¿Afecta la temperatura a 40 °C y el ácido cítrico de *Citrus x limon* al crecimiento del hongo *Penicillium digitatum*?

Introducción:

Este experimento consiste en averiguar si, aplicando diferentes temperaturas y ácido clorhídrico (puro) al *Penicillium digitatum*, disminuye su cantidad o directamente, llega a eliminarse por completo. Vamos a hacer tres de cada, dos de temperatura (Tr1 y Tr2), dos de ácido cítrico (Ar1 y Ar2) y una de control (Control).

Marco Teórico:

La temperatura óptima para el desarrollo de los hongos se encuentra entre 25 y 30°C y el límite máximo entre 40 y 45°C. Destacamos que la mayor parte de los hongos no crecen por debajo de 5°C y que sin embargo hay hongos como el *Aspergillus flavus*, *Aspergillus candidus* y *Aspergillus fumigatus* que pueden crecer sin problemas hasta los 55°C y otros como el *Penicillium expansum* y el *Penicillium cyclopium* que son capaces de crecer a 0°C (corpcier.org).

Descripción:

Vamos a realizar un experimento en relación con la biología. Esto se debe a que nos encanta esta asignatura y eso nos ha motivado a realizarlo. Nos hemos centrado en este experimento más que nada porque siempre pensábamos que era una pérdida de dinero tirar cualquier alimento por tener cualquier tipo de moho; por eso nos preguntábamos si había alguna forma de eliminarlo para que esto no sucediera.

Variable independiente: temperatura y ácido cítrico.

Variable dependiente: crecimiento del Penicillium digitatum

Variable de control: Cantidad agua y medio de cultivo.

Hipótesis:

El *Penicillium digitatum* crecerá menos cuando se le aplique (mucho calor) ya que, si le aplicamos temperatura de 40°C, se debilita, o en este caso disminuirá su crecimiento. Por otra parte, con el ácido cítrico, también disminuirá la cantidad, pues se trata de una sustancia con pH ácido que también destruye algunos microorganismos.



Materiales:

- -Matraz Erlenmeyer -Agua (100ml)
- -Vidrio de reloj -Termómetro
- -Probeta -Manopla de goma
- -Placa de Petri -Nevera
- -Cuchara -Sabouraud dextrose agar BAC (6,5 gramos)
- -Ácido cítrico extraído del limón
- -Agitador magnético -Balanza Guantes

Metodología:

- 1. Primero eliges una fruta (en nuestro caso el limón) y la humedeces en agua.
- 2. A continuación, dejas esa fruta en un lugar húmedo y esperas a que le salga moho.
- 3. Posteriormente, una vez que ya haya un poco de moho en la fruta, indagas para ver qué tipo de moho tiene dicha fruta. (En nuestro caso *Penicillium digitatum*).
- 4. Después, una vez que sepas que tipo de moho es, vuelves a indagar sobre cuál será el alimento de ese determinado moho, la cantidad de agua que necesita para su cultivo y la cantidad de alimento que necesitas.
- 5. Luego, al ya saber que alimento y la cantidad que necesita, echas con la cuchara en un vidrio de reloj sobre una balanza el alimento hasta que llegue a 6,5 gramos de Sabouraud dextrose agar BAC (en nuestro caso)
- 6. Después, echamos 100 mililitros de agua en una probeta.
- 7. Luego cogemos el alimento y el agua y lo juntamos todo en un matraz Erlenmeyer; y metemos una barra agitadora magnética.
- 8. A continuación, utilizarás una barra agitadora magnética y un agitador magnético para disolver el alimento en el agua y lo calentará de manera más rápida que si lo hicieses a mano.
- 9. Cuando ya está del todo disuelto, y veas burbujas por debajo de la superficie, le pondrás el termómetro para saber su temperatura, que deberá tener entre 80-85C°. Y lo metes en la nevera; utiliza una manopla de goma para transportarlo y así no te quemarás.
- 10. Después de 10 minutos, sacas el matraz de la nevera y repartes la sustancia en 9 distintas placas de Petri, dos para realizar el experimento aplicándole temperaturas de 40° (TR1), otras aplicándole ácido cítrico recogido por un (que se echa después de repartir lo que sería su comida) (ALR1), y otras placa de Petri de control para comparar sin tratar.
- 11. Estas réplicas las metemos en la nevera, de nuevo, para que se queden en estado sólido para luego poder echarle el moho, que se quitará con un cuchillo.
- 12. Al día siguiente, después de haber metido las placas de Petri en la nevera, las sacamos y con unos guantes coges el limón con moho y sembramos las esporas de este con un hisopo en condiciones de esterilidad con mecheros, en forma de barrido, por toda la placa.
- 13. Finalmente vas viendo si crece o no ya partiendo desde el día siguiente haciendo el conteo por toda la placa de Petri.
- 14. El conteo se hace mediante plantilla de cuadros en la propia placa de Petri. Se irán contando los cuadros de crecimiento (cada dos días) o teniendo en cuenta todos los cuadros en los que haya hongo, estén llenos o no. A lo largo de una 8 días.
- 15. Al final se hace una media de datos para calcular con que tratamiento ha crecido más o menos el moho.

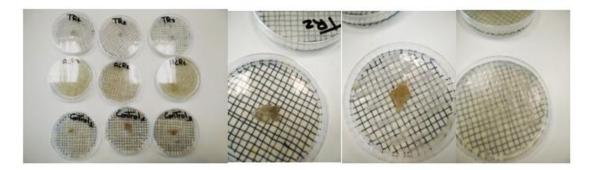


Ilustración 1. Placas temperatura, ácido y control. Por orden temperatura, control y ácido.

Resultados y conclusiones:

Después de haber realizado el experimento, hemos podido comprobar que la temperatura y el ácido cítrico sí afectan al crecimiento del *Penicillium digitatum* ya que, en ambos casos, incluyendo las réplicas, ha crecido menos el hongo. (Tabla 1) Siendo más significativo el efecto de la temperatura que el del ácido, esto puede deberse a que este moho está acostumbrado a crecer en cítricos y por tanto su tolerancia al medio ácido es mayor que al calor. (Ilustración 1)

En la de Control también hemos podido observar que aumentó su tamaño con gran abundancia puesto que tenía las condiciones necesarias para que pudiese vivir.

Con lo cual nuestra hipótesis ha sido del todo correcta por las razones mencionadas anteriormente.

Tabla 1. Datos del crecimiento del moho según tratamientos

		Día 2	Día 4	Día 6	Día 8
Temperatura	TR1	13	13	13	11
	TR2	13	13	12	11
	TR2	14	13	12	11
	Medias	13	13	13	11
Ácido limón	ALR1	14	13	13	13
	ALR2	14	14	13	12
	ALR3	15	15	14	13
	Medias	14	14	13	13
Control	C1	15	17	18	19
	C2	15	17	18	20
	C3	17	18	20	21
	Medias	16	17	19	20

Se redondea a la unidad puesto que son cuadrados.

Mejoras:

Para mejorar este experimento podríamos haber escogido distintos tipos de moho para ver cómo les afectaría la temperatura y el ácido clorhídricos o también con otras sustancias como ácido de limón.

Bibliografía:

Aspergillus oryzae - CIER (corpcier.org)

 $\frac{https://www.engormix.com/micotoxinas/articulos/principales-factores-condicionantes-desarrollo-\\ \underline{t26065.htm}$