

11. Aflatoxinas y Ocratoxinas totales en maíz para autoconsumo de agricultores de subsistencia de El Salvador.

Total Aflatoxins and Ochratoxins in stored maize
for small farmer's self-consumption in El Salvador.

José Roberto Hernández Rauda¹,
Alvin Tedis Cruz Salmerón²,
Roxana Ivette Martínez López³
Universidad Doctor Andrés Bello

RESUMEN

El estudio es una extensión en cobertura del tamizado realizado en 2014. Los objetivos fueron la determinación de la prevalencia de niveles sobre norma europea y la caracterización de factores asociados a contaminación por Aflatoxinas (AFT) y Ocratoxinas totales (OT) en maíz blanco. El estudio se realizó entre enero y junio de 2015, en cuatro localidades agrícolas. Se obtuvo de 196 agricultores participantes un kg de grano de maíz, datos físicos de la muestra e información relacionada con prácticas de cultivo. Las muestras se procesaron y se analizaron siguiendo protocolo para AFT y OT mediante método ELISA competitivo directo. La prevalencia de positivos a AFT y OT ($\geq 5 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$) fue de 13.8% y 1.8%, respectivamente. Los valores medianos de AFT y de OT fueron 18 y 3 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$, respectivamente. Se demostró diferencias significativas entre trazas y positivos respecto a negativos en el tiempo de secado de la mazorca en la planta, humedad relativa y temperatura del grano y menor altitud del sitio de almacenamiento, por lo que son considerados como factores predisponentes de contaminación por AFT en el maíz ($p < 0.05$).

Palabras claves: Aflatoxinas, Ocratoxinas, Maíz, Consumo Humano

ABSTRACT

The study is an extension in the coverage of the screening carried out in 2014. The aims were to determine the prevalence of levels over European standard for aflatoxins (AFT) and total Ochratoxins (OT) in white maize, and to characterize some physical factors and cropping-storing practices associated with AFT and OT contamination. The study was conducted from February to June 2015, in four Salvadorian agricultural locations. Samples of one kg maize grain, physical data, and information related to crop and store practices were obtained from 196 small farmers. The samples were processed and analyzed according to protocol for assaying AFT and OT by competitive direct ELISA method. Prevalence of AFT and OT positives ($\geq 5 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$) was 13.8% and 1.8%, respectively. The AFT and OT median values were 18 and 3 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$, respectively. Positive maize samples

¹ Universidad Dr. Andrés Bello, Doctor en Ciencias Biológicas, Director de Investigación y Proyección Social. Correo electrónico roberto.rauda@unab.edu.sv

² Universidad Dr. Andrés Bello, Licenciado en Química y Farmacia, Responsable Laboratorio de Investigación

³ Universidad Dr. Andrés Bello, Licenciada en Laboratorio Clínico, Coordinadora de Investigación, Sede Central.

significantly got less drying time of the ear on the folded plant, higher relative humidity into storing device, higher grain bulk temperature, and lower altitude at storage site than negative ones. Therefore, these factors are predisposing AFT contamination in grains ($p < 0.05$).

Keywords: Aflatoxins, Ochratoxins, Maize, Human Consumption

11.1 INTRODUCCIÓN

Las micotoxinas son metabolitos de hongos patógenos de las plantas, que afectan aproximadamente al 25% de cultivos vegetales destinados a la alimentación (European Food Safety Authority [EFSA], 2012). Esos hongos pertenecen a los géneros *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, entre otros, producidos en diferentes sustratos y bajo ciertas condiciones climáticas (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [FAO], 2003), especialmente de humedad relativa y de temperatura de las localidades de cultivo (EFSA, 2012).

Del total de micotoxinas, cinco tipos son relevantes como contaminantes naturales de alimentos: Aflatoxinas, Ochratoxinas, Tricotecenos, Zearalenona y Fumonisinias (FAO, 2003; Vega 2011), abordando solo los primeros tipos para efectos de este estudio.

Las Aflatoxinas o AF, producidas por las especies *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*; son las que contaminan con mayor frecuencia a los cereales, afectando principalmente al maíz, trigo y al arroz (EFSA, 2012, 2013). Esa condición y el hecho que las AF son reconocidos agentes hepatotóxicos y cancerígenos para los humanos (International Agency for Research on Cancer [IARC], 1993; EFSA, 2013), justifica la importancia de detectar los contenidos en los cereales y cuán extendida está la contaminación por el conjunto de AF (B₁, B₂, G₁ y G₂), denominadas como Aflatoxinas totales o AFT (EFSA, 2012).

Las Ochratoxinas (OT), producidas por las especies *Aspergillus ochraceus*, *A. niger* y *Penicillium verrucosum*, agrupan las variantes A, B y C (Reddy & Bhoola, 2010). Aunque la Ochratoxina A (OTA) es la más prevalente de las tres, todas son metabolitos nefrotóxicos, relacionadas etiológicamente con ciertos casos de Nefropatía Endémica y están consideradas como posibles carcinógenos (IARC, 1993; World Health Organization [WHO], 2007; Reddy & Bhoola, 2010). Las OT son contaminantes de cereales como el trigo, maíz, cebada, avena, leguminosas como el frijol, el café verde, entre otros productos (Centre for Food Safety [CFS], 2006; Reddy & Bhoola, 2010).

La importancia de determinar la concentración de AFT y OT, así como la prevalencia de eventos de contaminación en maíz, se basa en las enfermedades que esas micotoxinas causan (IARC, 1993; WHO, 2007), en las implicaciones para el Sistema Nacional de Salud y en el cumplimiento de regulaciones que atañen a controles de inocuidad de alimentos como los cereales y sus derivados (FAO, 2004).

En El Salvador, los hallazgos de tres trabajos previos son relevantes en el estudio de las Aflatoxinas y Ochratoxinas que contaminan el maíz para alimentación humana. En 1985 se detectó presencia de Aflatoxina B₁ en el 27% de las muestras analizadas a nivel nacional, con niveles que sobrepasaron los 30 ng·g⁻¹ (Calderón, 1987). En maíz colectado en mercados municipales del Área Metropolitana de San Salvador, Posada y Escobar (1991) encontraron una prevalencia del 42.8% de la muestra para AFT, en contenidos superiores a 4 ng·g⁻¹.

Posteriormente, Vega (2011) determinó una prevalencia del 12.5% en las muestras analizadas para AFT, con niveles que llegaron hasta los 62 ng·g⁻¹, mientras que los niveles de las Ocratoxinas totales se ubicaron bajo el límite de cuantificación de la técnica analítica empleada.

De forma reciente Cruz, Martínez y Hernández Rauda (2014), muestrearon tres localidades agrícolas y encontraron prevalencias del 15.6% de casos positivos a AFT y 0.8% de casos positivos a OT, catalogadas como de muy baja frecuencia. Los contenidos medianos variaron entre 5 y 7 ng·g⁻¹ para las AFT y 2.7 ng·g⁻¹ para las OT, con valores máximos de 132.3 ng·g⁻¹ y 17.2 ng·g⁻¹, respectivamente.

No obstante de lo anterior, persiste escasa información para El Salvador sobre los niveles de AFT y OT en maíz blanco para autoconsumo, de la prevalencia e incidencia de positivos (casos) en los sitios de origen del grano, así como de la extensión territorial de la contaminación por ambas micotoxinas.

La connotación que esta brecha de conocimiento tiene para la salud pública, radica en que el número de posibles afectados no se limita a quienes cultivan, cosecha y consumen el maíz sino a las personas que ingieren alimentos derivados de ese grano, por conducto de la venta de los excedentes de los productores.

Por consiguiente, con el estudio se pretendió cuantificar los niveles de AFT y OT en maíz blanco desgranado y almacenado para consumo humano, determinar la prevalencia de contaminación y caracterizar factores físicos y prácticas de manejo post cosecha, correlacionados significativamente con la positividad a AFT y OT.

11.2 MATERIALES Y MÉTODOS

Este fue un estudio observacional descriptivo con diseño transversal, realizado entre enero y junio de 2015 y se utilizó una muestra por conveniencia de 196 agricultores, aplicando como criterio principal que fueran de subsistencia, beneficiarios del paquete agrícola, residentes en localidades previamente muestreadas (Cruz et al., 2014) y que dieran su consentimiento por escrito para participar en el estudio. Los sitios muestreados fueron: cantones Atiocoyo, Los Chilamates y Arracaos de San Pablo Tacachico y Nueva Concepción, respectivamente (microrregión Valle Alto del Lempa); San José Cancasque (Chalatenango); cantón Metalfo de Acajutla (Sonsonate) y Villa San Antonio (San Miguel).

Las características de los participantes fueron: agricultores de subsistencia, con edad mediana de 48.5 años, con promedios de escolaridad de 2.8 años, de superficie cultivada de 1.4 mz., y de rendimiento de 21 qq/mz., que destinan el 86% para autoconsumo y el 10% para venta, el 90% son usuarios de semilla híbrida, el 82% son beneficiarios del paquete agrícola y solo el 1% recibe asistencia técnica de entidades públicas o privadas.

La colecta de datos sociodemográficos y de prácticas agrícolas recurrentes durante y posterior a la cosecha, se realizó aplicando una guía de entrevista a cada agricultor participante, previamente utilizada (Cruz et al., 2014); simultáneamente se obtuvo una muestra de 1 kg de maíz desgranado, cosechado de la siembra primera 2014 y proveniente del medio de almacenamiento en uso, conforme a la Norma Oficial Mexicana NOM-188-SSA1-2002, midiéndose además la temperatura de la masa de granos, la humedad relativa adentro del medio de almacenaje, la temperatura ambiental y la altitud del sitio de acopio del grano, expresada en metros sobre el nivel del mar (msnm).

Cruz et al. (2014), describen los procedimientos para el análisis de composición esencial y factores de calidad del grano, así como la extracción de las micotoxinas y su cuantificación por el método ELISA Competitivo Directo, a través de kits VERATOX® de NEOGEN® específicos para AFT y OT.

En este estudio y en el anterior (Cruz et al., 2014), se adoptaron los límites máximos permitidos por la Unión Europea porque proveen de un adecuado margen de seguridad para proteger la salud humana (EFSA, 2012) y que fueron establecidos en 4 ng·g⁻¹ para la AFT y en 5 ng·g⁻¹ para la OT (FAO, 2004); no obstante, solo se consideró positivas aquellas muestras cuyo valor cuantificado de toxina fuera igual o superior a 5 ng·g⁻¹, tanto para AFT como para OT, atendiendo especificaciones del fabricante de los kits reactivos. Las mediciones ubicadas entre el límite de detección de los kits (AFT 1.4 ng·g⁻¹ y OT 1.0 ng·g⁻¹) y por debajo de 5 ng·g⁻¹ para ambas micotoxinas, fueron consideradas como trazas. Las muestras con valores arriba del control máximo de los kits (AFT 50 ng·g⁻¹, OT 25 ng·g⁻¹), fueron reensayados por medio de dilución para hacer una apropiada cuantificación de los contenidos, conforme también a las especificaciones de los conjuntos reactivos.

La significación estadística para medias se determinó a través de prueba t de Student, para un nivel <0.05. Para establecer la asociación entre variables se calculó el coeficiente de Pearson. Las pruebas y figuras se generaron a través del programa IBM SPSS Statistics v.22.

11.3 RESULTADOS

De un total de 196 muestras analizadas, 27 resultaron positivas a AFT. Los niveles medianos oscilaron de 9.4 ng·g⁻¹ en Villa San Antonio hasta 24.6 en San José Cancasque, alcanzándose un máximo de 154.4 ng·g⁻¹ en Metalío (Tabla 1). De 114 muestras examinadas, dos fueron positivas a OT y a otras 31 pudieron cuantificársele niveles de OT sin sobrepasar el límite máximo permitido (5 ng·g⁻¹), considerándolas como trazas. Las medianas variaron de 2.5 ng·g⁻¹ en el Valle Alto del Lempa hasta 3.2 en Metalío, localidad donde se alcanzó el valor máximo de 16.2 ng·g⁻¹ (Tabla 1).

Tabla 1. Niveles de Aflatoxinas (AFT) y Ocratoxinas totales (OT), detectados en muestras de maíz blanco para autoconsumo de cuatro localidades agrícolas de El Salvador.

Parámetros relacionados con niveles de AFT y OT	Atiocoyo, Los Chilamates y Arracaos		San José Cancasque		Metalío		Villa San Antonio	
	AFT	OT	AFT	OT	AFT	OT	AFT	OT
Número de muestras cuantificadas	5	1	5	5	13	6	4	21
Valor Mediano (ng·g ⁻¹)	19.2	2.5 [†]	24.6	2.9	15.0	3.2	9.4	3.0
Mínimo	5.8	---	6.8	2.2	5.0	2.0	5.4	2.0
Máximo	27.8	---	49.4	4.5	154.4	16.2	18.3	4.5
Percentil 25	11.9	---	14.2	2.4	8.9	2.4	6.3	2.5
Percentil 75	24.4	---	44.5	4.0	48.2	9.6	16.2	3.6

Elaboración propia

[†] Valor único

La prevalencia de positividad a AFT en muestras se presenta en la Figura 1. La mayor prevalencia se detectó en Metalío (>27%) y la menor en Villa San Antonio (8%), mientras que en las otras dos localidades se registró prevalencias próximas a 10%. En cuanto a la prevalencia de la OT, la única localidad donde se encontró positividad en dos casos fue en Metalío, con un valor calculado cercano al 8% (Figura 1).

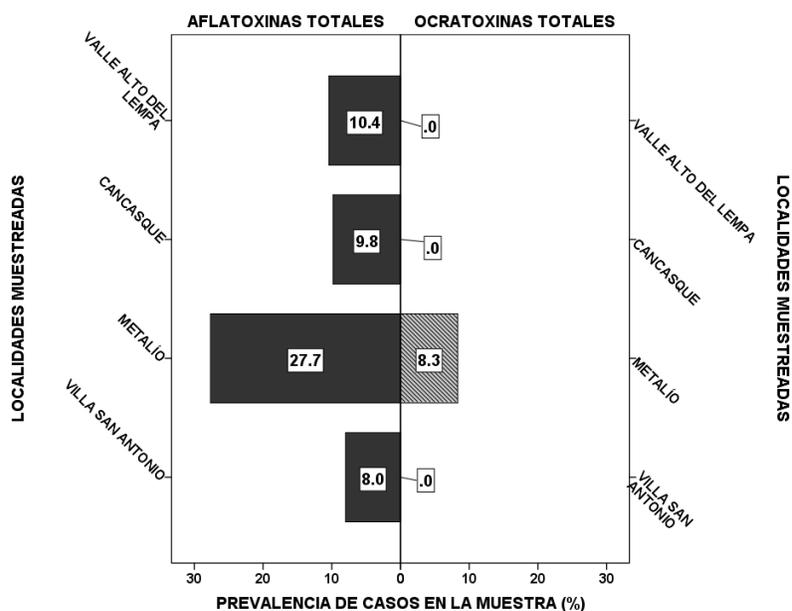


Figura 1. Prevalencias de casos de contaminación por Aflatoxinas totales (AFT) y Ocratoxinas totales (OT), detectados en las muestras colectadas en 2015 y registrados por localidad. Los datos representados son porcentajes del total de muestras analizadas. Elaboración propia.

Entre 2014 y 2015 se detectaron 11 casos nuevos de contaminación por AFT, no así para OT. La mayor incidencia se registró para Metalío con 21 casos nuevos por cada 100 muestras-año, seguido del Valle Alto del Lempa y Villa San Antonio con 8 y 3.2 casos nuevos por 100 muestras-año, respectivamente (Figura 2). La incidencia para esas tres localidades se estima en 10.7 casos nuevos por 100 muestras-año.

Aquellas muestras que presentaron contenidos de AFT a nivel de trazas ($<5 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$) o clasificadas como positivas ($\geq 5 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$), les caracterizó tener menor tiempo promedio de secado de la mazorca en la planta y una media significativamente mayor de tiempo de secado solar del maíz desgranado, en comparación con las muestras que resultaron negativas (Figura 3).

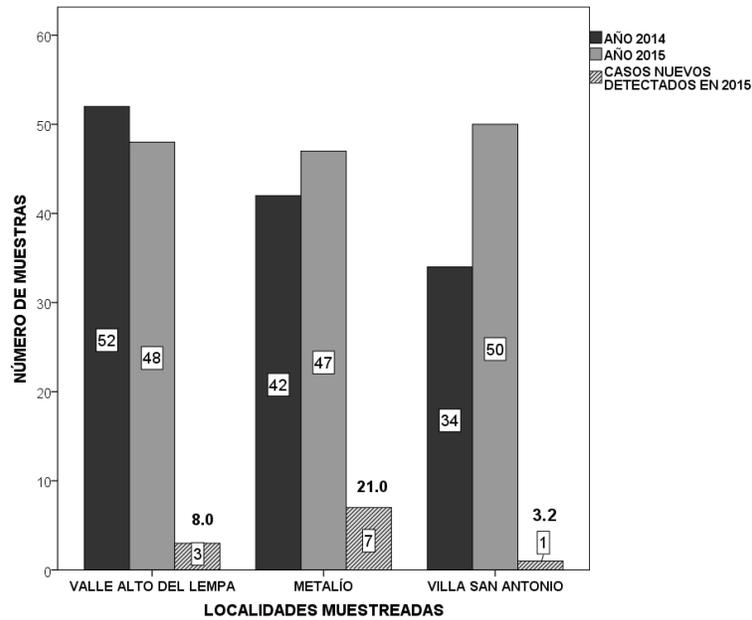


Figura 2. Muestras colectadas en 2014 y 2015 e incidencia de contaminación por Aflatoxinas totales en 2015 por localidad. Las barras sólidas representan totales por año y localidad, mientras que los números sobre las barras rayadas son tasas de incidencia expresadas como casos nuevos por cada 100 muestras·año⁻¹. Elaboración propia.

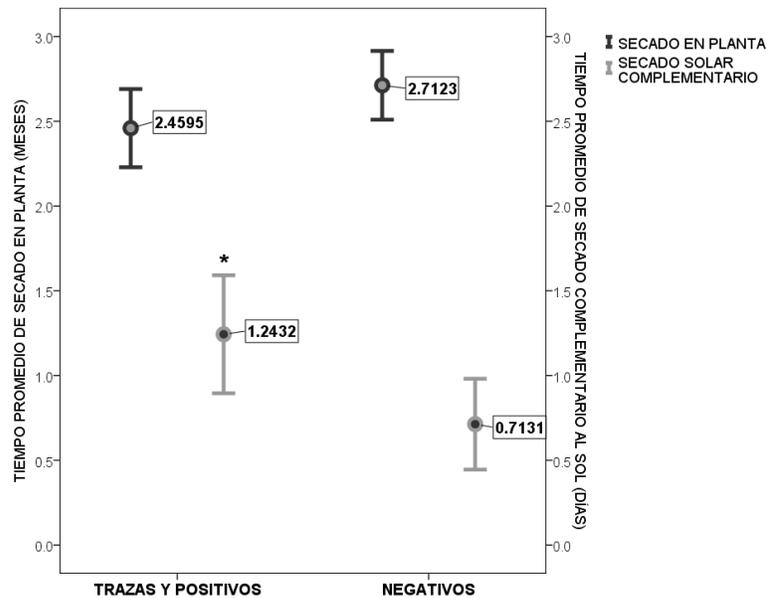


Figura 3. Tiempo de secado de mazorcas en la planta, expresado en meses (izquierda) y tiempo de secado complementario del grano al sol, expresado en días (derecha). Los datos representados son medias \pm 2 EEM. El asterisco en la barra de las trazas y positivos indica diferencias significativas con respecto a los negativos ($p < 0.05$, t de Student, positivos $n=74$, negativos $n=122$). Elaboración propia.

Diferencias significativas se detectaron también en los promedios de parámetros físicos como la humedad relativa dentro del medio de almacenamiento, en la temperatura de la masa de granos y en la altitud del sitio de almacenaje del maíz (Figuras 4 y 5). Las muestras con contenidos de AFT a nivel de trazas o positivas tuvieron promedios de humedad relativa y temperatura significativamente mayores que los valores presentaron las muestras negativas (Figura 4); en tanto que la media de altitud del sitio de almacenaje del grano fue significativamente menor en las muestras trazas o positivas en comparación con las negativas (Figura 5).

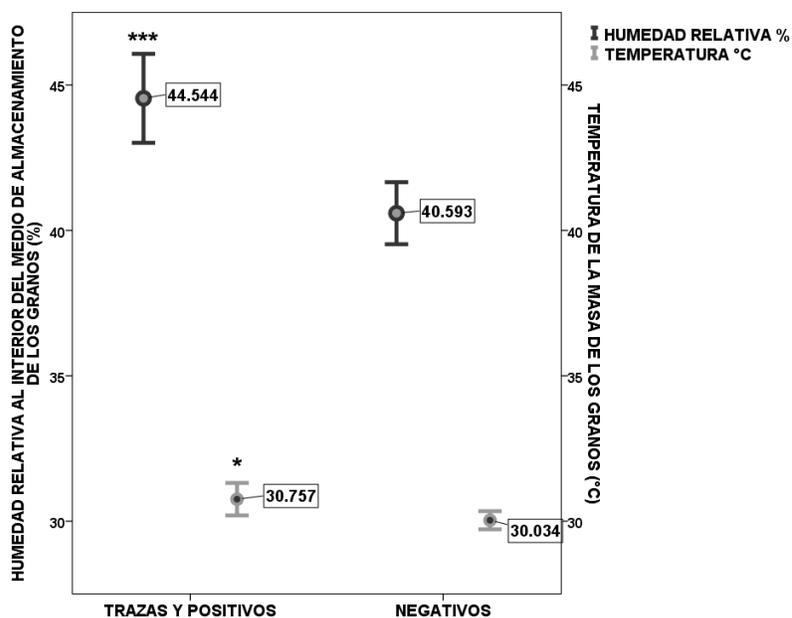


Figura 4. Humedad relativa (%) registrada al interior de los medios de almacenamiento y temperatura (°C) de la masa de granos de maíz. Los datos representados son medias \pm 2 EEM. Los asteriscos en las barras de las trazas y positivos indican diferencias significativas con respecto a los negativos (* p <0.05 y *** p <0.001, t de Student, positivos n =74, negativos n =122). Elaboración propia.

Adicionalmente se demostró que la humedad relativa al interior del medio de almacenamiento de los granos está correlacionada de forma significativa e inversa con el tiempo se secado de la mazorca en la planta (r =-0.43, p <0.001) y con la altitud del sitio de almacenaje de los granos (r =-0.63, p <0.001). Estas dos últimas variables están también significativamente asociadas de forma proporcional (r =0.64, p <0.001).

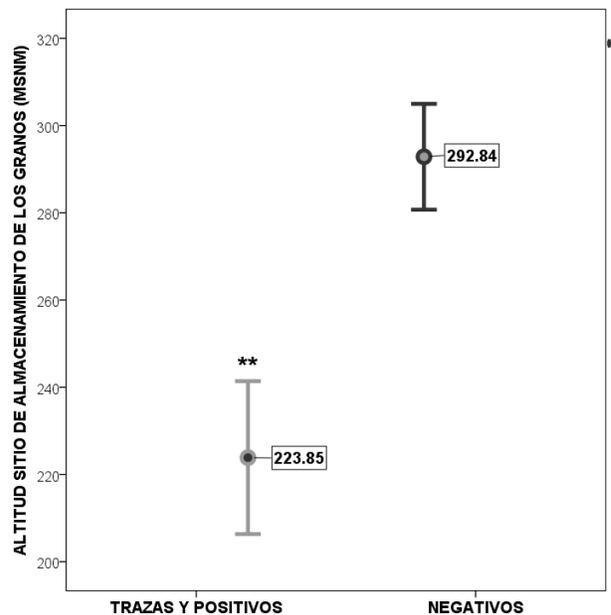


Figura 5. Altitud del sitio de almacenamiento de los granos de maíz, expresada en metros sobre el nivel del mar (msnm). Los datos representados son medias \pm 2 EEM. Los asteriscos en la barra de las trazas y positivos indican diferencias significativas con respecto a los negativos ($p < 0.01$, t de Student, positivos $n = 74$, negativos $n = 122$). Elaboración propia.

11.4 DISCUSIÓN

El rango de contenidos detectados para Aflatoxinas coincide con la mayoría de valores encontrados en estudios precedentes, tanto de El Salvador (Calderón, 1987; Cruz et al., 2014; Vega, 2011) como de otras naciones latinoamericanas (Cuero, Hernández, Cárdenas, Osorio & Onyiah, 1987; Espín de Rivera, 1987), oscilando entre 5 y 154 $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$. Respecto a las Ocratoxinas, Vega (2011) no pudo cuantificarlas en las muestras analizadas; mientras que Cruz et al. (2014), detectaron contenidos de estas micotoxinas desde 2.1 hasta 17.2 $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$, que coinciden con el rango de valores encontrados en este trabajo (2.5 y 16.2 $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$).

La prevalencia más alta para contaminación por AFT calculada para Metalío (27.7%) es similar a la encontrada por Calderón (1987), en 63 muestras tomadas en los sitios de almacenamiento a nivel nacional. Si se consideran las cuatro localidades muestreadas, la prevalencia de contaminación por AFT calculada es del 13.8% (27 positivos/196 muestras), una proporción cercana al valor calculado (12.5%) en un trabajo reciente pero realizado en sitios de arribo de maíz proveniente de varias localidades de origen (Vega, 2011).

De las prevalencias de muestras positivas a las AFT, obtenidas para el Valle Alto del Lempa, Cancasque, Metalío y Villa San Antonio, destaca que la contaminación por esas micotoxinas tiene una frecuencia que oscila de muy baja ($< 20\%$) a baja (≥ 20 a $< 40\%$), pero está extendida territorialmente. La aparición de 11 nuevos

positivos a AFT en tres de las cuatro localidades muestreadas tanto en 2014 como en 2015, coincide con la afirmación que la contaminación por esta micotoxina se extiende por el territorio muestreado.

Por el contrario, la contaminación por OT está limitada territorialmente a Metalío, con una prevalencia muy baja (<20%) y no se detectaron casos nuevos en 2015.

Metalío, ubicado en la planicie costera de Sonsonate (<100 msnm), es donde se detectó el mayor número de casos de contaminación por AFT (7) y los únicos dos positivos para OT, así como los contenidos y las prevalencias más altas para ambas micotoxinas, 154.4 ng·g⁻¹, 27.7% y 16.2 ng·g⁻¹, 8.3% respectivamente. Estudios previos informan que las mayores prevalencias de contaminación por Aflatoxinas B1 y B2, así como los contenidos más altos se detectaron tanto en zonas de baja altitud (Cuero et al., 1987) y en llanos costeros del Pacífico Oriental (Espín de Rivera, 1987), probablemente atribuibles a elevados niveles de humedad relativa y temperatura que predominan en localidades con poca altura sobre el nivel del mar.

Los hallazgos de esos trabajos coinciden con los propios, por cuanto se demostró que las muestras clasificadas como trazas y positivas provinieron de medios de almacenamiento con promedios significativamente más bajos de altitud y más altos en humedad relativa y temperatura de la masa de granos, respecto a las medias de las muestras negativas. Al respecto, la humedad relativa de los dispositivos de almacenaje (Calderón, 1987), así como el contenido de humedad y la temperatura de la masa de granos (D'Antonino Faroni, 1993; Pereira da Silva, 1993), son condiciones que favorecen la producción de micotoxinas y, por consiguiente, influyen en la pérdida de calidad y cantidad de los granos.

Una característica predominante de las muestras que resultaron negativas, es la práctica combinada de secar la mazorca en planta por más tiempo y de reducir la duración del secado solar complementario, procedimiento que podría disminuir el riesgo de contaminación por AFT como previamente ha sido informado (Cruz et al., 2014), por cuanto es una forma de reducir naturalmente el contenido de agua en el grano y, por consiguiente, la humedad relativa al interior del medio de almacenamiento. Adicionalmente, al disminuir el número de días que se expone a los granos a elevadas temperaturas (50 a 55 °C) con el secado solar complementario sobre pavimento o plásticos laminados, se previene que se fisuren y sean susceptibles a la invasión por hongos toxicogénicos (D'Antonino Faroni, 1993).

La práctica de dejar secar la mazorca en la planta y reducir el tiempo de secado complementario al sol, considerando la interacción entre temperatura de la masa del grano, la humedad relativa adentro del medio de almacenamiento y la altitud del sitio de acopio, puede derivar en medidas sencillas de aplicar por los agricultores para reducir el riesgo de contaminación por AFT en los lugares de origen del grano.

11.5 REFERENCIAS

- Calderón, G.R. (1987). Aflatoxins in El Salvador. En M.S. Zuber, E.B. Lillehoj & B.L. Renfro (Eds.), *Aflatoxin in Maize: A Proceedings of the Workshop* (pp. 293-297). Mexico D.F.: The International Maize and Wheat Improvement Center.
- Centre for Food Safety. (2006). *Ochratoxin A in food (Risk Assessment Studies Report No. 23)*. Hong Kong: Food and Environmental Hygiene Department.

- Cruz, A., Martínez, R., y Hernández Rauda, R. (2014). Aflatoxinas y Ocratoxinas totales en maíz (*Zea mays* L.) para autoconsumo: prácticas de preparación y almacenamiento del grano, asociadas a la prevalencia de contaminación. San Salvador, El Salvador: Universidad Doctor Andrés Bello.
- Cuero, R.G., Hernández, I., Cárdenas, H., Osorio, E., & Onyiah, L.C. (1987). Aflatoxin in Colombia. In M.S. Zuber, E.B. Lillehoj & B.L. Renfro (Eds.), *Aflatoxin in Maize: A Proceedings of the Workshop* (pp. 323-331). Mexico D.F.: The International Maize and Wheat Improvement Center.
- D'Antonino Faroni, L.R. (1993). Los granos y su calidad. En C. Arias (Ed.), *Manual de Manejo Poscosecha de Granos a Nivel Rural* (s.pp.). Chile: Oficina Regional de la FAO para América Latina y El Caribe. Recuperado de <http://www.fao.org/docrep/x5027s/x5027S01.htm#I.%20Los%20granos%20y%20su%20calidad>
- Espín de Rivera, S. (1987). Aflatoxin in Ecuador. In M.S. Zuber, E.B. Lillehoj & B.L. Renfro (Eds.), *Aflatoxin in Maize: A Proceedings of the Workshop* (pp. 334-338). Mexico D.F.: The International Maize and Wheat Improvement Center.
- European Food Safety Authority. (2012). Modelling, predicting and mapping the emergence of aflatoxins in cereals in the European Union due to climate change (Question No EFSA-Q-2009-00812). Parma: Autor.
- European Food Safety Authority. (2013). Aflatoxins (sum of B1, B2, G1, G2) in cereals and cereal-derived food products (Supporting Publications 2013: EN-406). Parma: Autor.
- International Agency for Research on Cancer. (1993). Evaluation of carcinogenic risks to humans. Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. Vol. 56. Lyon: Autor.
- Norma Oficial Mexicana NOM-188-SSA1-2002. Productos y servicios. Control de Aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal. Especificaciones sanitarias. Diario Oficial de la Federación, México D.F. 15 de octubre de 2002. Recuperado de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/188ssa12.html>
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (2003). Manual sobre la aplicación del sistema de análisis de peligros y de puntos críticos de control (APPCC) en la prevención y control de las micotoxinas. Estudio FAO Alimentación y Nutrición 73. Roma: Autor.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (2004). Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en los alimentos y en las raciones en el año 2003. Estudio FAO Alimentación y Nutrición 81. Roma: Autor.
- Pereira da Silva, F.A., (1993). Conservación y protección de los granos almacenados. En C. Arias (Ed.), *Manual de Manejo Poscosecha de Granos a Nivel Rural* (s.pp.). Chile: Oficina Regional de la FAO para América Latina y El Caribe. Recuperado de <http://www.fao.org/docrep/x5027s/x5027S0h.htm#V.%20Conservacion%20y%20proteccion%20de%20los%20granos%20almacenados>

- Posada, A., y Escobar, M. (1991). Determinación de Aflatoxinas en productos alimenticios colectados en establecimientos comerciales a nivel de la zona metropolitana de San Salvador 1989 – 1990 (tesis inédita de licenciatura). Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer, San Salvador, El Salvador.
- Reddy, L. & Bhoola, K. (2010). Ochratoxins food contaminants: impact on human health. *Toxins*, 2, 771-779.
- Vega, C. (2011). Cuantificación de micotoxinas más frecuentes en granos de maíz comercializados en los mercados: Central de San Salvador, Mejicanos y San Miguelito (tesis inédita de licenciatura). Universidad de El Salvador, San Salvador, El Salvador.
- World Health Organization. (2007). Evaluation of certain food additives and contaminants. WHO Technical Report Series 947. Geneva: Author.