



Determinación de aflatoxinas en productos derivados de cereales de consumo humano en Mercados de Trujillo (Perú)

Determination of aflatoxins in cereal products for human consumption in markets from Trujillo (Peru)

Nancy Mejía Acuña¹, Pedro Alvarado Salinas² y Nelly Vásquez Valles²

¹Tesista, Escuela AP de Microbiología y Parasitología. Universidad Nacional de Trujillo (UNT). Trujillo. Perú.

²Departamento de Microbiología y Parasitología. UNT

RESUMEN

Se determinó la presencia de aflatoxinas en productos derivados de cereales de consumo humano que se expenden en los mercados de la ciudad de Trujillo (Perú), mediante un test de ELISA competitivo con un detector espectrofotométrico a una longitud de onda de 450 nm. Se analizaron 47 muestras elegidas al azar de derivados de cereales correspondientes a harina de maíz, trigo y avena adquiridos en los mercados de la Hermelinda, Central, Zonal Palermo y Unión de la ciudad de Trujillo. Las aflatoxinas fueron extraídas con alcohol metílico. Se determinó la presencia de aflatoxinas sólo en dos muestras de harina de maíz (12.5%), con niveles de 1.0 ug/kg y 1.2 ug/kg (el valor máximo aceptado en la mayoría de países de 20 ppb).

Palabras clave: aflatoxina, maíz, trigo, avena, ELISA

ABSTRACT

Aflatoxins in cereal products for human consumption that are sold in the markets of the city of Trujillo, using a competitive ELISA test with a spectrophotometric detector at a wavelength of 450 nm was determined. 47 samples of corn flour, wheat and oats were tested, from which aflatoxin extracted with methyl alcohol. Samples from three different raw materials (wheat flour, corn and oats) used as food for human consumption that are sold in markets Hermelinda, Central, Zonal and Palermo Union Trujillo was performed. Aflatoxins in only two samples of maize flour (12.5%), with levels of 1.0 ug / kg and 1.2 ug / kg was determined to be the maximum value accepted in most countries of 20 ppb.

Keywords: aflatoxin, corn, wheat, oats, ELISA Test

INTRODUCCIÓN

De las cuatro aflatoxinas principales (B1, B2, G1 y G2), la que se observa habitualmente en mayores concentraciones en alimentos para animales así como en maíz, algodón y maní es la B; ocasionalmente, *A. flavus* y *A. parasiticus* pueden colonizar pequeños granos de cereales como cebada, avena y trigo y, de este modo, producir niveles de aflatoxinas de bajos a moderados^{1,2,4,5,6}.

Las aflatoxinas se han asociado a varias enfermedades como la aflatoxicosis tanto en animales domésticos como en seres humanos y han recibido más atención que cualquier otra micotoxicosis debido a su potente efecto carcinógeno^{6,7,8,9,10,11,12}. Pueden encontrarse como contaminantes naturales en los cereales (esencialmente en el maíz, trigo, arroz y sorgo) y subproductos de cereales, harinas de oleaginosas (algodón, cacahuete, colza, coco, girasol y otros), frutos secos y productos de salchichería, especias, leguminosas, vinos, frutas, leche y derivados^{1,3,8,13,14,15,16,17,18}.

La Food and Agriculture Organisation (FAO) estima que más de un 25% de alimentos en el mundo está contaminado con cierto número de micotoxinas y la presencia de aflatoxinas en los cereales está asociada, tanto a las condiciones de almacenamiento inadecuadas, como a la contaminación del producto en el campo, antes y después de la cosecha^{6,8,19,20,21}.

En la costa peruana es frecuente el uso de cereales en la alimentación: diariamente se utiliza la harina de maíz y de trigo en la preparación de pan y pasteles y la avena en forma directa; por ello, es importante contar con la correspondiente legislación y programas de control de contaminantes naturales de los alimentos como factores de riesgo para enfermedades como el cáncer de hígado. La Unión Europea, por ejemplo, cuenta con dicha legislación (Official Journal of the European Union, 2003) que establece que los niveles máximos admisibles están entre 2 a 8 µg/kg para AFB1 y de 4 a 15 µg/kg para la sumatoria de las cuatro aflatoxinas (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2), dependiendo de los diferentes alimentos (maní, frutos de cáscara, frutos secos y productos derivados de su transformación, cereales y productos derivados de su transformación) y en el caso de alimentos infantiles y alimentos elaborados a base de cereales para lactantes y niños de corta edad y alimentos dietéticos destinados a usos médicos especiales dirigidos específicamente a los lactantes, la concentración máxima permitida de AFB1 es de 0,10 µg/kg^{22,23,24,25}.

Conocidas desde 1960, las aflatoxinas han sido detectadas en varios países con porcentajes variables^{9,22}. En el Perú, se determinó la presencia de aflatoxinas en el 32% de varias especies de cereales¹⁶ siendo éste uno de los pocos antecedentes sobre el particular. Ello condujo a la ejecución de la presente investigación dirigida a determinar la presencia de aflatoxinas en productos derivados de cereales de consumo humano que se expenden en los mercados de la ciudad de Trujillo (Perú) y considerando que las aflatoxinas han sido reportadas como los contaminantes naturales de alimentos más peligrosos para la salud humana y están clasificadas como cancerígenos Clase 1 por la Agencia Internacional de Investigaciones sobre Cáncer (IARC).

MATERIAL Y MÉTODOS

Material de Estudio

Se obtuvo, al azar, 47 muestras de 250 g cada una, de avena, harina de maíz y trigo que se expenden los mercados de la Hermelinda, Unión, Central y Zonal Palermo de la ciudad de Trujillo (Perú), en los que no se observaron alteración aparente (Tabla 1).

Recolección y procesamiento

Las muestras fueron recogidas y procesadas de acuerdo a las técnicas sugeridas en el método RIDASCREEN®FAST Aflatoxin Total que es un inmunoensayo enzimático competitivo para el análisis cuantitativo de aflatoxina en cereales y alimentos para animales (raciones balanceadas). Las muestras se colocaron en bolsas plásticas transparentes de primer uso debidamente rotuladas y posteriormente se llevaron al Laboratorio de Microbiología y Tecnología de alimentos de la Facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad nacional de Trujillo, para ser analizadas.

Detección de aflatoxinas

Método inmunoenzimático RIDASCREEN®FAST Aflatoxin Total

Extracción^{27, 28}

Se pesaron 5 g de la muestra y se mezcló con 25 ml de metanol al 70%, agitándose por 3 minutos. Luego, el extracto fue filtrado a través de un papel Whatman N°1. Luego se diluyó 1ml del filtrado con 1ml de agua destilada. Se utilizó 50 ul del filtrado diluido por micropozo en el test.

Proceso^{29, 30}

- Se llevaron todos los reactivos a temperatura ambiente (20-25° C) por 30 minutos antes de ser utilizados.
- Se colocaron suficientes micropozos en el marco portamicropozos para el estándar y para las muestras analizar.
- Se agregó 50 µl del estándar y de las muestras a analizar a los micropozos correspondientes.
- Se utilizó una punta de micropipeta nueva para el estándar y para cada muestra.
- Se agregó 50 ul del conjugado aflatoxina-enzima a los micropozos correspondientes.
- Luego se agregó 50 ul del anticuerpo anti-aflatoxina a cada micropozo.
- Se mezcló el contenido de la microplaca suavemente y se incubó durante 5 minutos a temperatura ambiente.
- Después se vació los micropozos y luego se golpeó enérgicamente (tres veces consecutivas) el marco portamicropozos sobre un papel absorbente limpio y asegurarnos la eliminación de restos líquidos.
- Los micropozos fueron lavados con agua destilada utilizando una botella de lavado, nuevamente se vació los micropozos de la forma ya indicada.
- Se repitió este paso dos veces más.
- Posteriormente se agregó 100 ul del substrato/ cromógeno a cada micropozo.
- Luego se mezcló el contenido suavemente y se incubó 5 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente (20-25° C).
- Después se agregó 100 ul de reactivo de parada a cada micropozo.
- Se mezcló suavemente y se midió la absorción a 450 nm en el transcurso de los siguientes minutos

Tabla 1. Número de muestras y pesos de avena, harinas de maíz y trigo obtenidas de los mercados de la Hermelinda, Unión, Mayorista y Central de la ciudad de Trujillo (Perú).

Mercado	Muestra	Peso	Cantidad	Total
Hermelinda	Avena	250 kg	2	8
	Harina de trigo	250 kg	1	
	Harina de maíz	250 kg	5	
Unión	Avena	250 kg	6	16
	Harina de trigo	250 kg	6	
	Harina de maíz	250 kg	4	
Mayorista	Avena	250 kg	3	8
	Harina de trigo	250 kg	3	
	Harina de maíz	250 kg	2	
Central	Avena	250 kg	5	15
	Harina de trigo	250 kg	5	
	Harina de maíz	250 kg	5	
Total				47

Los valores de absorción que se obtuvieron del estándar y de las muestras se dividieron por el valor de absorción del estándar (estándar cero) y se multiplicaron por 100. De esta forma el estándar cero que es igual a 100 % y los demás valores de absorción se indicaron en porcentaje.

RESULTADOS

De un total de 47 muestras de avena, harina de trigo y maíz que fueron analizadas mediante la prueba de Elisa, dos muestras de harina de maíz resultaron positivas a la presencia de aflatoxinas. Los valores obtenidos fueron de 1,0 y 1,2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Tabla 2). En la misma Tabla 2 se observa que el número de muestras analizadas para cada materia prima fue de 16 muestras de harina de maíz, 15 de harina de trigo y 16 de avena, así también la cantidad de muestras positivas que en este caso fueron 2 para harina de maíz la cual tiene una ocurrencia de 12.5 % y su lectura de absorbancia tiene un rango de 0.935 – 0.942 y la cantidad de aflatoxinas tiene un rango de 1.0 – 1.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$. El resto de muestras de avena y harina de trigo fueron negativas a la presencia de aflatoxinas.

Tabla 2. Número de muestras analizadas, muestras positivas y niveles de Aflatoxina presentes en harina de maíz, trigo y avena para Consumo Humano que se Expenden en los Mercados de Trujillo (Perú).

Materia prima	Nº de Muestras analizadas	Nº de Muestras positivas a la presencia de aflatoxinas	Frecuencia relativa	Lectura de absorbancia		
				Media	Rango	ppb (ug/kg)*
Harina de maíz	16	2	12.5 %	0.938	0.935 - 0.942	1.0 - 1.2
Harina de trigo	15	0	0	1.128	1.153 - 1.291	0
Avena	16	0	0	1.128	1.153 - 1.291	0
Total	47					

*FAO/OMS³¹: 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ nivel máx.

DISCUSIÓN

Los resultados de la tabla 1 muestran que de 47 muestras de avena, harina de maíz y trigo dos de ellas resultaron positivas a la presencia de aflatoxinas, en la tabla 2 se observa que las muestras positivas fueron encontradas en harina de maíz con una ocurrencia de 12.5% y una concentración de aflatoxinas de 1.0 y 1.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, estos valores encontrados no superan los niveles superiores a los parámetros europeos de 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^{1,31}.

Los valores de aflatoxina encontrados corresponden a lo señalado por varios autores que citan al maíz como la materia prima para alimento, más susceptible de contaminación por aflatoxinas^{24,25,26,27,28}. La contaminación por aflatoxinas en maíz es un problema de importancia internacional, sobre todo en aquellos países con clima tropical y subtropical donde el desarrollo por *Aspergillus* se ve favorecido; entre otros factores, se ha reportado que la sequía, como condición del medio ambiente y la fertilización nitrogenada empleada en la práctica agronómica son favorables para la síntesis de aflatoxinas en el campo^{9,23,25,26}.

La ocurrencia de un 12.5% en muestras positivas en harina de maíz es muy similar a lo encontrado en un trabajo anterior, donde se obtuvieron resultados de ocurrencia cercana al 12.8% en maíz¹⁷; comparando los resultados, se refleja que aun en diferentes regiones, en diferentes épocas y años, se encuentran porcentajes de ocurrencia similares, dejando ver que el manejo del grano continúa con deficiencias en sus condiciones, especialmente en el almacenamiento, donde habitualmente se produce la contaminación con

aflatoxina B₁(AFB₁). Esta característica resalta la necesidad de contar con políticas de inocuidad más efectivas para este tipo de productos y contaminantes^{1,9}.

La presencia de aflatoxinas en dos muestras de maíz, ponen de manifiesto que existen algunas deficiencias en el manejo post-cosecha de granos especialmente durante el almacenamiento. Los resultados obtenidos, aunque son puntuales, dejan ver que se hace necesario implementar estrategias para la vigilancia, el seguimiento y control de este tipo de contaminantes de ocurrencia natural los cuales tienen implicaciones directas sobre la salud humana. Los resultados pueden ser variables en otras regiones, épocas del año y en circunstancias particulares. Se requiere continuar este tipo de muestreo con el fin de obtener mayor cantidad de datos que permitan analizar el comportamiento de los niveles de aflatoxinas en alimentos de consumo humano¹.

En un estudio realizado en 'El Bajío', México, para investigar si la contaminación del maíz almacenado de esa región está relacionada con la infección por *Aspergillus* desde el campo, Bucio-Villalobos 2001 encontraron que esta contaminación por aflatoxinas en maíz se debía a las deficientes condiciones de almacenaje luego de cosechado⁴³. El manejo inadecuado del grano durante la cosecha, transporte y almacenaje generalmente ocasiona el incremento de grano enmohecido. Una cosecha inoportuna y el uso de cosechadoras mal calibrados que generan daño mecánico al grano, así como una deficiente desecación del mismo antes del almacenamiento promueven el crecimiento de *Aspergillus* en el grano de maíz, en donde las especies productoras de aflatoxinas pueden estar presentes³⁰. Así el manejo inadecuado de las temperaturas en el almacén es un factor que promueve el desarrollo de hongos potencialmente toxigénicos, así mismo, la producción de aflatoxinas. Munkvold (2003) encontró que las temperaturas óptimas para almacenar granos no deben exceder preferentemente los 20° C³⁰.

Las interacciones con insectos (vectores) que producen un daño físico al maíz como la presencia de otros microorganismos, afectan la producción de aflatoxinas, así, *Brevibacterium linens* y *Streptococcus lactis*, inhiben su síntesis mientras que *Lactobacillus plantarum* y *Acetobacter aceti* la estimulan; así también cuando los hongos *Aspergillus* crecen en cultivo mixto con *Penicillium oxalicum* u otros hongos, se reduce la producción de aflatoxinas. Esta interacción con otros microorganismos afirma que la diversidad en los niveles de aflatoxinas se debe a las múltiples interacciones entre el género *Aspergillus* y su entorno biótico y abiótico. Según carrillo 2010, esto se debe a que en campo en almacenamiento, los factores ambientales no son constantes, por lo que puede ocurrir un crecimiento fúngico significativo sin encontrarse la cantidad de aflatoxinas esperadas¹⁶.

Una gran variabilidad en la incidencia de aflatoxinas, está influenciada por factores climáticos como: temperatura, acidez, humedad, presencia de microflora competidora, actividad de agua, concentraciones de CO₂, pH; dejando ver que el manejo del grano continúa con deficiencias en sus condiciones²⁹. El hecho de que haya una alta incidencia de hongos toxigénicos no necesariamente está relacionada con una alta producción de micotoxinas, es notable el hecho de que el efecto potencial de éstas últimas es acumulativo es los sistemas bilógicos expuestos o consumidores del grano contaminado. Por ello, las instituciones involucradas en la sanidad de los alimentos deben implementar las medidas necesarias para promover la inocuidad de los granos de maíz¹⁸.

En los resultados de la Tabla 2 también se observa que en las muestras de avena y harina de trigo se detectó la presencia de aflatoxinas, estos resultados son satisfactorios para la población trujillana, lo que indican que el nivel de riesgo es bajo y no representan un peligro significativo en relación a las muestras analizadas. No obstante debe considerarse que las muestras analizadas no corresponden a un muestreo sistemático, ni a un monitoreo permanente de la calidad e inocuidad de los productos, sino que por el contrario corresponden a un muestreo puntual tomado en una sola oportunidad a lo largo del estudio.

Es posible que estos resultados tengan variaciones respecto a la época del año, las condiciones climáticas y ambientales de cada periodo y cada subregión, por lo tanto no se deben generalizar. Es posible que la ocurrencia de aflatoxinas no sea detectable, sin embargo el número de muestras también puede haber sido muy bajo para afirmar que no se presentan aflatoxinas en harina de trigo y avena, en términos generales. En este sentido se hace necesario continuar monitorizando en diferentes puntos de comercialización y en mayores períodos de tiempo¹.

En el Perú el límite máximo tolerable para los alimentos de consumo humano es de 10 ppb según el codex alimentarius pues, no hay normas alimentarias en nuestro país. La administración de alimentos y

drogas (FDA) establece que el límite máximo permitido en los alimentos y productos de consumo humano es de 20 ppb²¹. La FAO/OMS señala que la reglamentación Venezolana, para micotoxinas en maíz y sus derivados, admite concentraciones de aflatoxinas B1, B2, G de hasta 20 ppb; no obstante, siendo estos valores permitidos similares a los aceptados en otras regiones, como E.E.U.U. y otros países latinoamericanos y europeos, en donde indican permitir valores desde 1 hasta 20 ppb para alimento destinado a personas y rangos desde 20 a 300 ppb para animales, la falta de rigurosidad en el control de calidad de este grano empleado para la producción de alimento ha generado problemas de salud, principalmente en animales domésticos^{23,24,25}.

En la actualidad, en la ciudad de Trujillo no se ha reportado estudios sobre la contaminación por *Aspergillus* y sus metabolitos en harina de maíz, trigo y avena. Un estudio realizado por Cruzalegui en 1985 en nuestra ciudad ha demostrado una contaminación con aflatoxina en un 40% de muestras de avena molida⁴¹, después Valencia en 1992 demostró la acción toxigénica de *A. flavus* aislado de muestras de arroz que se consume en la ciudad de Trujillo³¹.

CONCLUSIONES

- Considerando las condiciones en las que se ha trabajado se concluye que se detectó la presencia de aflatoxinas en un 12.5% en las muestras de harina de maíz de los mercados la Unión y Central de la ciudad de Trujillo; las muestras de avena y harina de trigo fueron negativas a la presencia de aflatoxinas.
- La presencia de aflatoxinas encontradas están por debajo de los niveles superiores que son de 20 ug/kg, según la normativa de la FAO/OMS.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Morris NL. Determinación de aflatoxinas en muestras de maíz (*Zea mays*) y arroz (*Oryza sativa*) para consumo humano en cinco departamentos de la Costa Caribe Colombiana mediante cromatografía de alta eficiencia. (tesis Magisterial). Bogotá: Universidad Nacional de Colombia. 2011.
2. Rojas O, Wilches A. Determinación de aflatoxinas en alimentos de mayor consumo infantil comercializados en la ciudad de Pamplona, Norte de Santander. Bistua 2009; 7: 1-11.
3. Vallejo LM. Determinación de aflatoxinas B1, B2, G1, G2, presentes en harina de maíz del sector de Tumbaco mediante el uso de columnas de inmunoafinidad (IAC) y cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC). (tesis Magisterial). Ecuador: Departamento en Ciencias de la Vida, Ingeniería en Biotecnología.; 2012.
4. Gonzalo J, Díaz G. Micotoxinas Presentes en la Soya y sus Subproductos. Cali: Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia Universidad Nacional de Colombia. 1995.
5. Fernández SG, Negrón GG, Isea FG, Sánchez CE. Reporte de Análisis Cuantitativo por el Método Elisa en muestras de materias primas de alimentos balanceados para aves provenientes de una planta ubicada en el municipio Mara en el estado de Zulia, Venezuela 2000. Rev. Científica, FCV-LUZ; 10(1): 63-68.
6. Izquierdo C, Rojas E, Rangel L, Márquez S. Presencia de aflatoxinas en algunos alimentos 2009. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 13:485-492.
7. Pozas SR, Abad AJ. Adsorción de Micotoxinas presentes en los Alimentos Mediante Biopolímeros. España: Universidad Politécnica De Cataluña. 2010.
8. Peraica M, Radic B, Lucic A, Pavlovic M. Efectos Tóxicos de las Micotoxinas en el ser Humano. Bull WHO 1999; 77 (9): 754-766.
9. Díaz GJ, Perilla NS, Rojas Y. Occurrence Of Aflatoxins In Selected Colombian Foods. Mycotox. Res. 2001; 17: 15-20.
10. Duarte VS, Villamil JL. Micotoxinas en la Salud Pública. Rev. Salud Pública 2006; 8: 129-135.
11. Soldevilla C., Vázquez C., Patiño B., Jurado M., González JM. Hongos toxicogénicos asociados a trigos y cebadas de Castilla y León. Rev Bol SanVeg Plagas 2005; 31: 519-529.
12. Qureshi M, Brake P, Hamilton W, Hagler JR, Nesheim S. Dietary Exposure of Broiler Breeders to Aflatoxin Results in immune Dysfunction in Progeny Chicks. Poultry Sci. 1998; 77: 812-819.
13. Cabrerizo IC. El maíz en la alimentación humana: Nutrición y dietética, Universidad Complutense de Madrid. 2004.

14. Caballero MJ, Arbaiza FT. y Lucas AO. Niveles Críticos de Aflatoxina en Muestras de Maíz para Consumo Animal en Lima Metropolitana. Rev Inv Vet Perú 2001 12(1): 35-40.
15. Bermúdez AM; Espinosa PA; Valenzuela QA y Vázquez ML. Extracción y Determinación de Aflatoxinas en Muestras de Hígado y Músculo de Cerdos 2002. FCV-LUZ 12(1): 53-59.
16. Medina MF, Irey J, Roque M. Determinación de aflatoxinas en algunos productos naturales utilizando el medio Agar coco y ELISA LIGADA. Rev. Ciencia e Investigación 2002; 5(2): 46-54
17. Acuña C.A, Díaz, G.J. y Espitia M.E. Aflatoxinas en maíz: reporte de un caso en la Costa Atlántica colombiana. Rev Med Vet Zoot 2005; 52: 156-162.
18. Lemus ED, Maniscalchi BM, Vera R, De Freitas J, Sangermano A. Presencia de Aflatoxinas y Hongos Aflatoxigénicos en Maíz Amarillo Tipo Duro Clase I de La Zona Nororiental de Venezuela. Rev. Saber, Universidad de Oriente, Venezuela 2007; 19(1): 43-49.
19. Medina GM, Irey NJ, Roque AM. Determinación de aflatoxinas en algunos productos naturales utilizando el medio Agar coco y ELISA Ligada. Rev Ciencia e Investigación 2002; 5(2):46-54.
20. Munkvold GP. Cultural and genetic approaches to managing micotoxins in corn. Annual Review of Phytopathology 2003; 41: 99-116.
21. FAO/OMS. Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en alimentos y en las raciones en el año 2003. Estudio FAO: Alimentación y Nutrición 81. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma. Italia. 2004.
22. Ali N, Yamashita A, Yoshizawa T. Natural co-occurrence of aflatoxins and *Fusarium* mycotoxins (fumonisins, deoxynivalenol, nivalenol, zearalenone) in corn from Indonesia. Food Addit Contam. 1998; 15(4): 377-384.
23. Nepote M, Piontelli E, Saubois A. Occurrence of *Aspergillus flavus* strains and aflatoxins in corn from Santa Fe, Argentina. Arch Latinoam Nut 1997; 47(3): 262-264.
24. Qureshi M, Brake P, Hamilton W, Hagler JR, Nesheim S. Dietary Exposure of Broiler Breeders to Aflatoxin Results in immune Dysfunction in Progeny Chicks. Poultry Sci. 1998; 77: 812-819.
25. Sabino M, Prado G, Ikejire I, De Olivera M, Baleiro R. Natural occurrence of aflatoxins and zearalenone in maize in Brazil. Part II. Food Addit. Contam 1998; 6 (3): 327-331.
26. Silvotti L, Petterino C, Cabassi E. Immunotoxicological effects on piglets of feeding sow diets containing aflatoxins. Vet. Rec. 1997; 141:462-472.
27. Torres E, Askar K, Torres L, Olivera R, Castellon J. Quantification of aflatoxins in corn distributed in the city of Monterrey. Mexico. Food Addit Contam. 1995; 12(3): 387-393.
28. Martínez F. y García A. Inspección de aflatoxinas en maíz cultivado, almacenado, transportado en el estado de Tamaulipas, México, en 1998. An Inst Biol, Serie Botánica 2003; 74: 13-321.
29. Medina GM, Irey NJ, Roque AM. Determinación de aflatoxinas en algunos productos naturales utilizando el medio Agar coco y ELISA Ligada. Rev. Ciencia e Investigación 2002; 5(2):46-54.
30. Reyes E. Determinación de aflatoxinas M, en productos alimenticios de origen animal en Guatemala. En: XI Cong Panamer Farm y Bioq, Lima-Perú, 1982. pp.326-332.
31. Valencia SA. Detección de *Aspergillus flavus* en *Oryza sativa* que se consume en la ciudad de Trujillo y demostración de su acción toxigénica en *Anser anser*. Tesis Br en Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú, 1992.
32. Bucio-Villalobos CM, Guzmán de Peñas D, Peña-Cabriales JJ. Aflatoxin synthesis in corn fields in Guanajuato, México. Rev Iberoam Micol. 2001; 18: 83-7.