

Determination and quantification of the levels of aflatoxin in eggs

Determinación y cuantificación de los niveles de aflatoxina en huevos de consumo

Yolanda Castilla Pinedo¹, Iván Darío Mercado Martínez², José Vicente Rodríguez Crizón³

¹ Ingeniera de Alimentos, Magíster en Salud Pública, Oficina de Salud Pública del Distrito de Barranquilla. Colombia.

² Ingeniero químico, Magíster en Ingeniería Ambiental, Universidad del Atlántico. Barranquilla. Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1978-6977>

³ Ingeniero de Alimentos, Especialista en Administración Pública, Consultor. Cartagena. Colombia. Email: ivanmercado@mail.uniatlantico.edu.co

Recibido: 15/01/2020

Aceptado: 03/08/2020

Cite this article as: Y. Castilla Pinedo, I. D. Mercado Martínez, J. V. Rodríguez Crizón “Determinación y cuantificación de los niveles de aflatoxina en huevos de consumo”, *Prospectiva*, Vol 18, N° 2, 2020.

<http://doi.org/10.15665/rp.v18i2.2251>

RESUMEN

En esta investigación se determinó la concentración de aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 en huevos de gallinas ponedoras comercializados en el Mercado de Bazurto de la ciudad de Cartagena (Colombia) y, se comparó con los valores máximos permitidos en Colombia. Se analizaron 6 huevos diarios tomados al azar durante 10 días procedentes del principal centro de abastos de la ciudad. Fue utilizada la técnica analítica de cromatografía líquida de alta presión (HPLC) para determinar el contenido de aflatoxinas. Se detectó la presencia de aflatoxinas G1 (0,27 a 0,76 ppb) y G2 (25,49 a 125,67 ppb) en algunas muestras de huevos y no fueron encontradas cantidades de aflatoxinas B1 y B2. Las cantidades de aflatoxina G2 superaron en la mayoría de las muestras los valores permitidos en la norma NTC 3581.

Palabra claves: Aflatoxinas; Consumo humano; Huevos; Salud pública; Seguridad alimentaria.

ABSTRACT

In this investigation the concentration of aflatoxins B1, B2, G1 and G2 was determined in egg-laying hens commercialized at the Bazurto Market of the Cartagena city (Colombia) and it was compared with the maximum values allowed in Colombia. 6 eggs, from randomly chosen main food market of the city and 10 days provided, were analyzed. The analytical technique of high pressure liquid chromatography (HPLC) was used to determine the content of aflatoxins. The presence of aflatoxins G1 (0.27 a 0.76 ppb) and G2 (25.49 a 125.67 ppb) in some samples of the eggs were detected and amounts remains of aflatoxin B1 and B2 were not found. The amounts of aflatoxin G2 exceeded the permitted values in NTC 3581 in most samples.

Keywords: Aflatoxins; Eggs; Food security; Human consumption; Public health.

1. INTRODUCCIÓN

Las aflatoxinas son unas de las micotoxinas más peligrosas [1-2]. Consideradas por la agencia del gobierno de los Estados Unidos FDA (*Food and Drug Administration*), entidad responsable de la regulación de los alimentos y fármacos tanto para seres humanos como para animales; un contaminante inevitable de los alimentos [3].

La contaminación de cereales como el maíz debido a ellas, es un gran problema en muchos países, especialmente bajo condiciones tropicales y subtropicales de temperatura y humedad donde la reproducción del hongo del género *Aspergillus* se ve favorecida [4]. Las toxinas que pueden llegar a generar algunas especies son: aflatoxina B1, B2, G1 y G2 cuyos efectos biológicos pueden ser carcinogénicos, mutagénicos y teratogénicos [5-7]. Un estudio elaborado en Paquistán durante el año 2008, identificó contaminación de aflatoxinas en maíz en más del 80 % de las 40 muestras analizadas. Sus valores superaron los 20 ppb [1]. Colombia no es ajena a esta problemática, un estudio demuestra la elevada presencia de hongos *Aspergillus* en piensos utilizados para la alimentación animal [8]. En el año 2001 en este país, se presentó una incidencia de aflatoxinas en maíz en el municipio de Cereté, departamento de Córdoba. Todas las muestras analizadas se hallaron contaminadas en niveles cercanos a 300 ppb [9]. De hecho, la situación en Colombia es compleja dada la falta de investigación en el área de las micotoxinas [10]. La incidencia reportada de aflatoxinas en este país suramericano oscila entre el 9-30%, con niveles promedios cercanos a 20 ppb y niveles máximos alrededor de 100 ppb en muestras aisladas [9].

Colombia dispone de una norma técnica, NTC 3581, que establece un valor de 10 ppb como contenido máximo de aflatoxinas totales, sumatoria de las aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 en los alimentos para consumo humano directo. Siendo en los alimentos a granel no destinados para consumo humano directo un nivel máximo de 20 ppb [9-10]. En este país se ha evaluado la incidencia de la aflatoxina B1 en harinas de arroz. Los resultados indican que el 33,3% de las muestras presenta esta aflatoxina y sus valores oscilan entre 2,7-52,8 ppb. También existe un reporte de un estudio elaborado en alimentos de consumo infantil donde no se detectó en ninguna muestra la presencia de aflatoxinas B2, G1 y G2. Sin embargo, se registró una incidencia del 10 % de la aflatoxina B1 con niveles que oscilaron entre 18,42-71,25 ppb y que superaron los 10 ppb como valor máximo permisible por la legislación colombiana [11].

La *contaminación directa* de cualquier cereal debido a la presencia de micotoxinas puede ocurrir en cualquier punto de la cadena alimenticia, desde la cosecha, pasando por la recolección, almacenaje, transporte, elaboración y conservación [12-13]. Reportes del año 1969 del Reino Unido señalan a las aflatoxinas como las principales culpables de la muerte de 100.000 pavos debido al consumo de cacahuates importados contaminados [14]. Cuando el hongo toxicogénico que contaminó el alimento ha desaparecido y su micotoxina aún persiste se habla de *contaminación indirecta* [12,15].

En la alimentación de las aves de corral se utilizan cereales y otros granos, los cuales se pueden contaminar con hongos [10]. La presencia de micotoxinas en la producción de estos animales, representa uno de los mayores problemas que preocupa a este importante sector agroproductivo [16]. Un estudio elaborado en Iraq durante los años 2005-2007 dio a conocer la presencia de aflatoxinas en alimento para aves de corral. De 45 muestras analizadas, 41 dieron positivas y 34 de ellas sobrepasaron los 100 ppb [17]. Las aves de corral son muy susceptibles a la acción de estas toxinas debido a la rapidez con que son absorbidas en sus tractos gastrointestinales y depositadas en sus hígado [18-19].

El daño producido por las micotoxinas en los seres humanos puede ser variable [12,20]. Durante el año 1974 en la India, aproximadamente 400 personas contrajeron fiebre e ictericia después de comer maíz contaminado de aflatoxina B1, con valores que oscilaron entre 250-15000 ppb. Además, en este suceso se presentaron más de 100 muertes. La dosis letal media de la aflatoxina B1 son 360 ppb [21]. Enfermedades como el cáncer hepático se le atribuye en muchas partes del mundo al consumo de alimentos contaminados con aflatoxinas [22]. En los Estados Unidos, se reportó un hombre de Missouri que tuvo carcinomas de recto y de hígado, al que le detectaron aflatoxinas en la biopsia de hígado [11].

El análisis de la presencia de aflatoxinas en los huevos de gallinas ponedoras comercializados en el Mercado de Bazaruto de la ciudad de Cartagena en Colombia es fundamental ya que los hongos del género *Aspergillus*, una vez invaden el alimento de estas aves, producen estas toxinas que se transfieren al huevo [23], cuyo producto alimenticio es de gran importancia para la nutrición humana. Una investigación elaborada en Camerún dio como resultado que el 45,2% de las muestras de huevo recogidas durante los años 1991-1995 estaban contaminadas con aflatoxinas. Sin embargo, sus valores máximos no alcanzaron los 7,7 ppb [24]. Actualmente, África busca durante los próximos 10 años la mitigación de las aflatoxinas mediante estudios, legislación, tecnología de prevención y control; con la finalidad de aumentar la comercialización de sus productos [25]. Además, teniendo en cuenta que Colombia aumentó en los últimos años su producción de aves de corral y huevos, es imprescindible saber y conocer como consumidores que los huevos se encuentren en perfectas condiciones de sanidad e inocuidad. Por tal motivo, este estudio incentiva a realizar nuevas investigaciones en Colombia que muestren los avances de los últimos años en esta área de la agroindustria.

2. MATERIALES Y METODOS EXPERIMENTALES

Para determinar la presencia y cuantificar la concentración de aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 en las muestras de huevos de gallinas ponedoras comercializados en el Mercado de Bazaruto de la ciudad de Cartagena en Colombia, se llevaron a cabo inicialmente visitas a 30 almacenes agropecuarios que son distribuidores de huevos en la ciudad de Cartagena, Departamento de Bolívar. Se escogió dicho lugar para llevar a cabo la investigación debido a que es el centro de acopio y de venta masiva desde donde se distribuyen los huevos a las tiendas de los barrios de esa ciudad, según lo manifestaron las personas encuestadas de los almacenes agropecuarios.

Posteriormente, se llevó a cabo un muestreo durante 10 días, entre los meses de junio y julio de 2008, donde los huevos analizados hacen parte de la presentación de anaqueles de 30 unidades comercializadas en el mercado de Bazaruto de Cartagena. Según datos suministrados por su administración, el Mercado de Bazaruto adquiere el total de huevos que se distribuye semanalmente: 125.000 anaqueles, con un contenido por anaquel de 30 unidades de este producto alimenticio.

La Ecuación 1 se utilizó para determinar el número de muestras necesarias para este estudio, donde n es el tamaño de la muestra cuyo valor es 66, es decir, el número de huevos que se deben analizar durante el periodo de investigación. De esta variable se concluyó que se deben escoger seis huevos diarios tomados al azar durante 10 días; N es el total de la población objetivo; Z es una constante que varía según el grado de confiabilidad, en este caso su valor es 1,65 porque a los estudios de control de calidad se les aplica un grado de confiabilidad del 90%; p es la proporción esperada del parámetro que queremos medir. Se utilizó el valor de 0,50 que es equivalente al 50% y que maximiza el tamaño muestral; E es el error muestral equivalente al 10% en esta ocasión;

$$n = \frac{Z^2 p(1-p)N}{E^2 (N-1) + p(1-p)Z^2} \quad (1)$$

En los laboratorios de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Cartagena, se llevaron a cabo los análisis químicos que determinaron el contenido de aflatoxinas en las muestras. La cromatografía líquida de alta presión (HPLC) fue la técnica analítica empleada. Se utilizó un cromatógrafo líquido de alta resolución modular marca BAS con las siguientes especificaciones: con inyector manual CC-5, de 20 mL el loop de inyección, bomba recíprocante PM-80 con desgasificador en línea, interfase DA-5, controlador de temperatura LC-22C, detector UV-VIS de longitud de onda variable UV-116. También se empleó una centrífuga de alta resolución marca Microservall, de capacidad 12000 rpm, con programación de temperatura y tiempo de centrifugación. Además, se usó como dispositivo para filtración un cartucho de extracción en fase sólida (SPE) RP-C₁₈ acompañado de una jeringa de vidrio de capacidad 10 mL y filtro de membrana Micropore k con poro de 0,45 μm.

Inicialmente, 10 g de yema de huevo se pesaron y después se le agregaron 20 mL de acetonitrilo grado HPLC/agua de ósmosis inversa (85:15), la mezcla resultante se agitó por 5 minutos. El líquido sobrenadante fue filtrado con papel Whatman y el líquido filtrado se pasó por un cartucho de extracción de fase sólida (Lichrophe C-18 de 300 mg) acondicionado de la siguiente manera: activado con 10 mL de metanol grado HPLC y 10 mL de agua de ósmosis inversa. Luego secado al vacío; la muestra líquida se pasó a través del cartucho y se dejó secar; luego fue lavada con 10 mL de agua de ósmosis inversa y eluido con 2 mL de acetona en cloroformo al 5%. El eluido fue secado y retomado con fase móvil para su posterior inyección en el cromatógrafo líquido. Lo anterior se realizó a cada uno de los huevos analizados por día.

Las condiciones cromatográficas fueron: una columna Phenomenex C-18 de tamaño de partícula 5 μm y tamaño de poro 300 \AA con dimensiones 30x4,60 mm; una fase móvil conformada por acetonitrilo/agua/metanol en la siguiente proporción 32,50:35,00:32,50 respectivamente; un flujo de 1,50 mL/min; con una inyección de 20 μL ; y un detector de fluorescencia, emisión 365 nm y excitación 435 nm [26]. Para determinar las proporciones adecuadas de la fase móvil con su respectivo flujo, se inyectó al cromatógrafo una solución de aflatoxina estándar 100 ppm, además se realizaron diferentes ensayos en elusión isocrática, es decir, una separación con disolvente de composición constante. Por medio de estos ensayos se llegó a las condiciones de fase móvil adecuadas. Igualmente se evaluó la resolución del método para aflatoxina y riboflavina, ésta última es la interferencia más referenciada en las investigaciones sobre análisis por HPLC de aflatoxina en líquidos [27]. De acuerdo con los resultados obtenidos en el análisis cromatográfico, se identificaron las cantidades de aflatoxinas presentes en las muestras.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las muestras de los huevos de gallinas ponedoras comercializados en el Mercado de Bazurto de la ciudad de Cartagena en Colombia, fueron agrupadas en 6 lotes según las fechas en que fueron tomadas. Cada lote lo conforman 10 muestras donde se analizaron las concentraciones de aflatoxinas G1 y G2 expresadas en ppb ($\mu\text{g}/\text{Kg}$) y representadas en las Tablas 1, 2 y 3 como aflatoxG1 y aflatoxG2, respectivamente. Tanto los niveles de estas toxinas hallados en los lotes 5 y 6, como los valores de las concentraciones de aflatoxinas B1 y B2 encontrados en todos los 6 lotes; están por debajo del límite de detección del cromatógrafo utilizado ($< 0,10$ ppb). Estos últimos resultados son muy satisfactorios porque aunque todas estas micotoxinas son altamente peligrosas [5,11], la Agencia Internacional para Investigación en Cáncer, es decir, la IARC (*International Agency for Research on Cancer*), considera altamente cancerígena para el hombre la aflatoxina B1 [3,20,28-29], la cual no se presentó en las muestras analizadas.

Tabla 1. Concentraciones de aflatoxinas presentes en huevos de consumo de los lotes 1 y 2.

Table 1. Concentrations of aflatoxins present in eggs from batches 1 and 2.

	Muestra	AfltoxG1 (ppb)	AfltoxG2 (ppb)
Lote 1 primera Semana	No. 1	0,35	168,60
	No. 2	0,35	154,30
	No. 3	0,58	76,98
	No. 4	0,74	82,83
	No. 5	0,32	84,24
	No. 6	0,21	105,70
	No. 7	0,32	111,05
	No. 8	0,26	103,28
	No. 9	0,26	18,10
	No. 10	0,38	16,18
	Muestra	AfltoxG1 (ppb)	AfltoxG2 (ppb)

Lote 2 segunda semana	No. 1	0,35	168,60
	No. 2	0,35	154,30
	No. 3	0,58	76,98
	No. 4	0,74	82,83
	No. 5	0,32	84,24
	No. 6	0,21	105,70
	No. 7	0,32	111,05
	No. 8	0,26	103,28
	No. 9	0,26	18,10
	No. 10	0,38	16,18

Fuente: Autores.

Source: Authors.

En muchos estudios se han detectado la presencia de aflatoxina B1 en huevos de gallinas ponedoras. Una investigación elaborada en la India durante el año 2010, determinó que las gallinas alimentadas con comida contaminada con aflatoxinas B1 producen menos huevos, además se presentan en estos un 0,04-0,06% respecto a la cantidad ingerida [24]. En el año 1976 los investigadores Löttsch y Leistner informaron que al huevo se trasfiere un 0,004-0,01% de aflatoxina B1 cuando las gallinas consumen alimento contaminado. En el año 1989, Kosutzka et al., analizaron los huevos de gallinas provenientes de animales que habían consumido aflatoxina B1 presente en su alimento. Estos autores concluyeron que en el huevo se deposita un 0,002-0,1% de la cantidad de aflatoxina B1 ingerida inicialmente. Sin embargo, Kan et al., reportaron en el año 1989 que no se observa ningún efecto adverso sobre la producción de huevos en gallinas que ingieren aflatoxina B1 [30]. Un estudio realizado en Egipto durante el año 2009, concluyó que las aves de corral alimentadas con comida contaminada de aflatoxina B1 transfieren a los huevos un porcentaje de la misma, que varía entre un 0,09-0,2%. Además se encontró que gallinas que consumen concentraciones de 25 ppb de aflatoxinas B1 en su dieta, son capaces de transferirla al huevo [31]. Esta situación muestra la posibilidad de riesgo para la salud de los seres humanos que consuman estos productos avícolas [30].

Tabla 2. Concentraciones de aflatoxinas presentes en huevos de consumo de los lotes 3 y 4.

Table 2. Concentrations of aflatoxins present in eggs from batches 3 and 4.

	Muestra	AfltoxG1 (ppb)	AfltoxG2 (ppb)
Lote 3 tercera semana	No. 1	ND	105,06
	No. 2	ND	110,84
	No. 3	ND	105,93
	No. 4	ND	85,07
	No. 5	ND	10,61
	No. 6	ND	10,91
	No. 7	ND	6,63
	No. 8	ND	58,08
	No. 9	ND	61,04
	No. 10	ND	55,58
	Muestra	AfltoxG1 (ppb)	AfltoxG2 (ppb)
Lote 4	No. 1	ND	30,00
	No. 2	ND	32,97
	No. 3	ND	55,33
	No. 4	ND	ND

cuarta semana	No. 5	ND	ND
	No. 6	ND	ND
	No. 7	ND	ND
	No. 8	ND	ND
	No. 9	ND	ND
	No. 10	ND	ND

ND significa No Determinado, lo que indica que el valor se encuentra por debajo del límite de detección del equipo. Por debajo de 0,10 ppb (0,10 µg/Kg).

Fuente: Autores.

Source: Authors.

Con una confiabilidad del 95%, se afirma que los valores verdaderos de los promedios de las aflatoxinas G1 y G2 presentes en los lotes 1-4 oscilan dentro del intervalo indicado en la Tabla 3. Las cantidades de estas toxinas son muy distintas. Al comparar el contenido máximo de aflatoxinas totales de la norma técnica Colombiana, NTC 3581, de 10 ppb en los alimentos para consumo humano directo como el huevo, con las concentraciones de aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 cuantificadas en estos lotes; aunque se observa la ausencia de las dos primeras aflatoxinas, la suma de las dos últimas sobrepasa la norma lo que puede acarrear problemas de salud en los consumidores. Mientras las concentraciones de aflatoxina G1 son bajas respecto a ese valor de referencia, los niveles de aflatoxina G2 son elevados. Teniendo en cuenta que las dos principales especies del hongo del género *Aspergillus* que producen aflatoxinas son *A. flavus*, que origina únicamente aflatoxinas B1 y B2; y *A. parasiticus* que puede producir aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 [2,22,32-33]; los resultados obtenidos en los lotes 1-4, demuestran que los piensos utilizados para alimentar a las aves de corral estaban colonizados por la especie *A. parasiticus*; o estuvieron por un tiempo invadidos, dejando la presencia de aflatoxinas, principalmente G2, como huella transfiriéndose a los huevos. Lo anterior es debido a que los hongos cuando generan la aflatoxina G2 impiden la producción de la aflatoxina G1 porque una vía metabólica inactiva la otra [34].

Tabla 3. Niveles de aflatoxinas presentes en los lotes analizados.

Table 3. Levels of aflatoxins present in the analyzed batches.

Lote 1			
Micotoxina	Rango (ppb)	Media ± SD	Oscilación de Medias
AfltoxG1	0,21 a 0,74	0,38 ± 0,15	0,27 a 0,48
AfltoxG2	16,18 a 168,60	92,12 ± 46,91	58,56 a 125,67
Lote 2			
Micotoxina	Rango (ppb)	Media ± SD	Oscilación de Medias
AfltoxG1	ND a 1,18	0,63 ± 0,18	0,49 a 0,76
AfltoxG2	29,48 a 111,38	59,09 ± 32,36	35,94 a 82,83
Lote 3			

Micotoxina	Rango (ppb)	Media \pm SD	Oscilación de Medias
AfltoxG1	ND		
AfltoxG2	6,63 a 110,84	60,97 \pm 38,81	33,20 a 88,73
Lote 4			
Micotoxina	Rango	Media \pm SD	Oscilación de Medias
AfltoxG1	ND		
AfltoxG2	ND a 55,33	11,83 \pm 19,10	-1,83 a 25,49

ND significa No Determinado, lo que indica que el valor se encuentra por debajo del límite de detección del equipo. Es decir, menor a 0,10 ppb (0,10 $\mu\text{g}/\text{Kg}$).

SD indica la Desviación Estándar.

Fuente: Autores.

Source: Authors.

Lo anterior implica revisar todos los puntos de la cadena alimenticia del concentrado para aves; desde la cosecha, recolección, almacenaje, transporte de sus componentes, como su elaboración y conservación, tal como lo sugieren algunos investigadores [4,20,22,33,35]. Siempre con la finalidad de mejorar en todas sus etapas las condiciones de los concentrados de las gallinas ponedoras previniendo los problemas de salud pública que se puedan presentar.

4. CONCLUSIONES

Se detectó la presencia de aflatoxinas G1 y G2 en algunas muestras de los huevos de gallinas ponedoras comercializados en el Mercado de Bazurto de la ciudad de Cartagena en Colombia. Las cantidades de estas toxinas son muy distintas. Al comparar el contenido máximo de aflatoxinas totales de la norma técnica Colombiana, NTC 3581, de 10 ppb en los alimentos para consumo humano directo como el huevo, con las concentraciones de aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 cuantificadas; aunque se observa la ausencia de las dos primeras aflatoxinas, la suma de las dos últimas sobrepasa la norma lo que puede acarrear problemas de salud para consumidores. Mientras las concentraciones de aflatoxina G1 son bajas respecto a ese valor de referencia, los niveles de aflatoxina G2 son elevados. En ninguna muestra se identificaron cantidades de aflatoxinas B1 y B2 porque sus valores siempre se encontraron por debajo del límite de detección del cromatógrafo utilizado ($< 0,10$ ppb); por lo cual estas toxinas no representan un peligro para la salud pública de los consumidores de este producto alimenticio. Los resultados anteriores demuestran que se debe tener en cuenta las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA), las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y un buen almacenamiento del alimento para las gallinas ponedoras.

REFERENCIAS

- [1] S. Ahsan, I. Bhatti, M. Asi, H. Bhatti, M. Sheikh, "Occurrence of aflatoxins in maize grains from central areas of Punjab, Pakistan". *International Journal of Agriculture & Biology*. 12 (4), 571-575, 2010. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20103212837>
- [2] S. Akinola, C. Ateba, M. Mwanza. "Polyphasic assessment of aflatoxin production potential in selected *Aspergilli*". *Toxins*. 11 (692), 2-21, 2019. <https://europepmc.org/backend/ptpmcrender.fcgi?accid=PMC6950480&blobtype=pdf>
- [3] M. Asif Asghar, A. Ahmed, J. Iqbal, E. Zahir, H. Nauman. "Fungal flora and aflatoxin contamination in Pakistani wheat kernels (*Triticum aestivum* L.) and their attribution in seed germination". *Journal of Food and Drug Analysis*. 24 (3), 635-643, 2016. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1021949816300163#!>
- [4] A. García, C. Blanco, G. Font, M. Ruiz. "Efectos tóxicos de alternariol por ensayos *in vitro*: revisión". *Revista de Toxicología*. 31 (2), 196-203, 2014. <https://www.redalyc.org/pdf/919/91932969004.pdf>
- [5] G. García, M. Hernández, H. Orozco, G. Suárez. "Agroquímicos y presencia de aflatoxinas en maíz de temporal almacenado: riesgos para la seguridad alimentaria en el estado de Tlaxcala, México". *Revista Iberoamericana de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias: CIBA*. 8 (16), 106-130, 2019. <https://www.ciba.org.mx/index.php/CIBA/article/view/93>
- [6] S. Prencipe, I. Siciliano, C. Contessa, R. Botta, A. Garibaldi, M. Lodovica, D. Spadaro. "Characterization of *Aspergillus* section *Flavi* isolated from fresh chestnuts and along the chestnut flour process". *Food Microbiology*. 69, 159-169, 2018. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0740002017303568>
- [7] B. Soares, D. Arnold, R. Mendes, B. Straub, C. Smiguel, J. Ferreira de Melo, L. Souza. "Pesquisa de aflatoxinas e fungos toxigênicos em amendoins comercializados em Curitiba/PR e Região Metropolitana". *Cadernos da Escola de Saúde*. 18 (1), 45-55, 2018. <https://portaldeperiodicos.unibrasil.com.br/index.php/cadernossaude/article/view/4475>
- [8] G. Díaz, M. Lozano, A. Acuña. "Prevalence of *Aspergillus* species on selected Colombian animal feedstuffs and ability of *Aspergillus* section *Flavi* to produce aflatoxins". *World Mycotoxin Journal*. 2 (1), 31-34, 2009. <https://www.wageningenacademic.com/doi/abs/10.3920/WMJ2008.1041>
- [9] A. Acuña, G. Díaz, M. Espitia. "Aflatoxinas en maíz: reporte de caso en la Costa Atlántica colombiana". *Revista De Medicina Veterinaria y Zootecnia*. 52 (2), 156-162, 2005. <https://www.redalyc.org/pdf/4076/407639209007.pdf>
- [10] M. Martínez, L. Vargas, V. Gómez. "Aflatoxinas: incidencia, impactos en la salud, control y prevención". *Biosalud*. 12 (2), pp. 89-109, 2013. <http://www.scielo.org.co/pdf/biosa/v12n2/v12n2a08.pdf>
- [11] O. Rojas, A. Wilches. "Determinación de aflatoxinas en alimentos de mayor consumo infantil comercializados en la ciudad de Pamplona, Norte de Santander". *Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*. 7 (1), 108-116, 2009. http://www.unipamplona.edu.co/unipamplona/portallIG/home_10/recursos/general/pag_contenido/publicaciones/bistua_revista_ciencias_basica/2009/23022010/art_15.pdf
- [12] A. Ramos, S. Marín, F. Molino, P. Vila, V. Sanchis. "Las micotoxinas: el enemigo silencioso". *ARBOR Ciencia, Pensamiento y Cultura*. 196 (795), 1-13, 2020. <http://arbor.revistas.csic.es/index.php/arbor/article/view/2354>
- [13] M. Torres, J. Aparicio, J. García "La aflatoxicosis: un problema a resolver dentro de la medicina veterinaria". *Redvet*. 15 (2), 2014. <https://pdfs.semanticscholar.org/9bd6/8df5d430b51fae2abaf9eb7c22bd06cf9b53.pdf>
- [14] R. Köppen, M. Koch, D. Siege, S. Merkel, R. Maul, I. Nehls. "Determination of mycotoxins in foods: current state of analytical methods and limitations". *Applied Microbiology and Biotechnology*. 86 (6), 1595-1612, 2010. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-010-2535-1>
- [15] C. Parra, G. Quiroga, A. Giménez, E. Flores. "Aflatoxina b1 de *Aspergillus* spp generado en arroz, su detección y cuantificación por métodos fluorométricos y HPLC". *Revista Boliviana de Química*. 35 (5), 134-145, 2018. http://www.scielo.org.bo/pdf/rbqv/v35n5/v35n5_a03.pdf

- [16] M. Escalada. "Investigación de hongos en el alimento y su relación con el cuadro lesional en pollos de ceiba". *Redvet*. 11 (11), 2010. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63616933006>
- [17] A. Shareef. "Molds and mycotoxins in poultry feeds from farms of potential mycotoxicosis". *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*. 24 (1), 17-25, 2010. <https://pdfs.semanticscholar.org/7135/309e9bf946ff8edf283e24283282d7f1955c.pdf?ga=2.23783738.1867582206.1579107236-938179240.1579107236>
- [18] M. Romagnoli, P. Silva (2016). Las micotoxinas. ¿Qué sabemos sobre esta problemática?. Disponible desde <<https://www.engormix.com/micotoxinas/articulos/las-micotoxinas-que-sabemos-t33038.htm>> [Acceso 10 de enero 2020].
- [19] O.A. Ojo, "Organ histopathology of laying chickens to bio-control methods of aflatoxin contamination", *Asian Journal of Research in Animal and Veterinary Sciences*. 5 (4), 9-19, 2020. <https://www.journalajravs.com/index.php/AJRAVS/article/view/30097>
- [20] Y. Luo, X. Liu, L. Yuan, J. Li. "Complicated interactions between bio-adsorbents and mycotoxins during mycotoxin adsorption: Current research and future prospects". *Trends in Food Science & Technology*. 96, 127-134, 2020. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224419305485>
- [21] J. González, M. Moreno, F. Callejas, S. Velasco. "Aflatoxins in walnut (*Juglans regia* L.), pecan (*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch) and cashew (*Anacardium occidentale* L.) nuts of Mexico". *Pharmaceutica Analytica Acta*. 6 (2), 1-10, 2015. <https://www.longdom.org/open-access/aflatoxins-in-walnut-juglans-regia-l-pecan-carya-illinoensis-wangenh-k-koch-and-cashew-anacardium-occidentale-l-nuts-of-mexico-2153-2435.1000338.pdf>
- [22] F. Dias, F. Bona, R. Wagner. "Isolamento e identificação das aflatoxinas B1 e B2 de *Aspergillus parasiticus* em alimentos". *Cadernos da Escola de Saúde*. 11, 65-78, 2014. <http://portaldeperiodicos.unibrasil.com.br/index.php/cadernossaude/article/view/2403>
- [23] J. Zhou, J. Xu, J. Cong, Z. Cai, J. Zhang, J. Wang, Y. Ren. "Optimization for quick, easy, cheap, effective, rugged and safe extraction of mycotoxins and veterinary drugs by response surface methodology for application to egg and milk". *Journal of Chromatography A*. 1532, 20-29, 2018.
- [24] A. Tchana, P. Moundipa, F. Tchouanguép. "Aflatoxin contamination in food and body fluids in relation to malnutrition and cancer status in Cameroon". *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 7 (1), 178-188, 2010. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2819783/>
- [25] D. Okeke, P. Mark, L. Roberts, K. Sartorius, W. Spearman, A. Malu, M. Duguru. "Epidemiology of Liver Cancer in Africa: Current and Future Trends". *Semin Live Dis*. 40 (2), 111-123, 2020.
- [26] M. De Jimeno, N. Ruiz, N. Peña. "Incidence of Aflatoxins in animal feedstuffs: a Decade's Scenario in India". *Journal of AOAC International*, 78 (3), 693-698, 1980. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7756883>
- [27] Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. *Granos y cereales. Método de análisis de Aflatoxinas de ocurrencia natural (B1, B2, G1 y G2)*. NTC 1232. Primera Actualización, Colombia: ICONTEC, 1996.
- [28] M. Montoya, A. Duque, M. Gaviria, S. Hoyos, J. Restrepo, M. Navas. "Mutación R249S TP53 en pacientes con cirrosis y carcinoma hepatocelular en un hospital de Medellín". *CES Medicina*, 33 (2), 100-110, 2019. <http://www.scielo.org.co/pdf/cesm/v33n2/0120-8705-cesm-33-02-100.pdf>
- [29] M. Martínez, M. Rosero, G. Taborda. "Occurrence, dietary exposure and risk assessment of aflatoxins in arepa, bread and rice". *Food Control*. 98, 359-366, 2019. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713518305917>
- [30] I. Pandey, S. Chauhan. "Studies on production performance and toxin residues in tissues and eggs of layer chickens fed on diets with various concentrations of aflatoxin AFB1". *British Poultry Science*. 48 (6), 713-723, 2007. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18085454>
- [31] S. Aly, W. Anwer. "Effect of naturally contaminated feed with aflatoxins on performance of laying hens and the carryover of aflatoxin B1 residues in table eggs". *Pakistan Journal of Nutrition*. 8 (2), 181-186, 2009. <http://docsdrive.com/pdfs/ansinet/pjn/2009/181-186.pdf>

- [32] F. Silva, S. Chalfoun, L. Batista, Cl. Santos, N. Lima. "Taxonomia polifásica para identificação de *Aspergillus* seção *flavi*: uma revisão". *Ifes Ciência*. 1 (1), 18-40, 2015. <https://ojs.ifes.edu.br/index.php/ric/article/view/235/214>
- [33] F. Trombete, T. Saldanha, G. Direito, M. Fraga. "Aflatoxinas y tricotecenos en trigo y derivados: incidencia de la contaminación y métodos de determinación". *Revista Chilena de Nutrición*. 40 (2), 181-188, 2013. <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rchnut/v40n2/art14.pdf>
- [34] Y. Castilla, I. Mercado, V. Mendoza, M. Monroy. "Determinación y cuantificación de los niveles de aflatoxinas en bollos de mazorca producidos en Arjona (departamento de Bolívar - Colombia)". *Avances: Investigación en Ingeniería*. 8 (1), 69-74, 2011. http://www.unilibre.edu.co/revistaavances/avances-8-1/r8-1_art8.pdf
- [35] M. Martínez, M. Vargas del Río, V. Gómez. "Aflatoxinas: incidencia, impactos en la salud, control y prevención". *Biosalud*. 12 (2), 89-109, 2013. <http://www.scielo.org.co/pdf/biosa/v12n2/v12n2a08.pdf>