

**AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE LA BACTERIA *Leuconostoc mesenteroides* DEL JUGO DE LA CAÑA DE AZÚCAR EN EL SUR DE TAMAULIPAS.**

**ISOLATION AND MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF THE BACTERIA *Leuconostoc mesenteroides* FROM THE JUICE OF THE SUGAR CANE IN THE SOUTH OF TAMAULIPAS.**

José Reyes-Hernández<sup>1</sup>, Miguel A. García-Delgado<sup>1</sup>, Rodolfo Torres-De los Santos<sup>1</sup>, Sebastián Hernández-Morán<sup>1</sup>, Juan José Maldonado Almanza<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Tamaulipas-Unidad Académica Multidisciplinaria Mante

<sup>2</sup>Ingenio el Mante S. A. de C. V.

[jrhernandez@uat.edu.mx](mailto:jrhernandez@uat.edu.mx)

**RESUMEN**

Las características físicas y químicas del jugo de caña de azúcar hacen de éste un excelente sustrato para el desarrollo de microorganismos. Uno de estos microorganismos es *Leuconostoc mesenteroides* el cual degrada la sacarosa presente en el jugo e incorpora al mismo tiempo metabolitos como el ácido láctico, acético, etanol, manitol y polisacáridos como dextranas y lévanos (Cuervo-Mulet *et al*, 2010). A partir de la caña de azúcar de diferentes frentes de cosecha de los ingenios El Mante S.A. de C.V. y Aarón Sáenz Garza, se tomaron muestras de jugo en los molinos desinfectados de los laboratorios de campo de ambos ingenios las cuales fueron sembradas en medio de cultivo sólido Papa Dextrosa Agar (PDA) esterilizado a 120°C y 15 libras de presión por 15 minutos. Se aisló y purificó la bacteria utilizando campana de flujo laminar como medio de asepsia y se caracterizó morfológicamente por medio de la tinción de Gram con el apoyo de un microscopio compuesto, presentando formas coco bacilos gram positivos propios de *Leuconostoc mesenteroides*. Esta bacteria se presenta en la caña cosechada tanto manual como mecánicamente producto de la nula desinfección de los equipos de cosecha, y en menor grado como consecuencia del ataque de plagas a la caña como barrenador del tallo y rata cañera, lo cual ocasiona la invasión de este microorganismo a los jugos provocando un efecto dañino sobre la sacarosa al hidrolizarla en forma irreversible y transformarla en dextranas que son polisacáridos que incrementan la viscosidad de los flujos y reducen la recuperación de sacarosa.

**Palabras clave:** *Leuconostoc, mesenteroides, caña de azúcar, dextranas, Tinción de Gram.*

**Key words:** *Leuconostoc, mesenteroides, sugar cane, dextrans, gram stain.*

## **INTRODUCCIÓN.**

La pérdida de sacarosa y la formación de dextrana están asociadas con el deterioro de la caña de azúcar. El azúcar producido con caña deteriorada contiene un alto contenido de dextranas y no reúne las condiciones de aceptabilidad para su empleo como materia prima en la elaboración de algunos alimentos. Durante años este ha sido un problema que la industria azucarera ha enfrentado, convirtiéndose en un reto para el mejoramiento de la calidad y producción del azúcar. Las características físicas y químicas del jugo de caña de azúcar hacen de éste un excelente sustrato para el desarrollo de microorganismos. Uno de estos microorganismos es *Leuconostoc mesenteroides* el cual degrada la sacarosa presente en el jugo y forma de incorporar al mismo tiempo, metabolitos como el ácido láctico, acético, etanol, manitol y polisacáridos como dextranas y lévanos (Cuervo-Mulet *et al*, 2010).

Ciertas especies del género *Leuconostoc* pueden ser particularmente perjudiciales en un Ingenio azucarero, desarrollándose en ciertas etapas del proceso tecnológico propio de este tipo de empresa, provocando grandes pérdidas de sacarosa y por lo tanto reduciendo la productividad con el perjuicio económico que esto conlleva (Cogan and Jordan, 1994).

En la caña de azúcar es posible encontrar una amplia diversidad microbiana, siendo comunes las bacterias productoras de ácido láctico a partir de la fermentación de la sacarosa, también llamadas bacterias ácido-lácticas. Dentro de este grupo, los géneros más comúnmente encontrados son: *Leuconostoc*, *Lactobacillus* y *Peiococcus*, los cuales pueden encontrarse en la superficie de las tinas (clarificador) donde cae la melaza o costra de sacarosa o por el contrario venir inmersas en el jugo de caña después de la molienda, suministrando un medio de crecimiento ideal para algunas de estas bacterias presentes en el material. *Leuconostoc mesenteroides*, es responsable de una disminución significativa en la producción de azúcar y etanol debido a los procesos de fermentación de la sacarosa, presentándose pérdidas cercanas al 20% del total producido (Madigan *et al* 2005).

## **OBJETIVO**

Aislar y caracterizar morfológicamente la bacteria *Leuconostoc mesenteroides* extraída del jugo de la caña de azúcar de diferentes frentes de corte, tanto mecanizado como manual en los ingenios El Mante y Aarón Sáenz Garza ubicados en la zona cañera del sur de Tamaulipas.

## **METODOLOGIA**

### **Ubicación del área de estudio**

#### **Campo**

El trabajo de campo se realizó mediante la extracción de jugo de caña de diferentes frentes de corte en los laboratorios del campo experimental de los ingenios El Mante y Aarón Sáenz Garza ubicados geográficamente en las coordenadas 22° 43' 09'' de Latitud Norte y 98° 58' 49'' de Longitud Oeste, 22° 56' 37'' de Latitud Norte y 98° 59' 47'' de Longitud Oeste respectivamente. Los molinos fueron lavados y desinfectados con hipoclorito de Sodio comercial (5%), previo a la extracción de los jugos depositados en recipientes estériles de plástico.

#### **Laboratorio**

El trabajo de laboratorio se realizó en el laboratorio de Microbiología de la Unidad Académica Multidisciplinaria Mante dependiente de la Universidad Autónoma de Tamaulipas (UAT) la cual se encuentra ubicada en las coordenadas geográficas 22° 44' 45'' de Latitud Norte y 98° 58' 59'' de Longitud Oeste.

## **AISLAMIENTO**

En el jugo de caña no se encuentra solamente la bacteria láctica *L. mesenteroides*, por lo tanto, se hizo necesario realizar el aislamiento de esta cepa y posterior identificación. El aislamiento se realizó utilizando el método de siembras en superficie por estrías a partir de un cultivo mixto obtenido del jugo de la caña proveniente de los molinos desinfectados de los ingenio El Mante y Aarón Sáenz Garza.

Las colonias aisladas fueron seleccionadas por sus diferencias morfológicas y se purificaron por repliques sucesivos antes de realizar las diferentes pruebas de identificación, las cuales consistieron en caracterización macroscópica (color, tamaño, superficie, consistencia, entre otros), microscópica tales como coloraciones diferenciales (coloración de Gram principalmente) las cuales sirvieron para descartar algunas colonias diferentes a *Leuconostoc mesenteroides*.



Fig 1 y 2 Aislamientos de *L. mesenteroides* del Ingenio El Mante S. A. de C. V. y Aarón Sáenz Garza

## **IDENTIFICACIÓN DE LA CEPA BACTERIANA *Leuconostoc mesenteroides***

Para la identificación del aislamiento bacteriano se utilizaron diferentes parámetros, se les realizó una caracterización macroscópica y una caracterización microscópica que incluía la coloración de gram, coloración de cápsula, coloración de esporas y morfología bacteriana.

### **Técnica de la coloración de gram**

- 1.- Preparar un extendido fino del material en estudio y dejarlo secar al aire.
2. Fijar el material al portaobjeto de modo que no sea arrastrado durante el proceso de tinción, pasando el portaobjeto 3 ó 4 veces por la llama de un mechero de Bunsen.

3. Colocar el preparado sobre un soporte de tinción y cubrir la superficie con solución de Cristal Violeta por 1 minuto.
4. Pasando el minuto, lavar con agua destilada.
5. Cubrir el preparado con Lugol Gram por 1 minuto. Lavar nuevamente con agua destilada.
6. Sostener el portaobjeto entre el pulgar y el índice y bañar la superficie con unas gotas del decolorante: alcohol acetona hasta no arrastrar más colorante violeta. Esto, requiere habitualmente unos 30 segundos o menos.
7. Lavar con agua destilada y colocar nuevamente el portaobjeto sobre el soporte. Cubrir la superficie con Safranina (contracolor), durante un minuto. Lavar con agua.
8. Colocar el preparado en un soporte de tinción en posición vertical, dejando que escurra el exceso de agua y que se seque el extendido.
9. Examinar el extendido al microscopio compuesto con los objetivos 40X y en aceite de inmersión (100X).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Se aisló del jugo de caña de azúcar y caracterizó morfológicamente la bacteria Gram positiva *Leuconostoc mesenteroides* la cual es un coco bacilo que se presenta principalmente en la caña cosechada tanto manual como mecánicamente producto de la nula desinfección de los equipos de cosecha, y en menor grado como consecuencia del ataque de plagas a la caña como barrenador del tallo y rata cañera, lo cual ocasiona la invasión de este microorganismo a los jugos provocando un efecto dañino sobre la sacarosa al hidrolizarla en forma irreversible y transformarla en dextranas que son polisacáridos que incrementan la viscosidad de los flujos y reducen la recuperación de sacarosa.

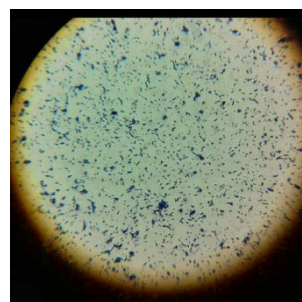
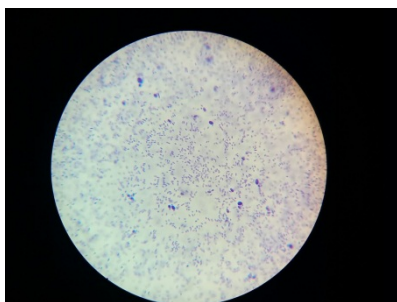


Fig 1 y 2 Bacterias lácticas Gram positivas de *L. mesenteroides* aisladas de jugo de caña en el Ingenio El Mante S. A. de C. V. e Ingenio Aarón Sáenz Garza.

## LITERATURA CITADA.

- Cogan, T. M. & K. N. Jordan. 1994. Metabolism of *Leuconostoc* Bacteria. Journal of Dairy Science. 77 (9): 2704-2717.
- Cuervo-Mulet R. A., J. Ángel-Ledesma, Durán-Vanegas J. A., F. E. Argote-Vega. 2010. Aislamiento y Control Microbiológico de *Leuconostoc mesenteroides*, en un Ingenio para Optimizar el Rendimiento de Azúcar y Etanol. Rev. Bio.Agro vol.8 no. 17 p.
- Madigan, M. T, J. M. Martinko & Parker, J. 2005. Biología de los microorganismos. 10 edición. Editorial Pearson Educación, S.A., Madrid. 1096 p.