

EFECTO ANTIMICOTICO DEL ACEITE ESENCIAL DE Minthostachys mollis (MUÑA) EN CEPAS DE Cándida albicans. PUNO – 2015.

ANTIMICOTIC EFFECT OF ESSENTIAL OIL OF Minthoschys mollis (MUÑA) IN STRAINS OF Candida albicans. PUNO – 2015.

Alex Mario Salas Apaza^{1,*}

¹Universidad Nacional del Altiplano, Facultad de Ciencias Biológicas, Av. Floral Nº 1153, Ciudad Universitaria, Puno, Perú, <u>al.x 0511@hotmail.com</u>

RESUMEN

El presente artículo tiene por objetivo determinar el efecto antimicótico del aceite esencial de Minthostachys mollis (muña) en cepas de Cándida albicans sobre los materiales y método, estudio es experimental e inferencial. El efecto antimicótico se determinó midiendo 105 halos de inhibición, distribuidos en 8 grupos mediante el método de Kirby - Bauer, Para ello utilizó una cepa clínica de Cándida albicans. Los grupos de estudio fueron concentraciones de 1/25 (T1), 1/50 (T2), 1/100 (T3), 1/150 (T4), 1/200 (T5), 1/250 (T6), un grupo control positivo Fluconazol (TC+), y un grupo control negativo agua destilada estéril (TC-). El análisis estadístico se realizó mediante la prueba de DCA y Tukey, usando el paquete SAS v. Se consideró un nivel de significancia de < 0,05. Resultados: La media de los halos de inhibición del T1 fue de 3,4mm (0,0-4,9); del T2: 11,1mm (10,1-11,9); del T3: 15,7mm (14,4-16,9); del T4: 19,0mm (17,9-20,0); del T4: 19,0mm (17,9-T5: 24,1mm (23,4-25,2); del T6: 29,2mm (28,3-30,0) y del grupo de Fluconazol: 25,5mm (24,8-26,8). No se obtuvo halos de inhibición en el grupo de control negativo. Se encontró diferencia significativa entre el T1 – T6 y el grupo de Fluconazol (p <.0001), a un = 0.05. Conclusión. El aceite esencial de la muña de 1/250 (T6) tuvo mayor efecto contra Cándida albicans que el Fluconazol demostrando su concentración inhibitoria adecuada con un diámetro de halo de inhibición mayor; además, el efecto antimicótico del Fluconazol fue mayor que los tratamientos (1 – 5) y fue menor que el (T6), demostrándose que el aceite de Minthostachys mollis tiene efecto antimicótico sobre cepas de Cándida albicans.

Palabras clave: Aceite esencial, antifúngico, inmunosupresión, Cándida albicans, Minthostachys mollis.

ABSTRACT

The objective of this article was to determine the antimycotic effect of the essential oil of Minthostachys mollis (muña) in strains of Candida albicans. Materials and Method. Experimental and inferential study. The antimycotic effect was determined by measuring 105 inhibition halos, distributed in 8 groups by the Kirby - Bauer method. A clinical strain of Candida albicans was used. The study groups were concentrations of 1/25 (T1), 1/50 (T2), 1/100 (T3), 1/150 (T4), 1/200 (T5), 1/250 (T6), one Positive control group Fluconazole (TC +), and a negative control group Sterile distilled water (TC-) Statistical analysis was performed using the DCA and Tukey test, using the SAS v. A level of significance <0.05 was considered. Results. The mean of inhibition halos of T1 was 3.4mm (0.0-4.9); Of T2: 11.1mm (10.1-11.9); Of T3: 15.7mm (14.4-16.9); Of T4: 19.0mm (17.9-20.0); Of T5: 24.1mm (23.4-25.2); Of T6: 29.2mm (28.3 - 30.0); and the Fluconazole group: 25.5 mm (24.8 - 26.8). No inhibition halos were obtained in the negative control group. A significant difference was found between T1 - T6 and the Fluconazole group (p <.0001), at a = 0.05. Conclusion. The essential oil of the 1/250 mutein (T6) had a greater effect against Candida albicans than Fluconazole demonstrating its adequate inhibitory concentration with a higher inhibition halo diameter; In addition, the antifungal effect of Fluconazole was higher than treatments (1 - 5) and was lower than (T6), demonstrating that Minthostachys mollis oil has an antimycotic effect on Candida albicans strains.

Key words: Essential oil, antifungal, immunosuppression, Candida albicans, Minthostachys mollis.

*Autor para Correspondencia: al.x_0511@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

La candidiasis, micosis causada por diversas especies de levaduras del género Cándida, correspondientes a un grupo de hongos identificados con más de 100 especies, cada uno con la capacidad de afectar al ser humano. Los microorganismos de este género constituyen los marcadores de inmunosupresión etiológica por excelencia, ya sea por diversos factores predisponentes (Tobar et al., 2011); por tal motivo, en la actualidad se vienen registrado un aumento significativo y muy considerable de las infecciones producidas por levaduras, es por eso que la presencia de Cándida en cavidad bucal oscila y se encuentra frecuentemente en un 20% -70% (Lazarde y Añez, 2003; Lazarde y Pacheco, 2001). Cualquier tejido y órgano puede ser afectado, a lo que se presentan diferentes cuadros clínicos, cada uno de ellos asociado directamente al estado inmunológico de la persona (Tobar et al., 2011). Cándida albicans es la especie con mayor implicancia, siendo este un inocuo, que puede pasar de comensal a patógeno dependiendo del hospedero, hongo y demás factores que alteren el microambiente predisponente (Urizar y Candidiasis, 2002). Cándida albicans es el principal representante de esta familia y otras especies de Cándida, presentan diferentes manifestaciones patológicas siendo las más frecuentes, infecciones superficiales (vulvovaginitis o candidiasis oral) (Lazarde y Añez, 2003). Muchas veces producen compromiso específico de algunos órganos en pacientes que en general, presentan enfermedades crónicas que los sitúan en una condición de deprimencia (candidiasis esofágica). En menor proporción de pacientes, sobre todo aquellos que se encuentran hospitalizados y presentan terapia con antimicrobianos siendo estos de amplio espectro, que se encuentran invadidos con dispositivos biomédicos, quirúrgicos, etc., presentan infecciones invasoras por hongos (Tobar et al., 2011).

En pacientes hospitalizados en pediatría las infecciones fungicas son un problema con mayor frecuencia. El aumento de estas infecciones se atribuye a diferentes factores, tales como la permanencia en unidades de cuidado intensivo (UCI), tiempos prolongados de cateterización, prematurez, nutrición parenteral, cirugías, operaciones, trasplantes, terapia inmunosupresora, uso de antibióticos de amplio espectro y la mayor sobrevida de los individuos inmunosuprimidos (Giusiano *et al.*, 2000). Ya sea por la resistencia antimicótica o por el rechazo del paciente frente a los tratamientos que en muchos casos son de tiempo muy prolongado, hoy en día se plantea con fuerza el uso y aplicación de la medicina natural para el cuidado y la restauración de la salud, y una de ellas es la muña que tiene propiedades antimicóticas (Alcalá, *et al.*, 2012).

Investigaciones sobre efecto antimicótico contra *Cándida albicans* de plantas medicinales, como la *Minthostachys mollis* (muña), han sido estudiados con anterioridad encontrando resultados positivos pero no concluyentes (Alcalá, *et al.*, 2012; Cano, 2007; Cano *et al.*, 2008). También existen estudios que demuestran la acción antifúngica por parte de diferentes especies de plantas como *Origanum vulgare* (orégano) y *Cymbopogon citratus* (hierba luisa), *Rosmarinus officinalis* (romero), *Melissa officinalis* (toronjil), *Cinnamomun zeylanicum* (canela), *Matricaria chamonilla* (manzanilla), *Baccharis*, y *Schinus molle*, demostrando su alta eficacia frente a *Cándida albicans* (Pascal, 2015; Márquez, 2012, Marca, 2013, Castillo 2009, Martínez *et al.*, 2011; Saravia, 2015).

La muña, una de las pocas plantas que han validado su uso en la medicina tradicional debido a sus diferentes propiedades, principios activos, (Zegarra, 2010; Chaquilla *et al.*, 2011) el cual es utilizado para el tratamiento de dolencias de vías estomacales, respiratorias y muchas otras afecciones presentes (Muñoz, 2002; Muñoz, Barrera y Meza 2015), esta planta habita en los diferentes pisos ecológicos de nuestra serranía Peruana donde se encuentra en una muy buena proporción (Barnes, 2015; Mostacero, Mejía y Gamarra, 2009; Mostacero *et al.*, 2009). Razones

sobran para maximizar el uso y aprovechamiento de nuestro recurso natural (Mostacero *et al.*, 2009) ya que diversos estudios demuestran su efecto antibacteriano (Cruzado, 2012; Inga y Guerra, 2000; Güisa y Rincón, 2007) e insecticida, sin embargo, poco se conoce y se ha explorado sobre su capacidad antimicótico y menos aún aplicado en pacientes con afecciones presentes o inmunocomprometidos. Motivo por lo cual se realizó la presente investigación, el cual servirá como una alternativa de tratamiento terapéutico de menor costo y mayor eficacia, en el restablecimiento y mejora de la salud, cuyos objetivos fueron: Determinar la concentración inhibitoria adecuada del aceite esencial de muña frente a cepas de *Cándida albicans* en comparación al Fluconazol mediante el método de concentraciones "in vitro". Evaluar los halos de inhibición de cepas de *Cándida albicans* con el aceite esencial de muña mediante el antibiograma antimicótico.

La colección de la muña se realizó en el barrio San José, zona alta de la ciudad de Puno (a 3810 msnm); la obtención del aceite esencial de la muña se efectuó en el Laboratorio de Operaciones y Procesos Unitarios de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Altiplano. Las muestras de esputo se obtuvieron de pacientes con Tuberculosis del Hospital Regional "Manuel Núñez Butrón", de la ciudad de Puno. El aislamiento, identificación y la determinación del efecto antimicótico se realizó en el laboratorio de Microbiología y Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNA – Puno.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio es de tipo experimental e inferencial. El tamaño de la muestra estuvo conformado por 105 halos de inhibición distribuidos en 8 grupos homogéneos: Un grupo experimental de muña a concentraciones de 1/25, 1/50, 1/100, 1/150, 1/200, 1/250, donde ml/µl es la proporción de agua destilada y aceite de muña respectivamente, un grupo de control positivo (Fluconazol) y un grupo de control negativo (agua destilada estéril). La planta se recolectó en el barrio San José de la ciudad de Puno, con una totalidad de 60 kilos peso bruto, que posterior se separó solo hojas haciendo un peso de 20 kilos. Se obtuvo 50 ml de aceite esencial puro a partir de las hojas frescas de muña (60kg) usando el proceso de destilación por arrastre de vapor de agua. La cepa de *Cándida albicans* fue obtenida de pacientes con presencia de Tuberculosis (esputo) del HRMNB – Puno, aislados e identificados morfológicamente a partir de siembras en Agar Saboraud Dextrosa al 2% con cloranfenicol, examen microscópico y pruebas fisiológicas (tubo germinativo). Se prepararon las diferentes concentraciones de muña en (1/25, 1/50, 1/100, 1/150, 1/200, 1/250), asimismo el control positivo (Fluconazol) y control negativo (agua destilada estéril).

Se prepararon en placas Petri Agar Saboraud Dextrosa al 2%, dejándolo hasta que solidifique para pasar a control de calidad durante 24 horas, se agregó la cepa de *Cándida albicans* estandarizado con la escala de Mac Farland en una concentración de 1,5 x 10⁸ ufc/ml, expandiéndola mediante el método de (Kirby – Bauer). En pozos de 6mm de diámetro se colocó 50μl de muña en concentraciones de 1ml/25μl, 1ml/50μl, 1ml/100μl, 1ml/150μl, 1ml/200μl, 1ml/250μl (grupo experimental), 150mg de Fluconazol (grupo control positivo) y agua destilada estéril (grupo control negativo). Se dejó en incubación a 37°C durante 72 horas.

Se midieron los halos de inhibición obtenidos de cada grupo mediante el método de Kirby – Bauer: Difusión en agar. Los datos obtenidos fueron procesados en el programa estadístico SAS V. El DCA (Diseño completo al azar) para determinar la significancia de la prueba y si al menos una de las concentraciones (tratamiento) es diferente a los demás y posee efecto antimicótico, que posteriormente se corroboró con la prueba de contraste de Tukey. Se consideró un nivel de significancia < 0,05.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al realizar la prueba de análisis de varianza a un =0.05 se observa el valor de (p<.0001), altamente significativo, lo que demuestra que existe efecto antimicótico en, al menos, uno de los tratamientos del aceite de la muña en las cepas de Cándida albicans (Tabla 1). Mediante la prueba de comparación múltiple de TUKEY a un =0.05, determinó que la concentración inhibitoria adecuada fue de 1/250 (T6) con una media de 29.2867 mm, siendo superior en comparación a los demás tratamiento y al TC (Fluconazol), siendo todo esto muy significativo (Tabla 2). La bibliografía refiere que si existe efecto antimicótico del aceite esencial de la muña en cepas de Cándida albicans, a su vez la concentración inhibitoria adecuada varía, mas no deja de mostrar su eficacia tal como lo demuestran y corroboran las siguientes investigaciones: A una concentración de 100% de muña, la media fue más alta que los demás, haciendo que esta concentración (tratamiento) sea la adecuada, demostrándonos su alta eficacia antifúngica sobre las cepas de Cándida albicans (Alcalá et al., 2012; Cano, 2007; Cano et al., 2008). Asimismo, se demuestra que el diámetro de halo obtenido, es en base a la concentración aplicada entendiéndose que a mayor concentración, mayor el diámetro de halo de inhibición por tanto a una concentración de 100% en comparación a una concentración menor el tratamiento eficaz es el de 100% (Cano, 2007).

Por otro lado también se refiere que a concentraciones de 100% de *Origanum vulgare* (orégano) y *Cymbopogon citratus* (hierba luisa), también existe un efecto inhibidor frente a cepas de *Cándida albicans* (Pascal, 2015). Así como lo demuestran también especies del género *Baccharis, Schinus molle, Cinnamomun zeylanicum* (canela), *Rosmarinus officinalis* (romero), *Melissa officinalis* (toronjil) y *Matricaria chamonilla* (manzanilla), inhibiendo el crecimiento fúngico y demostrando su alta actividad antifúngica, siendo incluso mejor que los antimicóticos de uso comercial aplicado (Pascal, 2015; Márquez, 2012, Marca, 2013, Castillo 2009, Martínez et al., 2011; Saravia, 2015).

Finalmente, investigaciones demuestran que el aceite esencial de la muña al 100% no solo posee un efecto inhibidor frente a cepas e *Cándida albicans*, sino que también tiene efecto inhibidor frente a bacterias como es *Streptococcus mutans*, y este efecto se incrementa en relación directa con el aumento de la concentración (Cruzado, 2002).



Tabla 1: Análisis de Varianza (ANVA)

Análisis de Varianza (ANVA) = 0.05						
Fuente	G.L	S.C	C.M	F-Valor	Pr > F	
Modelo	6	7278.15981	1213.026635	1891.57	<.0001	
Tratamiento	6	7278.15981	1213.026635	1891.57	<.0001	
Error	98	62.845333	0.641279			
Total corregido	104	7341.005143				

Tabla 2: Prueba de comparación múltiple de TUKEY

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes. = 0.05

Tukey Agrupamiento	Media	N	TRAT
A	29.2867	15	T6
В	25.5333	15	TC
C	24.12	15	T5
D	19.0667	15	T4
E	15.76	15	T3
F	11.1133	15	T2
G	3.48	15	T 1

Se observó los halos de inhibición y se evaluó como Sensible, Intermedio y Resistente (CLSI), de acuerdo a la medida obtenida en (mm), sacando la media de cada uno, a su vez, comparando con el Fluconazol (TC). Se detallan de la siguiente manera: T1 - 1ml/25µl: 4mm (RESISTENTE), T2 - 1ml/50µl: 11mm (RESISTENTE), T3 - 1ml/100µl: 16mm (SENSIBLE), T4 - 1ml/150µl: 19mm (SENSIBLE), T5 - 1ml/200µl: 24mm (SENSIBLE), T6 - 1ml/250µl: 29mm (SENSIBLE), TC - 250mg: 26mm (SENSIBLE).

Se encontró diferencia significativa entre el $T_1 - T_6$ y el grupo de Fluconazol a un (p <.0001), con un = 0.05, concluyendo que de los seis tratamientos, el sexto (T6) 1ml/250µl demostró una concentración inhibitoria adecuada, con una media superior a su vez en comparación al Fluconazol (TC). La bibliografía refiere que los datos obtenidos y posteriormente calificados entre resistente, intermedio y sensible se evalúan de acuerdo a las medidas de los halos obtenidos, corroborados autores de prestigio, indicando que:

Los halos obtenidos mayores a 15 mm de diámetro se les califica como sensibles, y los halos formados menores a este se les atribuye como resistentes. También se menciona que halos superiores a 19 mm de diámetro se les califica como sumamente sensible (Pascal, 2015).

La calificación atribuida a los halos de inhibición, de acuerdo a su medida del diámetro del halo, nos da una mejor interpretación y por tal motivo una buena evaluación, mostrando halos de 30 mm de diámetro con la aplicación del aceite de muña al 100%, calificándolo como sensible, tal como lo refieren Cano, 2007; Cano *et al.*, (2008). Las investigaciones demuestran que el aceite esencial de muña tiende a ser un antimicótico eficaz, de acuerdo a la concentración suministrada frente a las cepas de *Cándida albicans*, ya sea de cualquier procedencia tal como lo demuestra

(Alcalá *et al.*, 2012). Formando halos de inhibición de 46 – 48 mm de diámetro, teniendo mayor eficacia frente al fluconazol (Alcalá *et al.*, 2012).

Por otro lado, la aplicación de aceites esenciales de diferentes especies de plantas como *Schinus molle*, *Cinnamomun zeylanicum* (canela) y *Matricaria chamonilla* (manzanilla), muestran una inhibición similar a la de la muña formando halos iguales o mayores a 20 mm. (Marca, 2013, Castillo 2009; Saravia, 2015) en comparación al fluconazol de 31 mm. (Saravia, 2015), y a la nistatina de 10 mm. (Pascal, 2015) Finalmente el aceite esencial de muña no solo demuestra ser eficaz frente a la aplicación de *Cándida albicans*, si no también ser eficaz frente a *Aspergillus flavus*, mostrando halos de 15 mm de diámetro, calificándolos estos como intermedio o sensibles (Vásquez, 2005), y *Streptococcus mutans* (Güisa y Rincón, 2007)

LITERATURA CITADA

- Tobar, E., Silva, F., Olivares R., Gaete P., Luppi M. (2011) Candidiasis invasoras en el paciente crítico adulto. Revista chilena de infectología. 28(1):41-9.
- Lazarde, J., Añez, O. (2003) Candidiasis Multifocal bucal: Reporte de un caso. Acta odontológica venezolana. 41(2):131-4.
- Lazarde, L., Pacheco, A. (2001) Identificación de especies de Cándida en un grupo de pacientes con candidiasis atrófica crónica. Acta odontol venez. 39(1):13-8.
- Urizar JA. (2002) Candidiasis orales. Rev Iberoam Micol. 19:17-21.
- Giusiano GE, Mangiaterra ML, Deluca G, Usandizaga G. (2000) Hongos levaduriformes emergentes y su sensibilidad antifúngica en pacientes pediátricos hospitalizados. Comunicaciones Científicas y tecnológicas.
- Alcalá-Marcos KM, Alvarado-Gamarra AG, Alejandro-Paredes LA, Huayané-Linares E.(2012) Actividad antimicótica del aceite esencial de las hojas de Minthostachys mollis (muña) comparado con el Fluconazol en cultivo de Candida albicans. Ciencia e Investigación Medico Estudiantil Latinoamericana. 16(2).
- Cano, C. Actividad antimicótica in vitro y elucidación estructural del aceite de las hojas de Minthostachys mollis "muña": Tesis para optar el grado de Magister en Recursos Vegetales y terapéuticos de la Facultad de Farmacia y Bioquímica-Lima: UNMSM; 2007.
- Cano C., Bonilla, P., Roque, M., Ruiz J. (2008) Actividad antimicótica in vitro y metabolitos del aceite esencial de las hojas de Minthostachys mollis (muña). Revista peruana de medicina experimental y salud pública. 25(3):298-301
- Pascal C, Maritsa, L. (2015) Efecto antifúngico del aceite esencial del origanum vulgare (orégano) y cymbopogon citratus (hierba luisa), sobre cepas de cándida albicans en comparación con la nistatina estudio invitro.
- Márquez, G. (2012) Actividad antifúngica de Rosmarinus officinalis (romero) y Melissa officinalis (toronjil) contra especies del género candida, aisladas de pacientes con vulvovaginitis. 2012.
- Marca Cuello MR. (2012). Actividad Antimicótica "in vitro" del Aceite Esencial Cinnamomum zeylanicum Breyn "canela" Frente a Cándida albicans ATCC 6538, Tacna, 2012
- Castillo. (2009) Efecto del aceite esencial de Matricaria chamonilla (manzanilla) sobre Cándida albicans.: Universidad Nacional del Altiplano. Facultad de Ciencias Biologicas.
- Martínez, ¹ S., Mollinedo ¹ P, Almanza G, Terrazas E. (2011). Estudio in vitro de la actividad antifúngica de extractos vegetales del género Baccharis sobre Candida albicans. Revista Boliviana de Química. 28(1):35-40.
- Saravia-León N. (2015) Actividad antifúngica del extracto de etanol schinus molle y el fluconazol sobre candida albicans. Revista Kiru. 9(1).
- Zegarra, G., (2010). Actividad Deterrente y Acaricida de Principios Activos de Quinuas Amargas, Aceites Esenciales y Tarwi: Tesis para optar el Título de Licenciado en Química. Facultad De Ciencias E Ingeniería. Pontificia Universidad Católica Del Perú. Lima.
- Chaquilla-Quilca G, Escalante W, Torres M, Ballinas C, Gastélum F, Nevárez-Moorillón G. (2011) Composición química y contenido de fenoles totales en aceites esenciales de muña (Minthostachys setosa) Briq Epl y anís (Pimpinella anísum) L. Revista ECIPERÚ. 8(2):107-11.
- Muñoz, F. (2011). Plantas medicinales y aromáticas: estudio, cultivo y procesado. Mundi-Prensa, 2002 847114624X.
- Muñoz, M, Barrera E, Meza I. (2015). El uso medicinal y alimenticio de plantas nativas y naturalizadas en chile.
- Barnes, J., Anderson LA, Phillipson JD, Ódena MÁM. (2005). Plantas medicinales: guía para los profesionales de la salud: Pharma;.
- Mostacero, J., Mejía, F., Gamarra, O. (2009). Fanerógamas del Perú: taxonomía, utilidad y ecogeografía. Editora Normas Legales SAC Trujillo.
- Mostacero, J., Castillo, F., Mejía, C., Gamarra, T., Charcape. R., Ramirez, V. (2011) Plantas Medicinales del Perú. Taxonomía, Ecogeografía, Fenología y Etnobotánica. Asamblea Nacional de Rectores, Lima.
- Cruzado, L. (2012). Concentración inhibitoria mínima "in vitro" del Minthostachys mollis (muña) frente al Streptococcus mutans ATCC 35668.

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO REVISTA DE INVESTIGACIONES DE LA ESCUELA DE POSGRADO Versión electrónica ISSN 2977 – 8686 Versión Impresa ISSN 1997-4035 ARTÍCULO ORIGINAL



Vol. 6, No.2, pp. 162-168, Abril/Junio, 2017 Recibido 17/05/2017 Aceptado 04/07/2017 Publicado 04/09/2017 **DOI**: http://dx.doi.org/10.26788/riepg.2017.38

- Inga, A., Guerra, B. (2000). Efecto del aceite esencial de Minthostachys mollis (muña) contra algunas bacterias y hongos de interés en la salud: Tesis de bachiller para Químico Farmacéutico. Lima: UNMSM.
- Güisa, D., Rincón, L. (2007). Estudio del efecto antimicrobiano del aceite esencial de Minthostachys mollis combinado con inactivación térmica, sobre cepas de Listeria monocytogenes y Bacillus cereus: Tesis de bachiller para Microbiólogo industrial. Bogotá: PUJ.
- Vásquez, P. (2005) Efecto del aceite esencial de clavo de olor (Syzygium aromaticum), canela (Cinnamomum zeylanicum) y su combinación sobre la acción antifúngica en Aspergillus flavus en agar chicha de maíz (Zea mays L.), variedad morado. Revista Oficial de la Universidad Privada Antenor Orrego.123.