *Toxins* 2018, 10, 119.
- Hu, J.; Liang, M.; Xian, Y.; Chen, R.; Wang, L.; Hou, X.; Wu, Y. Development and validation of a multianalyte method for quantification of aflatoxins and bongkrekic acid in rice and noodle products using PRiME-UHPLC-MS/MS method. *Food Chem.* 2022, 395, 133598.
- Irakli, M.; Skendi, A.; Papageorgiou, M. HPLC-DAD-FLD Method for Simultaneous Determination of Mycotoxins in Wheat Bran. *J. Chromatogr. Sci.* 2017, 55, 690–696.
- Janik, E.; Niemcewicz, M.; Podogrocki, M.; Ceremuga, M.; Gorniak, L.; Stela, M.; Bijak, M. The Existing Methods and Novel Approaches in Mycotoxins' Detection. *Molecules* 2021

- Jayasinghe, G.D.T.M.; Domínguez-González, R.; Bermejo-Barrera, P.; Moreda-Piñeiro, A. Ultrasound assisted combined molecularly imprinted polymer for the selective micro-solid phase extraction and determination of aflatoxins in fish feed using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 2020.
- Jeleń, H.; Wasowicz, E. Determination of trichothecenes in wheat grain without sample cleanup using comprehensive two-dimensional gas chromatography–time-of-flight mass spectrometry. *J. Chromatogr.* 2008, 1215, 203–207.
- Ji, X.; Deng, T.; Xiao, Y.; Jin, C.; Lyu, W.; Wu, Z.; Wang, W.; Wang, X.; He, Q.; Yang, H. Emerging *Alternaria* and *Fusarium* mycotoxins in tomatoes and derived tomato products from the China market: Occurrence, methods of determination, and risk evaluation. *Food Control* 2023, 145, 109464.
- Jia, W.; Liang, G.; Tian, H.; Sun, J.; Wan, C. Electronic Nose-Based Technique for Rapid Detection and Recognition of Moldy Apples. *Sensors* 2019, 19, 1526.
- Joshi, S.; Segarra-Fas, A.; Peters, J.; Zuilhof, H.; Van Beek, T.A.; Nielen, M.W.F. Multiplex surface plasmon resonance biosensing and its transferability towards imaging nanoplasmonics for detection of mycotoxins in barley. *Analyst* 2016, 141, 1307–1318.
- Karami-Osboo, R.; Maham, M. Pre-Concentration and Extraction of Aflatoxins from Rice Using Air-Assisted Dispersive Liquid–Liquid Microextraction. *Food Anal. Methods* 2018.
- Karczmarczyk, A.; Baeumner, A.J.; Feller, K.-H. Rapid and sensitive inhibition-based assay for the electrochemical detection of Ochratoxin A and Aflatoxin M1 in red wine and milk. *Electrochim. Acta* 2017, 243, 82–89.
- Karczmarczyk, A.; Haupt, K.; Feller, K.-H. Development of a QCM-D biosensor for Ochratoxin A detection in red wine. *Talanta* 2017, 166, 193–197.
- Khan, R.; Ben Aissa, S.; Sherazi, T.A.; Catanante, G.; Hayat, A.; Marty, J.L. Development of an Impedimetric Aptasensor for Label Free Detection of Patulin in Apple Juice. *Molecules* 2019, 24, 1017.
- Kim, N.-H.; Hong, S.-Y.; Kang, J.W.; Cho, S.M.; Lee, K.R.; An, T.K.; Lee, C.; Chung, S.H. Simultaneous Determination of Multi-Mycotoxins in Cereal Grains Collected from South Korea by LC/MS/MS. *Toxins* 2017, 9, 106.

- Kleigrewe, K.; Aydin, F.; Hogrefe, K.; Piecuch, P.; Bergander, K.; Würthwein, E.-U.; Humpf, H.-U. Structure Elucidation of New Fusarins Revealing Insights in the Rearrangement Mechanisms of the Fusarium Mycotoxin Fusarin C. *J. Agric. Food Chem.* 2012, 60, 5497–5505.
- Lai, X.; Liu, R.; Ruan, C.; Zhang, H.; Liu, C. Occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in rice samples from six provinces in China. *Food Control* 2015, 50, 401–404.
- Lattanzio, V.M.T.; Ciasca, B.; Powers, S.; Visconti, A. Improved method for the simultaneous determination of aflatoxins, ochratoxin A and Fusarium toxins in cereals and derived products by liquid chromatography–tandem mass spectrometry after multi-toxin immunoaffinity clean up. *J. Chromatogr. A* 2014, 1354, 139–143.
- Lhotská, I.; Gajdošová, B.; Solich, P.; Šatínský, D. Molecularly imprinted vs. reversed-phase extraction for the determination of zearalenone: A method development and critical comparison of sample clean-up efficiency achieved in an on-line coupled SPE chromatography system. *Anal. Bioanal. Chem.* 2018, 410, 3265–3273.
- Li, R.; Meng, C.; Wen, Y.; Fu, W.; He, P. Fluorometric lateral flow immunoassay for simultaneous determination of three mycotoxins (aflatoxin B1, zearalenone and deoxynivalenol) using quantum dot microbeads. *Microchim. Acta* 2019, 186, 748.
- Li, X.; Li, H.; Ma, W.; Guo, Z.; Li, X.; Li, X.; Zhang, Q. Determination of patulin in apple juice by single-drop liquid-liquid-liquid microextraction coupled with liquid chromatography-mass spectrometry. *Food Chem.* 2018
- Lin, L.; Zhang, J.; Wang, P.; Wang, Y.; Chen, J. Thin-layer chromatography of mycotoxins and comparison with other chromatographic methods. *J. Chromatogr. A* 1998, 815, 3–20.
- Liu, M.; Zhang, X.; Yang, B.; Deng, F.; Huang, Z.; Yang, Y.; Li, Z.; Zhang, X.; Wei, Y. Ultrabright and biocompatible AIE dye based zwitterionic polymeric nanoparticles for biological imaging. *RSC Adv.* 2014, 4, 35137–35143.
- Luo, D.; Guan, J.; Dong, H.; Chen, J.; Liang, M.; Zhou, C.; Xian, Y.; Xu, X. Simultaneous determination of twelve mycotoxins in edible oil, soy sauce and bean sauce by PRiME HLB solid phase extraction combined with HPLC-Orbitrap HRMS. *Front. Nutr.* 2022, 9, 1001671.

- Luo, J.; Vogel, R.F.; Niessen, L. Development and application of a loop-mediated isothermal amplification assay for rapid identification of aflatoxigenic molds and their detection in food samples. *Int. J. Food Microbiol.* 2012, 159, 214–224.
- Malekzad, H.; Zangabad, P.S.; Mirshekari, H.; Karimi, M.; Hamblin, M.R. Noble metal nanoparticles in biosensors: Recent studies and applications. *Nanotechnol. Rev.* 2017, 6, 301–329.
- Massarolo, K.; Ferreira, C.; Kupski, L.; Badiale-Furlong, E. Optimization of Matrix Solid-Phase Dispersion Method for Extraction of Aflatoxins from Cornmeal. *Food Anal. Methods* 2018, 11, 3342–3351
- Michèle Guilloux-Bénatier . ; S, RousseauxÉvolution des études réalisées en microbiologie au service de la qualité du vin, Territoires du vin , 12 | 2021.
- Miró-Abella, E.; Herrero, P.; Canela, N.; Arola, L.; Ras, R.; Fontanals, N.; Borrull, F. Determination of Trichothecenes in Cereal Matrices Using Subcritical Water Extraction Followed by Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Food Anal. Methods* 2018, 11, 1113–1121
- Mohebbi, A.; Nemati, M.; Mogaddam, M.A.; Farajzadeh, M.; Lotfipour, F. Dispersive micro-solid-phase extraction of aflatoxins from commercial soy milk samples using a green vitamin-based metal-organic framework as an efficient sorbent followed by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination. *J. Chromatogr. A* 2022 , 1673, 463099.
- Montagut, Y.; Garcia, J.; Jiménez, Y.; March, C.; Montoya, A.; Arnau, A. QCM Technology in Biosensors. In *Biosensors—Emerging Materials and Applications*; IntechOpen: Rijeka, Croatia, 2011; pp. 153–178.
- Nan, M.; Bi, Y.; Xue, H.; Xue, S.; Long, H.; Pu, L.; Fu, G. Rapid Determination of Ochratoxin A in Grape and Its Commodities Based on a Label-Free Impedimetric Aptasensor Constructed by Layer-by-Layer Self-Assembly. *Toxins* 2019, 11, 71.
- Nouri, N.; Sereshti, H. Electrospun polymer composite nanofiber-based in-syringe solid phase extraction in tandem with dispersive liquid-liquid microextraction coupled with HPLC-FD for determination of aflatoxins in soybean. *Food Chem.* 2019, 289, 33–39

- Oliveira, I.S.; Junior, A.G.D.S.; De Andrade, C.A.S.; Oliveira, M.D.L. Biosensors for early detection of fungi spoilage and toxigenic and mycotoxins in food. *Curr. Opin. Food Sci.* 2019, 29, 64–79.
- Oplatowska-Stachowiak, M.; Sajic, N.; Xu, Y.; Haughey, S.A.; Mooney, M.H.; Gong, Y.Y.; Verheijen, R.; Elliott, C.T. Fast and sensitive aflatoxin B1 and total aflatoxins ELISAs for analysis of peanuts, maize and feed ingredients. *Food Contr.* 2016, 63, 239–245.
- Pascale, M.; De Girolamo, A.; Lippolis, V.; Stroka, J.; Mol, H.G.J.; Lattanzio, V.M.T. Performance evaluation of LC-MS methods for multimycotoxin determination. *J. AOAC Int.* 2019, 102, 1708–1720.
- Paschoal, F.N.; de Azevedo Silva, D.; von Sperling de Souza, R.; de Oliveira, M.S.; Pereira, D.A.A.; de Souza, S.V.C. A Rapid Single-Extraction Method for the Simultaneous Determination of Aflatoxins B1, B2, G1, G2, Fumonisin B1, and Zearalenone in Corn Meal by Ultra Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *Food Anal. Methods* 2017, 10, 1631–1644.
- Pereira, V.; Fernandes, J.O.; Cunha, S.C. Mycotoxins in cereals and related foodstuffs: A review on occurrence and recent methods of analysis. *Trends Food Sci. Technol.* 2014, 36, 96–136.
- Pereira, V.; Fernandes, J.O.; Cunha, S.C. Mycotoxins in cereals and related foodstuffs: A review on occurrence and recent methods of analysis. *Trends Food Sci. Technol.* 2014, 36, 96–136.
- Perumal, V.; Hashim, U. Advances in biosensors: Principle, architecture and applications. *J. Appl. Biomed.* 2014, 12, 1–15.
- Pirinçci, S.; Ertekin, Ö.; Laguna, D.E.; Özen, F.S.; Ozturk, Z.Z.; Öztürk, S. Label-Free QCM Immunosensor for the Detection of Ochratoxin A. *Sensors* 2018, 18, 1161.
- Rehmat, Z.; Mohammed, W.; Sadiq, M.B.; Somarapalli, M.; Anal, A.K. Ochratoxin A detection in coffee by competitive inhibition assay using chitosan-based surface plasmon resonance compact system. *Colloids Surf.B Biointerfaces* 2019, 174, 569–574.
- Rico-Yuste, A.; Walravens, J.; Urraca, J.L.; Abou-Hany, R.A.G.; Descalzo, A.B.; Orellana, G.; Rychlik, M.; De Saeger, S.; MorenoBondi, M.C. Analysis of alternariol and alternariol monomethyl ether in foodstuffs by molecularly imprinted solid-phase extraction and ultra-

- high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Food Chem.* 2018 ,243, 357–364.
- Rodríguez-Carrasco, Y.; Berrada, H.; Font, G.; Mañes, J. Multi-mycotoxin analysis in wheat semolina using an acetonitrile-based extraction procedure and gas chromatography–tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 2012, 1270, 28–40.
- Salim, S.A.; Sukor, R.; Ismail, M.N.; Selamat, J. Dispersive Liquid-Liquid Microextraction (DLLME) and LC-MS/MS Analysis for Multi-Mycotoxin in Rice Bran: Method Development, Optimization and Validation. *Toxins* 2021,)
- Sanaeifar, A.; Zakidizaji, H.; Jafari, A.; De La Guardia, M. Early detection of contamination and defect in foodstuffs by electronic nose: A review. *TrAC Trends Anal. Chem.* 2017, 97, 257–271.
- Schulz, K.; Pöhlmann, C.; Dietrich, R.; Märklbauer, E.; Elßner, T. Electrochemical Biochip Assays Based on Anti-idiotypic Antibodies for Rapid and Automated On-Site Detection of Low Molecular Weight Toxins. *Front. Chem.* 2019, 7, 31.
- Serkova, N.J.; Brown, M.S. Quantitative analysis in magnetic resonance spectroscopy: From metabolic profiling to in vivo biomarkers. *Bioanalysis* 2012, 4, 321–341.
- Soares, R.R.G.; Ricelli, A.; Fanelli, C.; Caputo, D.; De Cesare, G.; Chu, V.; Aires-Barros, M.R.; Conde, J.P. Advances, challenges and opportunities for point-of-need screening of mycotoxins in foods and feeds. *Analyst* 2018, 143, 1015–1035.
- Soldano, C.; Mahmood, A.; Dujardin, E. Production, properties and potential of graphene. *Carbon* 2010, 48, 2127–2150
- Somsuksin, S.; Seebunrueng, K.; Boonchiangma, S.; Srijaranai, S. A simple solvent based microextraction for high performance liquid chromatographic analysis of aflatoxins in rice samples. *Talanta* 2018
- Song, S.; Liu, N.; Wu, A.-B.; Ediage, E.N.; Wu, S.; Sun, C.; De Saeger, S.; Wu, A. Multiplex Lateral Flow Immunoassay for Mycotoxin Determination. *Anal. Chem.* 2014, 86, 4995–5001.
- Spanjer, M.C.; Rensen, P.M.; Scholten, J.M. LC–MS/MS multi-method for mycotoxins after single extraction, with validation data for peanut, pistachio, wheat, maize, cornflakes, raisins and figs. *Food Addit. Contam. Part A* 2008, 25, 472–489.

- Stoller, M.D.; Park, S.; Zhu, Y.; An, J.; Ruoff, R.S. Graphene-Based Ultracapacitors. *Nano Lett.* 2008, 8, 3498–3502.
- Stroka, J.; Maragos, C.M. Challenges in the analysis of multiple mycotoxins. *World Mycotoxin J.* 2016, 9, 847–861.
- Sun, M.; Xu, D.; Wang, S.; Uchiyama, K. Inkjet-Based Dispersive Liquid–Liquid Microextraction Method Coupled with UHPLC– MS/MS for the Determination of Aflatoxins in Wheat. *Anal. Chem.* 2019
- Tang, J.; Huang, Y.; Cheng, Y.; Huang, L.; Zhuang, J.; Tang, D. Two-dimensional MoS₂ as a nano-binder for ssDNA: Ultrasensitive aptamer based amperometric detection of Ochratoxin A. *Microchim. Acta* 2018, 185, 162.
- Tekle, S.; Måge, I.; Segtnan, V.H.; Bjørnstad, A. Near-Infrared Hyperspectral Imaging of Fusarium-Damaged Oats (*Avena sativa* L.). *Cereal Chem. J.* 2015, 92, 73–80.
- Tölgyesi, Á.; Stroka, J.; Tamošiunas, V.; Zwickel, T. Simultaneous analysis of *Alternaria* toxins and citrinin in tomato: An optimised method using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Addit. Contam. Part A* 2015, 32, 1512–1522.
- Tsai, J.-J.; Lai, Y.-T.; Chen, Y.-C. Using Solid-Phase Microextraction Coupled with Reactive Carbon Fiber Ionization-Mass Spectrometry for the Detection of Aflatoxin B₁ from Complex Samples. *Separations* 2022, 9, 199
- Urusov, A.; Zherdev, A.V.; Petrakova, A.V.; Sadykhov, E.G.; Koroleva, O.V.; Dzantiev, B.B. Rapid Multiple Immunoenzyme Assay of Mycotoxins. *Toxins* 2015, 7, 238–254.
- Valenta, H. Chromatographic methods for the determination of ochratoxin A in animal and human tissues and fluids. *J. Chromatogr. A* 1998, 815, 75–92.
- Vidal, J.C.; Bonel, L.; Ezquerro, A.; Hernandez, S.; Bertolín, J.R.; Cubel, C.; Castillo, J.R. Electrochemical affinity biosensors for detection of mycotoxins: A review. *Biosens. Bioelectron.* 2013, 49, 146–158.
- Wang, H.; Liu, G. Advances in luminescent materials with aggregation-induced emission (AIE) properties for biomedical applications. *J. Mater. Chem. B* 2018, 6, 4029–4042.
- wei, D.; Pan, A.; Zhang, C.; Guo, M.; Lou, C.; Zhang, J.; Wu, H.; Wang, X. Fast extraction of aflatoxins, ochratoxins and enniatins from maize with magnetic covalent organic framework prior to HPLC-MS/MS detection. *Food Chem.* 2023, 404, 134464.

- Woo, S.Y.; Ryu, S.; Tian, F.; Lee, S.Y.; Park, S.; Chun, H.S. Simultaneous Determination of Twenty Mycotoxins in the Korean Soybean Paste Doenjang by LC-MS/MS with Immunoaffinity Cleanup. *Toxins* 2019, 11, 594.
- Wu, F.; Xu, C.; Jiang, N.; Wang, J.; Ding, C.-F. Poly (methacrylic acid-co-diethenyl-benzene) monolithic microextraction column and its application to simultaneous enrichment and analysis of mycotoxins. *Talanta* 2018, 178, 1–8
- Xiang, Y.; Camarada, M.B.; Wen, Y.; Wu, H.; Chen, J.; Li, M.; Liao, X. Simple voltammetric analyses of ochratoxin A in food samples using highly-stable and anti-fouling black phosphorene nanosensor. *Electrochim. Acta* 2018, 282, 490–498.
- Xu, L.; Zhang, Z.; Zhang, Q.; Li, P. Mycotoxin Determination in Foods Using Advanced Sensors Based on Antibodies or Aptamers. *Toxins* 2016, 8, 239.
- Xu, Y.-J.; Wang, C.; Ho, W.E.; Ong, C.N. Recent developments and applications of metabolomics in microbiological investigations. *TrAC Trends Anal. Chem.* 2014, 56, 37–48.
- Yagati, A.K.; Chavan, S.G.; Baek, C.; Lee, M.-H.; Min, J. Label-Free Impedance Sensing of Aflatoxin B1 with Polyaniline Nanofibers/Au Nanoparticle Electrode Array. *Sensors* 2018, 18, 1320.
- Ye, Z.; Cui, P.; Wang, Y.; Yan, H.; Wang, X.; Han, S.; Zhou, Y. Simultaneous Determination of Four Aflatoxins in Dark Tea by Multifunctional Purification Column and Immunoaffinity Column Coupled to Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 2019, 67, 11481–1
- Yu, Q.; Li, H.; Li, C.; Zhang, S.; Shen, J.; Wang, Z. Gold nanoparticles-based lateral flow immunoassay with silver staining for simultaneous detection of fumonisin B1 and deoxynivalenol. *Food Control* 2015, 54, 347–352.
- Zhang, J.K.; Kaushik Banerjee. A Review: Sample Preparation and Chromatographic Technologies for Detection of Aflatoxins in Foods. *Toxins* 2020, 12, 20740
- Zhang, J.; Chen, F.; He, Z.; Ma, Y.; Uchiyama, K.; Lin, J.M. A novel approach for precisely controlled multiple cell patterning in microfluidic chips by inkjet printing and the detection of drug metabolism and diffusion. *Analyst* 2016

- Zhang, L.; Dou, X.-W.; Zhang, C.; Logrieco, A.; Yang, M. A Review of Current Methods for Analysis of Mycotoxins in Herbal Medicines. *Toxins* 2018, 10, 65.
- Zhang, X.; Li, C.-R.; Wang, W.-C.; Xue, J.; Huang, Y.-L.; Yang, X.-X.; Tan, B.; Zhou, X.-P.; Shao, C.; Ding, S.-J.; et al. A novel electrochemical immunosensor for highly sensitive detection of aflatoxin B1 in corn using single-walled carbon nanotubes/chitosan. *Food Chem.* 2016, 192, 197202.
- Zhao, H.; Chen, X.; Shen, C.; Qu, B. Determination of 16 mycotoxins in vegetable oils using a QuEChERS method combined with high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Food Addit. Contam. Part A* 2016, 34, 1–10.
- Zhao, R.; An, J.; Sun, Y.; He, L.; Jiang, X.; Zhang, S. A simple and low-cost sample preparation for the effective extraction, purification and enrichment of aflatoxins in wheat by combining with ionic liquid-based dispersive liquid–liquid microextraction. *Microchem. J.* 2021, 160, 105626.
- Zhou, N.-Z.; Liu, P.; Su, X.-C.; Liao, Y.-H.; Lei, N.-S.; Liang, Y.-H.; Zhou, S.-H.; Lin, W.-S.; Chen, J.; Feng, Y.-Q.; et al. Low-cost humic acid-bonded silica as an effective solid-phase extraction sorbent for convenient determination of aflatoxins in edible oils. *Anal. Chim. Acta* 2017,
- Zhu, Y.; Xia, X.; Deng, S.; Yan, B.; Dong, Y.; Zhang, K.; Deng, R.; He, Q. Label-free fluorescent aptasensing of mycotoxins via aggregation-induced emission dye. *Dye. Pigment.* 2019, 170, 107572.