

REVIEW ARTIKEL: METODE ANALISIS KONTAMINASI AFLATOKSIN DALAM PRODUK PANGAN

Adinda Putri Lestari^{1*}, Tina Rostinawati²

¹Program Studi Profesi Apoteker, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran

²Departemen Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran

adinda18004@mail.unpad.ac.id

diserahkan 13/05/2023, diterima 28/05/2023

ABSTRAK

Aflatoksin merupakan toksin bersifat karsinogenik yang dihasilkan dari spesies jamur *Aspergillus flavus*. Toksisitas dari aflatoksin berbahaya bagi kesehatan, dan telah diklasifikasikan oleh *International Agency for Research on Cancer* (IARC) sebagai senyawa kelompok 1 yang bersifat karsinogenik. Analisis dan penentuan kadarnya dalam pangan menjadi hal yang sangat penting, namun jumlahnya yang sangat sedikit dalam produk pangan menjadi suatu tantangan. Oleh karena itu dibutuhkan metode analisis yang sangat sensitif, spesifik, dan mudah dalam penanganannya. Ulasan yang dibahas memuat beberapa metode yang digunakan untuk analisis aflatoksin. Metode yang digunakan dalam penulisan *review* artikel ini, yaitu dengan studi literatur dari jurnal ilmiah nasional dan internasional yang dilakukan secara *online*. Metode yang sering digunakan dalam analisis aflatoksin diantaranya Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT), *Mass Spectroscopy*, dan berbasis *immunoassay* seperti *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Dari perbandingan masing-masing metode tersebut, terdapat kelebihan dan kekurangan dalam analisisnya. Untuk mengatasi masalah dari metode sebelumnya, dikembangkan metode pembaruan lain.

Kata Kunci: Teknik analisis, aflatoksin, produk pangan

ABSTRACT

Aflatoxin is a carcinogenic toxin produced from the Aspergillus fungus species. The toxicity of aflatoxins is harmful to health, and has been classified by the International Agency for Research on Cancer (IARC) as a group 1 compound that is carcinogenic. Analysis and assay is very important, but the small amount in food products is a challenge that must be faced. Therefore, an analysis method that is very sensitif, specific, and easy to handle is needed. The review discussed contains several methods used for aflatoxin analysis. The method used in the review of this article is literature study from national and international scientific journals. Methods often used in aflatoxin analysis include Thin Layer Chromatography (TLC), High Performance Liquid Chromatography (HPLC), Mass Spectroscopy, and immunoassay-based ones such as Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). From the comparison of each of these methods, there are advantages and disadvantages in the analysis. There are several novel methods, to solve the problem of the previous method.

Keywords: Analytical techniques, aflatoxin, foods product

PENDAHULUAN

Aflatoksin (AF) merupakan mikotoksin yang dihasilkan kapang spesies *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* atau *Aspergillus nomius*, sebagai salah satu pertahanan hidupnya jika dalam kondisi terancam. AF sering mencemari berbagai produk pangan seperti jagung, kacang-kacangan, buah kering, daging, dan produk susu. Terdapat empat AF yang umum dan beracun yaitu AFB1, AFB2, AFG1, dan AFG2. Aflatoksin tipe B dihasilkan oleh spesies *A. flavus*, sedangkan tipe G oleh spesies *A. parasiticus* (Baranyi *et al.*, 2015). AFB1 merupakan aflatoksin yang termasuk kedalam agen karsinogenik grup 1 pada manusia dan dapat menyebabkan masalah kesehatan serius berdasarkan *International Agency for Research on Cancer*.

Batas aman AF yang masih dapat dikonsumsi sekitar 4–30 µg/kg. Di Eropa sendiri diperketat untuk AFB1 dan AF total, masing-masing tidak lebih 2 µg/kg dan 4 µg/kg (European Commission, 2010). Jika konsumsinya melebihi batas, dapat terakumulasi dalam organ hati dan menyebabkan hepatotoksitas. Gejala awal meliputi demam, *malaise*, muntah, sakit perut, hingga anoreksia dan hepatitis. Kondisi yang lebih kronis dapat menyebabkan penekanan sistem imun dan efek karsinogenik (Benkerroum, 2020).

Ulasan ini memuat pembahasan mengenai berbagai metode analisis kontaminasi aflatoksin dalam produk pangan, menggunakan metode yang umum hingga metode terbaru yang lebih efektif, sensitif, cepat, dan efisien.

METODE

Metode yang digunakan pada review artikel ini diperoleh dengan pencarian secara daring menggunakan aplikasi Google Chrome pada situs Google Scholar dengan kata kunci

“*Aflatoxin detection in food*”, “*Method of aflatoxin analysis*”, “*Novel approach aflatoxin analysis*”, dan “*Immunoassay detection for aflatoxin*”. Sumber yang didapat berasal dari jurnal internasional dan jurnal nasional. Kemudian jurnal-jurnal tersebut dipilih berdasarkan kriteria inklusi yaitu memuat artikel berbahasa Inggris dan Indonesia yang diterbitkan pada 10 tahun terakhir berupa artikel publikasi, artikel *review*, dan artikel pendukung yang membahas mengenai metode analisis aflatoksin dalam pangan. Kriteria eksklusi meliputi artikel yang bukan memuat metode analisis aflatoksin dalam pangan dan tidak relevan terhadap tinjauan. Dari hasil tersebut, didapat sebanyak 25 artikel yang memenuhi kriteria inklusi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Metode Analisis Aflatoksin Secara Umum

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan teknik tertua dalam analisis AF. Metode yang sering digunakan meliputi; Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) (Fitriana & Sulistyaningsih, 2019), *Liquid Chromatography Mass Spectroscopy* (LC-MS) (Sulyok *et al.*, 2015) dan *Immunochemical Method* seperti *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*/ ELISA; *Radioimmunoassay*/ RIA; *Lateral Flow Devices*/ *Immunodipsticks*; dan *Immunosensors* (Andrade *et al.*, 2013). Metode lain seperti KLT Densitometri (Trasia, 2020), *Gas Chromatography* (GC), metode spektroskopi (*Fluorescence Spectrophotometry* dan *Frontier Infrared Spectroscopy*) (Wacoo *et al.*, 2014).

Metode-metode tersebut masih memunculkan keterbatasan dalam penggunaannya, seperti tidak cocok untuk penggunaan yang cepat dan *real-time*, membutuhkan waktu yang lama dan personil yang terampil dalam mengoperasikannya (Tao *et al.*, 2020).

Penanganan Aflatoksin

a. Sampling

Preparasi sampel mempengaruhi hasil penentuan aflatoksin dalam tingkat bagian per juta (bpj) dan sampling harus mewakili keseluruhan.

b. Preparasi dan Ekstraksi Aflatoksin dari Sampel

Aflatoksin larut dalam pelarut protik yang polar seperti asetonitril, aseton, metanol, dan kloroform. Metode *immunoassay* membutuhkan ekstraksi dengan pelarut metanol:air (8:2), karena metanol bersifat *inert* terhadap antibodi dibandingkan aseton atau asetonitril dan antibodi tahan pada konsentrasi metanol yang lebih tinggi (Ketney *et al.*, 2017; Wacoo *et al.*, 2014).

1. Ekstraksi Cair-Cair (ECC)

ECC merupakan metode sederhana dan murah. Metodenya didasarkan sifat kelarutan toksin dalam fase organik atau fase air. Kerugian dari ECC yaitu analit yang didapat tidak cukup bersih (Miklós *et al.*, 2020).

2. Ekstraksi Padat-Cair (Leaching)

Sampel dihancurkan terlebih dahulu menggunakan *shaker*, *blender*, *ultra-turrax*, dan *vortex*. Pelarut yang digunakan yaitu air:asetonitril atau air:metanol. Metode ini dapat digunakan untuk matriks dengan konsistensi berbeda, namun metode ini memerlukan langkah pemurnian lebih lanjut (Miklós *et al.*, 2020).

3. Ultrasound Extraction

Dilakukan dengan merendam wadah berisi sampel dengan pelarut dalam *ultrasonic bath* berisi air. Dalam beberapa menit, *acoustic cavitation* yang diinduksi *ultrasound* akan meningkatkan transfer analit dan komponen matriks dari sampel ke pelarut, sehingga efisiensi ekstraksi meningkat.

Kekurangannya, efisiensi ekstraksi meningkat hanya pada beberapa sampel (Xie *et al.*, 2016).

4. Pressurized Liquid Extraction (PLE)

PLE merupakan *Leaching* yang dilakukan pada tekanan dan suhu tinggi didalam bejana yang kuat. Keuntungannya proses ekstraksi otomatis, efisiensi ekstraksi lebih tinggi dalam waktu singkat dan pelarut lebih sedikit, namun harganya sangat mahal (Xie *et al.*, 2016).

5. Solid-Phase Extraction (SPE)

SPE dilakukan sebelum analisis kualitatif dan kuantitatif dalam instrumen. Sampel dimasukan ke *cartridge* yang dikemas dengan *adsorbent* sesuai analit, kemudian dipisahkan dengan proses elusi menggunakan pelarut organik (Ketney *et al.*, 2017). Jenis SPE khusus yaitu *Solid-Phase Micro Extraction* (SPME). SPME membutuhkan serapan dan desorpsi yang mudah diotomatisasi, kompatibel untuk kromatografi, *high enrichment*, spesifitas dapat dijamin, dan memerlukan sedikit sampel (Miklós *et al.*, 2020).

6. Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe method (QuEChERS)

Metode ini mencakup 2 langkah yaitu ekstraksi dan partisi, bersamaan menggunakan asetonitril dan garam, kemudian dilakukan tahap pembersihan menggunakan *dispersive Solid-Phase Extraction* (dSPE) (Arroyo-Manzanares *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2018). Tahap pemurnian dilakukan untuk menghilangkan matriks secara keseluruhan menggunakan pelarut asetonitril, dan sorben berbeda. Metode ini melengkapi metode *Immunoaffinity Columns* (IAC) untuk hasil yang memuaskan dan mengurangi biaya penggunaan (Michlig *et al.*, 2016; Rodríguez-Carrasco *et al.*, 2018).

7. *Magnetic Nanoparticles Based Solid Phase Extraction (MSPE)*

MSPE merupakan metode ekstraksi padat berbasis nanopartikel magnetik menggunakan adsorben magnetik. Deteksi ini sederhana dan sensitif untuk kemudian dideteksi menggunakan spektrofotometri. Namun teknik ini memerlukan langkah pemurnian lanjutan (Zhao *et al.*, 2016).

c. *Tahap pembersihan (Clean-up)*

Tahap pembersihan biasa dilakukan menggunakan *Immunoaffinity Columns* (IAC). IAC didasarkan pada pengikatan toksin dari oleh antibodi spesifik, seperti antibodi monoklonal IgA MAM-D12E2 untuk deteksi AF (Ertekin *et al.*, 2016). IAC dinilai efisien, mudah digunakan dan memiliki selektivitas tinggi seperti pada analisis sampel susu. Setelah *pretreatment*, sampel susu tidak perlu diekstraksi dan dapat langsung menggunakan kolom IAC untuk analisis kandungan AFM1. Namun IAC hanya dapat digunakan sekali karena terjadi denaturasi antibodi selama elusi, oleh karena itu memerlukan biaya tinggi (Ketney *et al.*, 2017; Wacoo *et al.*, 2014).

Selain IAC, *one-step multifunctional clean-up columns* (Mycosep™) juga umum digunakan. Mycosep™ lebih cepat menghilangkan matriks. Perbedaan signifikan antara Mycosep™ dengan SPE atau IAC yaitu kolom Mycosep™ akan mengelusi analit, sedangkan matriks dipertahankan dalam kolom. Pada kolom SPE atau IAC, analitnya yang akan dipertahankan didalam kolom. Karena yang terjerap dalam kolom merupakan molekul protein yang mengandung epitope yang dikenali antibodi, IAC memiliki *resolving power* yang sangat tinggi, selain itu IAC menghasilkan protein murni dengan satu langkah dan mampu mengikat protein dari larutan yang sangat encer (Hussain, 2011).

d. *Tahap Analisis*

TEKNIK KROMATOGRAFI

1. *Kromatografi Lapis Tipis (KLT)*

KLT menjadi teknik standar berdasarkan *Association of Official Analytical Chemist* (AOAC). Fase diamnya berupa silika, alumina, atau selulosa yang ditempelkan pada kaca atau plastik. Fase geraknya kombinasi metanol:asetonitril:air. Distribusi aflatoxin dalam fase diam atau fase gerak, didasarkan pada perbedaan kelarutan analit diantara dua fase.

Keuntungan KLT yaitu mendeteksi beberapa jenis mikotoksin dalam sampel tunggal, kuantifikasi yang baik, akurasi dan presisi yang sebanding dengan HPLC. Kekurangannya, dibutuhkan teknisi terampil, *pretreatment* sampel, memakan waktu, peralatan banyak, dan analisis sampel tunggal (Wacoo *et al.*, 2014; Yao *et al.*, 2015).

2. *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)*

Sistem HPLC fase terbalik sering digunakan untuk penentuan aflatoxin, fase diam kolom silika 15 cm yang terikat pada C-18, fase gerak asetonitril: air: metanol (10:50:40), kecepatan alir 0,8 ml/menit, pada suhu ruang, dan volume injeksi 10 µl, konsentrasi yang digunakan 0,044 mg/ml. Detektor yang digunakan berupa *fluorescent detector* (FLD).

Keuntungannya HPLC dengan FLD yaitu mampu menentukan AF pada konsentrasi rendah dalam satuan µg/kg, dan reagen untuk pengukuran lebih sensitif. Namun perlu dilakukan derivatisasi pasca kolom secara berurutan untuk meningkatkan fluoresensi AFB1 dan AFG1 (Gazioğlu & Kolak, 2015; Jaimez *et al.*, 2000).

3. *Gas Chromatography (GC)*

Analisis mikotoksin dengan metode ini

didasarkan pada afinitas analit yang berbeda antara fase gerak (gas pembawa) dan fase diam yang berupa partikel padat *inert* yang dilapisi cairan yang disimpan dalam tabung panjang *stainless steel* atau kaca berupa kolom. Sampel diuapkan menjadi gas dan dibawa melalui fase diam oleh gas pembawa. Komponen dengan afinitas tinggi pada kolom akan bergerak lambat. Detektor berupa *Flame Ionization Detector* (FID) atau *Electron Capture Detector* (ECD) dan *Mass Spectrometer* (MS). Meskipun lebih murah dibandingkan HPLC dan LC-MS, metode ini masih jarang digunakan secara komersil dalam analisis aflatoksin secara langsung Keterbatasan analisis aflatoksin dengan metode ini seperti sifat aflatoksin yang non-volatil (perlu derivatisasi pra kolom), kurva kalibrasi non-linear, *respons drifting*, dan adanya efek dari sampel sebelumnya (Jiménez Medina *et al.*, 2021; Wacoo *et al.*, 2014).

TEKNIK GABUNGAN

Mass Spectrometry (MS)

Metode MS sering digabungkan dengan *Liquid Chromatography* (LC) berupa LC-MS atau LC-MS/MS dalam mendeteksi AFM1 pada produk susu. Tujuannya untuk uji konfirmasi, karena keuntungannya dalam menghasilkan spektrum dengan pola fragmentasi yang khas (Ketney, *et al.*, 2017).

Keuntungannya yaitu analisis yang simultan untuk mikotoksin, sebagai uji konfirmasi, LOD yang rendah, dan tidak memerlukan derivatisasi. Namun, alatnya mahal, sensitivitas bergantung pada ionisasi, perlu kalibrasi untuk analisis kuantitatif, dan tidak memiliki standar internal (Yao, *et al.*, 2015; Li, *et al.*, 2013).

TEKNIK YANG LEBIH CEPAT

Marker

Marker yang digunakan diantaranya enzim,

radioisotope, *fluophores*, *gold nanoparticles* dan komponen optik sensitif serta komponen elektrokimia lainnya (Mataboro, *et al.*, 2017).

1. *Enzyme label Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)*

ELISA dapat digunakan untuk penentuan mikotoksin secara kualitatif atau kuantitatif, berdasarkan interaksi antara antigen dengan antibodi spesifik. Biasanya tipe *direct competitive* ELISA digunakan untuk mendeteksi Aflatoksin. Penggunaan ELISA kit berbasis imunoassay kompetitif telah digunakan secara luas (Miklós *et al.*, 2020; Vaz *et al.*, 2020). Turkoglu & Keyvan pada tahun 2019 menemukan adanya kontaminasi AFM1 sebanyak 19,54 ng/L pada sampel susu yang dideteksi menggunakan teknik ELISA (Turkoglu & Keyvan, 2019).

Elisa dinilai sebagai metode yang murah, cepat, penggunaan sampel lebih sedikit, preparasi sampel relatif lebih mudah dibandingkan metode HPLC. Namun, akurasi ELISA terkadang dipengaruhi oleh matriks pengganggu, sifat mikotoksin, sifat bahan, dan preparasi sampel yang menjadikan metode ini perlu dilakukan pemisahan sebelumnya. Interfensi matriks dapat menyebabkan hasil positif atau negatif palsu (Maggira *et al.*, 2022).

2. *Radioimmunoassay (RIA)*

Teknik ini berprinsip pada pengikatan kompetitif antara antigen berlabel radioaktif dengan antigen berlabel non-radioaktif. RIA menjadi metode yang sangat spesifik dan sensitif. Seperti pada penentuan AFB1 dalam sampel pertanian (jagung, kedelai, gandum, dan beras) menghasilkan LOD/LOQ sebesar 0,2/0,5 µg/kg dan perolehan kembali sekitar 92-107%. Namun, pengaplikasiannya perlu biaya yang tinggi seperti peralatan khusus untuk meminimalkan

adverse effect sinar gamma, yang berisiko bagi kesehatan (Miklós *et al.*, 2020).

3. *Fluoroimmunoassays (FIA)*

Imuno reagen dengan probe berdasarkan label fluoresen digunakan dalam teknik FIA. Namun, FIA memiliki sensitivitas rendah karena gangguan latar belakang yang tinggi dari pengukuran fluorometri. Masalah tersebut diatasi dengan *Time-Resolved Fluoroimmunoassays* (TRFIA). TRFIA sangat sensitif dan spesifik untuk mendeteksi AFB1 dalam sampel pakan ternak (Hu, *et al.*, 2018).

4. *Lateral flow immunoassay (LFIA), (LFA), atau Lateral Flow Devices (LFD)*

Immunochromatographic dipstick merupakan pilihan lain dalam deteksi mikotoksin dengan cepat. Dasar dari analisis ini, mendeteksi komponen yang dianalisis yang dihubungkan dengan antibodi spesifik pada zona uji, yaitu yang ditempatkan pada membran dipstick. Terdapat zona kontrol pada membran untuk uji verifikasi yang benar. Dipstick dapat dievaluasi secara visual atau dengan alat pembaca (Miklós *et al.*, 2020).

Keunggulannya cepat, mudah, biaya hemat untuk analisis sampel tunggal, dan menganalisis aflatoksin secara kualitatif dan kuantitatif. Namun, dapat terjadi reaksi silang dan efek dari matriks selama analisis produk (Anfossi *et al.*, 2013).

5. *Chromatographic time-resolved fluoroimmunoassay (CTRFIA)*

CTRFIA, berupa *immunosensor portable* berdasarkan waktu kromatografi menggunakan *fluoroimmunoassay*. Teknik ini digunakan untuk penentuan AFB1 dengan kelebihan analisis yang sensitif dan cepat dalam sampel makanan dan pakan ternak (Miklós *et al.*, 2020).

6. *Biosensors*

Alat biosensor berukuran kecil, mengubah karakter informasi kimia dari komposisi senyawa kimia menjadi sinyal elektronik atau sinyal optik dengan pelacakan secara kontinyu dalam waktu yang nyata. Keunggulannya, struktur yang kuat, dapat diotomatisasi, dan dapat diterapkan dalam analisis *in situ* dengan baik. Selain itu memungkinkan deteksi AFB1 dalam makanan secara *real time* dengan sistem yang cepat dan sensitif (Miklós *et al.*, 2020; Uludag *et al.*, 2016).

7. *Teknik lain*

Terdapat beberapa prosedur analisis aflatoksin lain dalam proses pengembangan sebagai arah teknologi baru, seperti teknik *Direct Analysis in Real Time-Mass Spectrometry* (DART-MS), *Near-Infrared Spectroscopy* (NIRS), *Luminex x MAP Technology*, *Biochip Array Technology* (BAT), *Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight-Mass Spectroscopy* (MALDI-TOF-MS), dan *Fiber-Optic (Immuno)Sensor* (Miklós *et al.*, 2020).

SIMPULAN

Dapat disimpulkan dari berbagai penelitian di atas Metode analisis aflatoksin berbasis kromatografi telah digunakan secara luas dan menjadi *gold standard*, namun terdapat keterbatasan dalam penggunaannya. Saat ini telah dikembangkan suatu metode pembaruan, seperti teknik *immunoassay* yang dinilai lebih cepat, sensitif, efektif, dan efisien. Selain itu, *Immune-biosensor* dan beberapa metode pembaruan lainnya, sedang dikembangkan untuk menawarkan keuntungan yang lebih besar di masa yang akan datang.

DAFTAR PUSTAKA

Andrade, P. D., da Silva, J. L. G., & Caldas, E. D.

- (2013). Simultaneous analysis of aflatoxins B1, B2, G1, G2, M1 and ochratoxin A in breast milk by high-performance liquid chromatography/fluorescence after liquid-liquid extraction with low temperature purification (LLE-LTP). *Journal of Chromatography A*, 1304, 61–68. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.06.049>
- Anfossi, L., Baggiani, C., Giovannoli, C., D'Arco, G., & Giraudi, G. (2013). Lateral-flow immunoassays for mycotoxins and phycotoxins: A review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 405(2–3), 467–480. <https://doi.org/10.1007/s00216-012-6033-4>
- Arroyo-Manzanares, N., Huertas-Pérez, J. F., García-Campaña, A. M., & Gámiz-Gracia, L. (2014). Mycotoxin Analysis: New Proposals for Sample Treatment. *Advances in Chemistry*, 2014, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2014/547506>
- Baranyi, N., Kocsubé, S., & Varga, J. (2015). Aflatoxins: Climate change and biodegradation. *Current Opinion in Food Science*, 5, 60–66. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.09.002>
- Benkerroum, N. (2020). Chronic and acute toxicities of aflatoxins: Mechanisms of action. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(2), 1–28. <https://doi.org/10.3390/ijerph1702042>
- European Commission (2010). European Commission. Commission Regulation (EC) No 165/2010 of 26 February 2010 amending Regulation (EC) No 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards aflatoxins. *Off. J. Eur. Union L* 50, 8–12
- Ertekin, Ö., Pirinççi, Ş. Ş., & Öztürk, S. (2016). Monoclonal IgA antibodies for aflatoxin immunoassays. *Toxins*, 8(5), 1–10. <https://doi.org/10.3390/toxins8050148>
- Fitriana, R., & Sulistyaningsih, E. (2019). Identifikasi Kontaminasi Aflatoksin pada Rempah-Rempah yang Dijual di Sentra Pasar di Kabupaten Jember Identification of Aflatoxin Contamination in Spices Sold in Market Centers in Jember District. *Multidisciplinary*, 2(1), 24–29.
- Gaziolu, I., & Kolak, U. (2015). Method Validation for the Quantitative Analysis of Aflatoxins (B1, B2, G1, and G2) and Ochratoxin A in Processed Cereal-Based Foods by HPLC with Fluorescence Detection. *Journal of AOAC International*, 98(4), 939–945. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.14-211>
- He, T., Wang, Y., Li, P., Zhang, Q., Lei, J., Zhang, Z., Ding, X., Zhou, H., & Zhang, W. (2014). Nanobody-based enzyme immunoassay for aflatoxin in agro-products with high tolerance to cosolvent methanol. *Analytical Chemistry*, 86(17), 8873–8880. <https://doi.org/10.1021/ac502390c>
- Hussain, I. (2011). Aflatoxin Measurement and Analysis. In Torres-Pacheco (Ed.), *Aflatoxins—Detection, Measurement and Control* (1st ed., pp. 129–160). InTechOpen.
- Jaimez, J., Fente, C. A., Vazquez, B. I., Franco, C. M., Cepeda, A., Mahuzier, G., & Prognon, P. (2000). Application of the assay of aflatoxins by liquid chromatography with fluorescence detection in food analysis. *Journal of Chromatography A*, 882(1–2), 1–10. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00212-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00212-0)
- Jiménez Medina, M. L., Lafarga, T., Garrido Frenich, A., & Romero-González, R. (2021). Natural Occurrence, Legislation,

- and Determination of Aflatoxins Using Chromatographic Methods in Food: A Review (from 2010 to 2019). *Food Reviews International*, 37(3), 244–275. <https://doi.org/10.1080/87559129.2019.1701009>
- Ketney, O., Santini, A., & Oancea, S. (2017). Recent aflatoxin survey data in milk and milk products: A review. *International Journal of Dairy Technology*, 70(3), 320–331. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12382>
- Maggira, M., Sakaridis, I., Ioannidou, M., & Samouris, G. (2022). Comparative Evaluation of Three Commercial Elisa Kits Used for the Detection of Aflatoxins B1, B2, G1, and G2 in Feedstuffs and Comparison with an HPLC Method. *Veterinary Sciences*, 9(3). <https://doi.org/10.3390/vetsci9030104>
- Michlig, N., Repetti, M. R., Chiericatti, C., García, S. R., Gaggiotti, M., Basílico, J. C., & Beldoménico, H. R. (2016). Multiclass Compatible Sample Preparation for UHPLC–MS/MS Determination of Aflatoxin M1 in Raw Milk. *Chromatographia*, 79(17–18), 1091–1100. <https://doi.org/10.1007/s10337-015-2972-1>
- Miklós, G., Angeli, C., Ambrus, Á., Nagy, A., Kardos, V., Zentai, A., Kerekes, K., Farkas, Z., Józwiak, Á., & Bartók, T. (2020). Detection of Aflatoxins in Different Matrices and Food-Chain Positions. *Frontiers in Microbiology*, 11(August). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01916>
- Rodríguez-Carrasco, Y., Izzo, L., Gaspari, A., Graziani, G., Mañes, J., & Ritieni, A. (2018). Simultaneous Determination of AFB1 and AFM1 in Milk Samples by Ultra High Performance Liquid Chromatography Coupled to Quadrupole Orbitrap Mass Spectrometry. *Beverages*, 4(2), 43. <https://doi.org/10.3390/beverages4020043>
- Sulyok, M., Beed, F., Boni, S., Abass, A., Mukunzi, A., & Krska, R. (2015). Quantitation of multiple mycotoxins and cyanogenic glucosides in cassava samples from Tanzania and Rwanda by an LC-MS/MS-based multi-toxin method. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 32(4), 488–502. <https://doi.org/10.1080/19440049.2014.975752>
- Tao F., Yao H., Hruska Z., Burger L. W., Rajasekaran K., Bhatnagar D. (2018). Recent development of optical methods in rapid and non-destructive detection of aflatoxin and fungal contamination in agricultural products. *Trends Anal. Chem.* 100 65–81. [10.1016/j.trac.2017.12.017](https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.12.017)
- Turkoglu, C., & Keyvan, E. (2019). Determination of aflatoxin M1 and ochratoxin a in raw, pasteurized and UHT milk in Turkey. *Acta Scientiae Veterinariae*, 47(1), 1–7. <https://doi.org/10.22456/1679-9216.89667>
- Uludag, Y., Esen, E., Kokturk, G., Ozer, H., Muhammad, T., Olcer, Z., Basegmez, H. I. O., Simsek, S., Barut, S., Gok, M. Y., Akgun, M., & Altintas, Z. (2016). Lab-on-a-chip based biosensor for the real-time detection of aflatoxin. *Talanta*, 160, 381–388. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.07.060>
- Vaz, A., Cabral Silva, A. C., Rodrigues, P., & Venâncio, A. (2020). Detection methods for aflatoxin m1 in dairy products. *Microorganisms*, 8(2), 1–16. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8020246>
- Wacoo, A. P., Wendi, D., Vuzi, P. C., & Hawumba, J. F. (2014). Methods for Detection of Aflatoxins in Agricultural Food

- Crops. *Journal of Applied Chemistry*, 2014, 1–15. <https://doi.org/10.1155/2014/706291>
- Xie, L., Chen, M., & Ying, Y. (2016). Development of Methods for Determination of Aflatoxins. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(16), 2642–2664. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.907234>
- Yao, H., Hruska, Z., & Diana Di Mavungu, J. (2015). Developments in detection and determination of aflatoxins. *World Mycotoxin Journal*, 8(2), 181–191. <https://doi.org/10.3920/WMJ2014.1797>
- Zhang, L., Dou, X. W., Zhang, C., Logrieco, A. F., & Yang, M. H. (2018). A review of current methods for analysis of mycotoxins in herbal medicines. *Toxins*, 10(2). <https://doi.org/10.3390/toxins10020065>
- Zhao, J., Zhu, Y., Jiao, Y., Ning, J., & Yang, Y. (2016). Ionic-liquid-based dispersive liquid–liquid microextraction combined with magnetic solid-phase extraction for the determination of aflatoxins B1, B2, G1, and G2 in animal feeds by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Separation Science*, 39(19), 3789–3797. <https://doi.org/10.1002/jssc.201600671>