



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIRIQUÍ  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS  
ESCUELA DE QUÍMICA

“DECOLORACIÓN DE VINAZAS DE DESTILERÍA MEDIANTE TRATAMIENTO  
COMBINADO CON *Trametes villosa* Y BIOSORCIÓN CON BAGAZO DE CAÑA”

PRESENTADO POR: MIGUEL A. CARDOZO S.

ASESORA: Dra. ROSA ELENA CABALLERO

COASESORES:

Mgtr. ALBERTINA MONTENEGRO

Mgtr. NICOMEDES A. JARAMILLO G.

TRABAJO DE GRADUACIÓN PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE LICENCIADO  
EN QUÍMICA

DAVID, CHIRIQUÍ

2024



## DEDICATORIA

A mis padres, por su apoyo incondicional en mi vida y mis estudios. Cada logro que he alcanzado es un reflejo de su guía y confianza. Esta meta es tanto mía como suya.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Karen, al licenciado Brian, Liz, la licenciada Ethany, Giselle, la licenciada Melanie, Melody y a todos mis compañeros por su compañía apoyo durante esta etapa. Agradezco al Centro Especializado en Investigaciones de Química Inorgánica y Afines (CEIQUIA) y a la licenciada Mónica Miranda. A la Doctora Rosa Elena Caballero, al Profesor Nicomedes Jaramillo y a la Profesora Albertina Montenegro. A mis compañeras de laboratorio la licenciada Ethany y Leidybeth, por el trabajo en equipo y los aprendizajes compartidos. A mis amigos Amy, Anasofía, Anel, Jean, José, Fany y Rut y a todas las personas que, sin necesidad de mencionarlas, saben que han estado presentes y han contribuido de alguna manera a que alcance esta meta.

Mi gratitud a la MSc. Maritza Vega, Licenciada Dayra Icaza y Lic. Janeth Samudio del Laboratorio de Botánica L-6 de la Universidad Autónoma de Chiriquí. A la Doctora Amparo Castillo del Centro Especializado en Investigaciones de Parasitología y Microbiología (CEIPAMI), al MSc. Víctor Jiménez y la MSc. Osiris Murcia. También al Doctor Jorge Ceballos del Instituto de Investigaciones Tropicales Smithsonian y al Profesor Luis Vargas del Centro de Investigación de Cultivos Vegetales.

Extiendo mi agradecimiento al Centro de Investigación de Productos Naturales y Biotecnología (CIPNABIOT), a la Doctora Tina Hoffman del Centro de Investigaciones Micológicas (CIMI) y al Herbario de la Universidad Autónoma de Chiriquí.

Finalmente, dedico un espacio especial en memoria del Doctor Esmil Camargo.



## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL .....	vi
ÍNDICE DE TABLAS .....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
RESUMEN .....	xii
ABSTRACT.....	xiii
CAPÍTULO I .....	1
1.1.1 Aspectos generales del problema.....	2
1.1.2 Hipótesis .....	3
1.1.3 Objetivo general.....	4
1.1.4 Objetivos específicos .....	4
1.1.5 Alcance del trabajo.....	4
1.1.6 Limitaciones.....	5
1.1.7 Justificación .....	5
CAPÍTULO II.....	7
2.1 VINAZAS DE DESTILERÍA.....	8
2.1.1 ¿Qué son las vinazas? .....	8

2.1.3	Impacto ambiental de las vinazas .....	11
2.1.4	Tratamientos alternativos y aprovechamiento de las vinazas .....	12
2.2	REMEDIACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN .....	13
2.2.1	Biorremediación.....	13
2.2.2	Micorremediación .....	14
2.2.3	Biosorción .....	16
2.2.4	Bagazo de caña .....	19
2.3	ECONOMÍA CIRCULAR .....	21
2.3.1	Concepto .....	21
2.3.2	Importancia .....	21
CAPÍTULO III.....		23
3.1.1	Materiales.....	24
3.1.2	Reactivos.....	25
3.2	PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.....	26
3.2.1	Mantenimiento de la cepa .....	26
3.2.2	Producción de inóculo.....	26
3.2.3	Selección de condiciones para el biotratamiento de vinaza con <i>T. villosa</i> .....	27
3.2.4	Preparación y análisis del biosorbente .....	30
3.2.5	Protocolo de tratamiento combinado biotratamiento-biosorción.....	33

3.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	37
CAPÍTULO IV.....	38
4.1 RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	39
4.1.1. Selección de condiciones para el biotratamiento de vinaza con <i>T. villosa</i> .....	39
4.1.2 Protocolo de tratamiento combinado biotratamiento-biosorción.....	41
CAPÍTULO V. ....	57
5.1 CONCLUSIONES .....	58
5.2 RECOMENDACIONES.....	59
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b> <i>Comparación de la composición fisicoquímica de distintas muestras de vinaza. ....</i>	10
<b>Tabla 2</b> <i>Diseño de Plackett-Burman para la selección de condiciones para el biotratamiento de vinaza con T. villosa. ....</i>	28
<b>Tabla 3</b> <i>Variables evaluadas con el diseño de Plackett-Burman. ....</i>	29
<b>Tabla 4</b> <i>Factores y niveles del diseño central compuesto. ....</i>	35
<b>Tabla 5</b> <i>Matriz de diseño central compuesto y resultados. ....</i>	36
<b>Tabla 6</b> <i>Resultados del ANOVA para la biosorción con bagazo de caña. ....</i>	44
<b>Tabla 7</b> <i>Grupos ácido-base del bagazo de caña crudo y residual. ....</i>	56

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> <i>Reacción de fermentación de la glucosa.</i> .....	8
<b>Figura 2</b> <i>Esquema del proceso de producción de etanol a partir de caña de azúcar.</i> .....	9
<b>Figura 3</b> <i>Cadena de valorización en la producción de etanol y azúcar a partir de la caña.</i> .....	12
<b>Figura 4</b> <i>Esquema de los poros de un material según su tamaño.</i> .....	18
<b>Figura 5</b> <i>Mantenimiento de cepas. A. Procedimiento de transferencia periódica. B. Material fúngico en medio con vinaza al 25%.</i> .....	26
<b>Figura 6</b> <i>Producción del inóculo.</i> .....	27
<b>Figura 7</b> <i>Microscopía electrónica de barrido A. Preparación de las muestras. B. Pretratamiento con aleación oro: paladio.</i> .....	31
<b>Figura 8</b> <i>Matraces en agitación para ensayos de PZC.</i> .....	32
<b>Figura 9</b> <i>Medición del pH final para el ensayo de PZC.</i> .....	32
<b>Figura 10</b> <i>Producción de vinaza biotratada A. Reactores de vinaza B. Medición del % de decoloración de la vinaza biotratada.</i> .....	34
<b>Figura 11</b> <i>Proceso de biosorción con bagazo de caña.</i> .....	35
<b>Figura 12</b> <i>Decoloración de la muestra de vinaza por <u>T. villosa</u> para diferentes combinaciones de factores de acuerdo con el diseño de Plackett-Burman.</i> .....	39
<b>Figura 13</b> <i>Producción de vinaza biotratada.</i> .....	40
<b>Figura 14</b> <i>Variación del % de decoloración en función del tiempo.</i> .....	42

<b>Figura 15</b> <i>Gráfico de superficie para la decoloración (%) en función de los gramos de bagazo y el pH.....</i>	45
<b>Figura 16</b> <i>Espectros FTIR-ATR del bagazo crudo y el bagazo residual. ....</i>	48
<b>Figura 17</b> <i>Microscopía electrónica de barrido del bagazo de caña crudo a 650x. .....</i>	49
<b>Figura 18</b> <i>Microscopía electrónica de barrido del bagazo de caña residual a 500x.....</i>	50
<b>Figura 19</b> <i>Microscopía electrónica de barrido del bagazo de caña crudo a 2000x. .....</i>	51
<b>Figura 20</b> <i>Microscopía electrónica de barrido del bagazo residual a 2000x.....</i>	52
<b>Figura 21</b> <i>Gráfico de punto de carga cero para una concentración iónica de KCl 0.1N.....</i>	54
<b>Figura 22</b> <i>Gráfico de punto de carga cero para una concentración iónica de KCl 0.05N.....</i>	54

## RESUMEN

La gestión de residuos es un tema de suma importancia que resalta la urgencia de desarrollar e implementar tecnologías y prácticas innovadoras para promover la sostenibilidad y protección del ambiente. En Panamá, las vinazas de caña de azúcar representan un desafío ambiental significativo ya que se producen en gran cantidad y tienen características recalcitrantes tales como su color oscuro y elevada carga orgánica. Por su parte, el bagazo es un residuo sólido con potencial de aprovechamiento que no ha sido suficientemente estudiado en nuestro país. En este contexto, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la decoloración de vinazas mediante la aplicación de un tratamiento combinado con el hongo lignolítico *Trametes villosa* y biosorción con bagazo de caña. El biotratamiento combinado produjo un porcentaje de decoloración de la vinaza de 93.1%. El proceso de biosorción no produjo cambios estructurales ni morfológicos en el bagazo de caña, por lo cual se deduce que la interacción entre el bagazo y los componentes que confieren color a la vinaza fue un proceso físico. Las herramientas quimiométricas aplicadas permitieron la optimización de los factores involucrados en los procesos de biotratamiento y biosorción lo cual proporciona datos de línea base para el diseño de estrategias para mitigar el impacto ambiental de las vinazas de caña de azúcar. Los resultados obtenidos contribuyen con la base científico-técnica del país ya que se aporta conocimiento para el manejo de dos residuos producidos por la misma actividad económica.

*Palabras clave:* fermentación, diseño central compuesto, bioconversión, biomateriales

## ABSTRACT

Waste management is an important issue that highlights the urgency of developing and implementing innovative technologies and practices to promote sustainability and environmental protection. In Panama, sugarcane vinasse represents a significant environmental challenge as it is produced in large quantities and has recalcitrant characteristics such as its dark color and high organic load. On the other hand, bagasse is a solid waste with potential for use that has not been sufficiently studied in our country. In this context, the present work aimed to evaluate the decolorization of vinasse by applying a combined treatment with the ligninolytic fungus *Trametes villosa* and biosorption with sugarcane bagasse. The combined biotreatment produced 93.1% decolorization. The biosorption process did not produce structural or morphological changes in sugarcane bagasse from which it can be deduced that the interaction between the bagasse and the coloring components within the vinasse was a physical process. Chemometric tools allowed the optimization of the factors involved in the biotreatment and biosorption processes, which provides baseline data for the design of strategies to mitigate the environmental impact of sugarcane vinasse. Our results contribute to the country's scientific-technical base providing knowledge for the management of two wastes produced by the same economic activity.

*Keywords:* fermentation, central composite design, bioconversion, biomaterials

CAPÍTULO I  
MARCO INTRODUCTORIO

## 1.1 INTRODUCCIÓN

### 1.1.1 Aspectos generales del problema

La producción de etanol a partir de la caña de azúcar en la República de Panamá ha ido en aumento en los últimos años. Según la Asamblea Nacional, Anteproyecto de Ley #302 (2021), se cuenta con la capacidad de procesamiento de 1 500 000 toneladas de caña, lo que permite la producción de más de 110 millones de litros de etanol. La producción de etanol resulta en una gran cantidad de residuos; se estima una relación de entre 10 y 15 litros de vinaza se producen por cada litro de etanol (Lezcano y Mora, 2005).

Según el Ministerio de Desarrollo Agropecuario en el informe Cierre Agrícola 2023-2024, en Panamá se registraron 261 productores de caña de azúcar, que sembraron un total de 10 845 hectáreas, las cuales produjeron un total de 804 828 toneladas de caña en el período comprendido entre el 1 de mayo de 2023 al 30 de abril de 2024; aproximadamente un 46% de la producción de caña a nivel nacional se encuentra en la provincia de Chiriquí. Se estima que por cada 1000 toneladas de caña de azúcar que se procesan, se producen 270 toneladas de bagazo de caña (Chaudhary et al., 2021).

La vinaza, considerada como efluente, no es apropiada según los parámetros aceptados para descarga de efluentes líquidos en Panamá estipulados según las normas vigentes (DGNTI, 2019; 2008). Parámetros como el pH, sólidos totales, conductividad eléctrica y hierro, demanda química y demanda bioquímica de oxígeno y su color café oscuro se encuentran fuera de los límites establecidos para los efluentes. Sin un programa de tratamiento o valorización este residuo constituye un reto para la responsabilidad social ambiental de las destilerías.

Por otro lado, el bagazo de caña de azúcar se aprovecha para la producción de energía, pero esta aplicación tiene implicaciones ambientales por la generación de gases de efecto invernadero. Otra aplicación del bagazo es su mezcla con alimento para preparar raciones para rumiantes (Molavian et al., 2020). No se ha explorado el bagazo de caña de azúcar como residuo en procesos de tratamiento de agua residuales. En Panamá se han llevado a cabo estudios de biotratamiento y valorización de vinazas, que han sentado líneas base para protocolos que implican el uso de hongos basidiomicetos de podredumbre blanca. Sin embargo, a la fecha, no se han reportado estudios en los que se combinen tratamientos biológicos para la vinaza. Más aún, no se han reportado estudios que combinen tratamientos haciendo uso de subproductos de la misma industria que genera la vinaza.

#### 1.1.2 Hipótesis

##### Hipótesis 1:

H0: El biotratamiento combinado con *T. villosa* y biosorción con bagazo de caña no produce decoloración en la vinaza.

Ha: El biotratamiento combinado con *T. villosa* y biosorción con bagazo de caña produce decoloración en la vinaza.

##### Hipótesis 2:

H0: No se observan cambios morfológicos ni estructurales en el bagazo de caña luego del proceso de biosorción.

Ha: Se observan cambios morfológicos y estructurales en el bagazo de caña luego del proceso de biosorción.

### 1.1.3 Objetivo general

Desarrollar un protocolo para la decoloración de vinazas de destilería mediante tratamiento combinado con *Trametes villosa* y biosorción con bagazo de caña.

### 1.1.4 Objetivos específicos

- a. Caracterizar el bagazo de caña antes y después del proceso de biosorción.
- b. Aplicar un protocolo validado de biotratamiento con *T. villosa* a la vinaza cruda.
- c. Optimizar y validar las condiciones de biosorción de la vinaza pretratada con *T. villosa* empleando bagazo de caña.
- d. Determinar el porcentaje de decoloración obtenido por biotratamiento con los protocolos combinados de biotratamiento y biosorción.

### 1.1.5 Alcance del trabajo

El presente trabajo de investigación aplicó un tratamiento combinado para el tratamiento de vinazas de destilería, aprovechando una cepa nativa de la región, *Trametes villosa* y un residuo agroindustrial, el bagazo de caña. En primera instancia se llevó a aplicó la fermentación sumergida por una metodología reportada en la literatura que se validó para la muestra analizada. Esto permitió tener un volumen de muestra biotratada por el hongo para luego utilizar el bagazo como biosorbente.

La utilización de herramientas quimiométricas permitieron el establecimiento de las condiciones óptimas para la biosorción y los efectos del proceso sobre el bagazo de caña fueron analizados por técnicas químicas, espectroscópicas y microscópicas.

Con lo anterior el proyecto proporciona los primeros resultados para la decoloración de vinaza producida por la agroindustria local combinando las propiedades de bioconversión de un hongo de podredumbre blanca con la utilización de un residuo lignocelulósico como bagazo de caña como material biosorbente.

#### 1.1.6 Limitaciones

Dentro de los aspectos que no se incluyen en el proyecto se encuentran la optimización de las condiciones relevantes para el biotratamiento con *T. villosa*, ya que únicamente se buscó encontrar la combinación de factores que producían el mejor porcentaje de decoloración.

La evaluación de la temperatura como factor incidente sobre la biosorción se excluyó como actividad del estudio por razones operativas por la limitación de equipo.

Respecto a los datos, se tiene que el diseño de superficie de respuesta estuvo condicionado a la capacidad del incubador, lo que justifica la cantidad de puntos en la matriz de diseño central compuesto como se detalla más adelante.

#### 1.1.7 Justificación

Planteada la necesidad de investigaciones de desarrollo tecnológico relacionadas con el manejo de residuos agroindustriales, específicamente de la vinaza y del bagazo, este

proyecto propone la valorización del bagazo de caña mediante su aplicación como material biosorbente para el tratamiento de la vinaza. Este abordaje aplica los fundamentos de las biorrefinerías y bioeconomía, por el aprovechamiento de las materias primas y también de los residuos generados dentro de una misma actividad económica, buscando información de línea base para la generación de protocolos que puedan ser eventualmente escalados en futuros estudios. Estos son conceptos clave en la investigación biotecnológica ambiental actual.

El desarrollo de esta investigación busca generar nuevo conocimiento sobre los tratamientos biológicos para los efluentes y contribuir con la generación de capacidades en biorremediación y valorización de residuos, lo cual guarda relación con la línea de investigación 1: Biodiversidad y Ambiente de la Universidad Autónoma de Chiriquí.

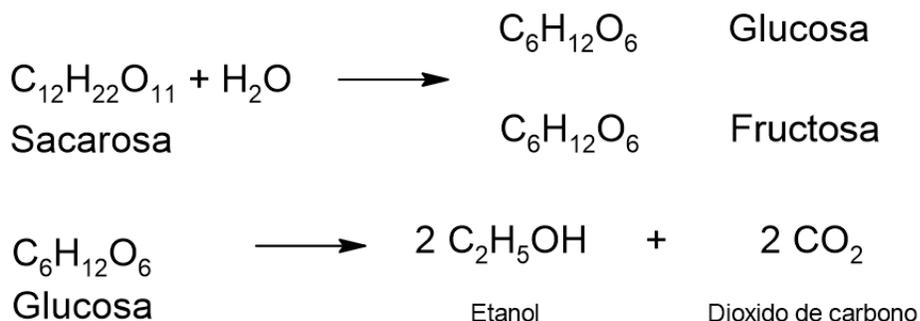
CAPÍTULO II  
MARCO TEÓRICO

## 2.1 VINAZAS DE DESTILERÍA

### 2.1.1 ¿Qué son las vinazas?

La producción de etanol se da partir de la fermentación de la glucosa aprovechando el metabolismo de las levaduras (Figura 1); la especie más comúnmente utilizada para este propósito es la *Saccharomyces cerevisiae* debido a su alto rendimiento (Espinosa y Ovando, 2014). Las vinazas son el principal residuo generado por las destilerías de etanol y se caracterizan por ser un líquido de color oscuro con pH ácido de entre 3.5 y 5 (Cabrera et al., 2021).

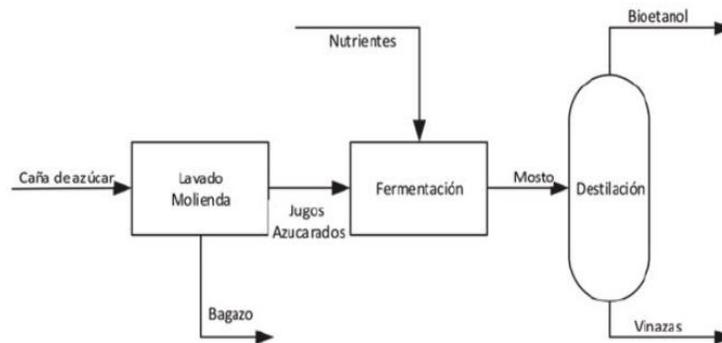
**Figura 1** Reacción de fermentación de la glucosa.



Las vinazas se forman en la etapa de destilación en la que se separa el etanol de otros productos no deseados (Figura 2); la cantidad de vinaza producida por cada litro de etanol va a depender de la cantidad de veces que estas puedan recircularse en el proceso (Espinosa y Ovando, 2014) y también dependerá tanto de la materia prima como del método de producción (Ibarra et al., 2019). Según Lezcano y Mora (2005) la obtención de un litro de etanol estima una producción promedio de entre 10 y 15 litros de vinazas.

Para la producción de etanol se aprovecha una variedad de materia de origen vegetal como la caña de azúcar, el maíz, cereales, remolacha, entre otros. El proceso de producción varía dependiendo de las características de la materia prima, las cuales usualmente se dividen en: materiales de alto contenido en azúcares (caña de azúcar, remolacha dulce), materiales de alto contenido en almidón (maíz, trigo, papa), materiales celulósicos (residuos agrícolas, madera) (Melgar et al., 2014).

**Figura 2** Esquema del proceso de producción de etanol a partir de caña de azúcar.



Fuente: Caputo (2020)

### 2.1.2 Características fisicoquímicas de la vinaza.

Las vinazas de caña son un residuo altamente variable cuya composición depende tanto de los procesos específicos utilizados en las etapas de fermentación y destilación, así como de la selección de la cepa y la materia prima utilizada. La Tabla 1 muestra la composición de distintas muestras de vinaza de caña de azúcar donde se puede observar esta variabilidad. En general las vinazas independientemente de su origen presentan niveles altos de materia orgánica, potasio y calcio, cantidades moderadas de nitrógeno y fósforo, pH ácido, grandes cantidades de sólidos suspendidos y elevados valores de la demanda

química de oxígeno (DQO) y demanda bioquímica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>) (Águila et al., 2024). El descarte de este residuo sin un plan de tratamiento es increíblemente perjudicial para los ecosistemas (Mikucka y Zielińska, 2020). La presencia de diversos compuestos orgánicos como melanoidinas, compuestos fenólicos y derivados del furano, son causa del carácter recalcitrante de las vinazas, por lo cual es un residuo difícil de tratar por métodos tradicionales (Pascual, 2019). La composición altamente variable de las vinazas requiere que sean caracterizadas antes de su posible utilización o aprovechamiento (Borrero et al., 2023). Además de que estos compuestos contribuyen con la carga orgánica, también son responsables del color oscuro de las vinazas.

**Tabla 1** Comparación de la composición fisicoquímica de distintas muestras de vinaza.

Parámetro	Unidad	Muestra			
		AM14	AM45	AM89	p. sliliptis
Conductividad	μS/cm	6.650	6.660	6.475	6.430
pH	Unidad	4.665	4.74	4.77	4.67
Oxígeno disuelto	mg/L	0.985	5.6	1.845	4.56
Turbidez	NTU	3.835	3.520	4.745	3.400
Solidos disueltos	mg/L	3.250	3.541	3.425	3.565
Solidos suspendidos	mg/L	4.135	3.980	5.035	3.840
Solidos totales	mg/L	7.655	7.521	8.460	7.405
NO <sub>3</sub> -N	mg/L	30	26.5	57.5	41
NO <sub>3</sub>	mg/L	134	116.5	255	181
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	mg/L	4.75	4.35	4.85	3.3
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	mg/L	3.55	3.25	3.65	2.45
P	mg/L	1.55	1.4	1.6	1.1
N	mg/L	115.5	76	112.5	123
NH <sub>3</sub>	mg/L	141	92.5	137	149.5
Sulfatos	mg/L	225	285	235	275
Sulfatos	mg/L	21.165	19.535	21.905	17.600
DBO <sub>5</sub>	mg/L	40.800	36.100	41.000	42.300
DQO	mg/L	0.52	0.54	0.53	0.42
DBO <sub>5</sub> /DQO					

Fuente: Cerón et al. (2013)

### 2.1.3 Impacto ambiental de las vinazas

Todas las actividades productivas generan residuos, los cuales deben ser tratados y dispuestos de forma que se mitigue el impacto negativo a la salud humana y al ambiente; las vinazas constituyen un grave peligro medioambiental debido a la gran cantidad de materia orgánica presente en ellas y el volumen en que se genera (González et al., 2020; Ibarra et al., 2019).

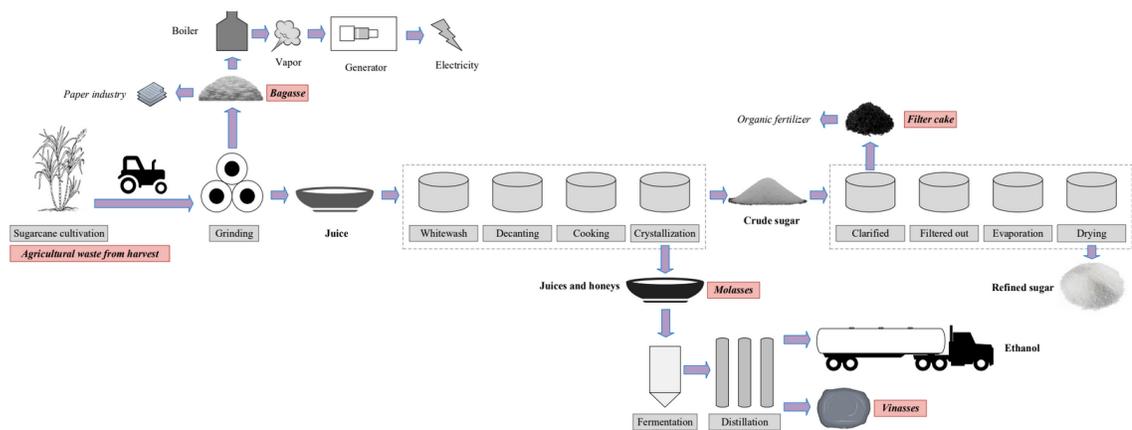
Las vinazas de destilería de alcohol se encuentra entre los residuales orgánicos de mayor efecto contaminante sobre la flora y fauna del planeta; las vinazas vertidas en ríos lagos, y canales sin ningún tipo de tratamiento provocan un gran efecto contaminante sobre las fuentes de agua superficial y subterráneas, la disminución de la luminosidad de las aguas, el oxígeno disuelto y la eutrofización son algunos efectos observados en aguas contaminadas por vinazas de destilería (CONADESUCA, 2016).

En Panamá la descarga de vinazas está regida por los reglamentos técnicos DGNTI-COPANIT 35-2019 y DGNTI-COPANIT 39-2000, en los que se establecen los valores máximos permisibles para la descarga de efluentes líquidos industriales a sistemas de recolección de agua residual. Este reglamento se toma en cuenta parámetros como el DQO (mg/L), DBO<sub>5</sub> (mg/L), nitratos, olor, pH, solidos disueltos, sólidos sedimentados, sólidos suspendidos, solidos totales, color de las muestras, entre otros; dentro de los parámetros mencionados podemos encontrar múltiples puntos para los cuales la vinaza sin tratar no cumple con la norma, por lo que no es elegible para ser descartada sin un tratamiento previo.

#### 2.1.4 Tratamientos alternativos y aprovechamiento de las vinazas

Para abordar el problema de la vinaza se han planteado distintas alternativas. Por ejemplo, se ha estudiado el uso de las vinazas como fertilizante en la producción de la caña de azúcar (Figura 3), encontrando resultados favorables en su uso como suplemento o alternativa a la fertilización mineral de nitrógeno, fosforo y potasio (Chaudhary et al., 2021). Sin embargo, un factor a considerar en su uso continuo y prolongado como fertilizante son las características propias de las vinazas como su acidez o las altas concentraciones de sulfatos, cloruros y nitratos que pueden resultar en tanto en la contaminación de los suelos en los que se aplica como en los sistemas de aguas alledaños y subterráneos. La salinización de los suelos, sobrecarga de materia orgánica, la contaminación iónica debido a la presencia de sales sodio, calcio, potasio, magnesio y metales, y la acidificación de las aguas son ejemplos de algunos efectos que puede tener el uso indiscriminado de vinazas como fertilizante (Chafon y Lorenzo, 2014).

**Figura 3** Cadena de valorización en la producción de etanol y azúcar a partir de la caña.



Fuente: Montiel et al. (2022)

Por otro lado, según León (2023), la sobrecarga de sustancias orgánicas en el suelo altera el equilibrio microbiano en suelo y baja las concentraciones de oxígeno disuelto que a largo plazo afecta el rendimiento de los cultivos y la fertilidad de las tierras afectadas.

Diferentes métodos fisicoquímicos, químicos y biológicos han sido propuestos para el tratamiento de las vinazas, siendo los biológicos los más apropiados debido a la gran cantidad de compuestos orgánicos presentes y a su índice de biodegradabilidad (CONADESUCA, 2016). Este índice de biodegradabilidad se obtiene mediante el análisis por fraccionamiento de la DQO y brinda una aproximación para categorizar una muestra como biodegradable, tal como ha sido discutido por distintos autores (Caballero et al., 2024; Fernández et al., 2022; Menéndez y Dueñas, 2018).

## 2.2 REMEDIACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN

### 2.2.1 Biorremediación

La biorremediación es una técnica que consiste en el uso de microorganismos como bacterias, hongos, plantas, algas o enzimas producidas por estos organismos para biodegradar o descomponer sustancias contaminantes presentes en el suelo, aire o agua (Iturbe, 2010).

Esta descomposición de sustancias contaminantes las convierte en otras menos tóxicas o inocuas para el medio ambiente gracias a las capacidades metabólicas de estos organismos (Rodríguez et al., 2022).

### 2.2.2 Micorremediación

Desde hace años se han empezado a implementar tecnologías de nueva generación para la disposición de estos residuos, como su uso en la producción de biogás, el fertirriego, o su degradación empleando enzimas producidas por microorganismos; el uso de enzimas fúngicas es una opción altamente efectiva en la degradación de sustancias contaminantes lo cual se conoce como micorremediación (Deshmukh et al., 2016).

Los hongos basidiomicetos son de interés en la investigación para la producción de enzimas para ser usadas en aplicaciones industriales debido al amplio rango de sustratos y medios de cultivo en los que son compatibles, así como su capacidad de producción de enzimas. Dentro de los hongos basidiomicetos se encuentran especies con altas capacidades para producción de enzimas destinadas a la degradación de celulosa, hemicelulosa y pectina, las cuales pueden resultar útiles en el tratamiento de desechos con concentraciones altas de materia biológica vegetal (Rytioja et al., 2014). Enzimas como endoglucanasas, exoglucanasas, lacasas y peroxidases producidas a partir de hongos lignocelulolíticos son aplicables a la degradación de diversos contaminantes orgánicos (Akhtar y Mannan, 2020).

En la literatura hay reportes sobre el uso de estos hongos para biodegradar y valorizar residuos vegetales de origen agroindustrial como lo explorado por Deshmukh et al. (2016) en su estudio sobre las capacidades metabólicas de los hongos para la biorremediación. Otros estudios han abordado este tema desde diferentes perspectivas, como el trabajo de Márquez et al. (2007), que investiga la actividad fibrolítica de enzimas producidas por *Trametes* sp. EUM1, *Pleurotus ostreatus* IE8 y *Aspergillus niger* AD96.4 en fermentación sólida; sobre este último, es un hongo ascomiceto muy estudiado en micorremediación (Gulzar et al., 2017; Moncayo et al., 2024).

El uso de enzimas también es explorado por Kumar y Chandra (2020), en su estudio sobre los mecanismos de las enzimas ligninolíticas para la degradación de residuos lignocelulósicos en el medio ambiente.

Además, se reporta el estudio del tratamiento de aguas residuales en fermentaciones sumergidas, con enzimas provenientes de microorganismos como hongos y bacterias. Por ejemplo, el tratamiento de vinaza con el hongo *Trametes villosa* obtuvo una reducción considerable en los valores de DQO, fenoles y color en la vinaza, así como un aumento del pH al realizar una optimización de las condiciones de producción de lacasa (Caballero et al. (2021). Podemos encontrar expuesto en Águila et al. (2024), el uso conjunto de hongos y bacterias en una mezcla conocida como Lebame® para el tratamiento de las vinazas con la cual se logró una reducción del 36% en el DQO a comparación de las vinazas crudas.

Los procesos de micorremediación antes mencionados son procesos ex situ, es decir, realizados fuera de la localización donde se genera el contaminante. Esto es así porque dichos procesos están pensados para el diseño de reactores que se puedan aplicar en el nivel industrial para el tratamiento de los efluentes antes de que puedan impactar al ambiente.

Por ello se requiere del desarrollo de protocolos que permitan extrapolar los resultados a mayores escalas de aplicación (Caballero et al., 2024); en este punto es donde cobran importancia las prácticas de optimización de procesos (Singh et al., 2017) y manejo de las variables involucradas para el logro de protocolos escalables. Para ello, se han aplicado diversas técnicas para optimizar y realizar predicciones de los procesos de fermentación que utilizan hongos basidiomicetos como lo son la quimiometría y el aprendizaje automático (Aragão et al., 2020; Fernandes et al., 2020; Yasmeen et al., 2013).

### 2.2.3 Biosorción

En los últimos años se ha observado un creciente interés por la aplicación de biomateriales en el tratamiento de aguas residuales, en la búsqueda de métodos efectivos para eliminar la gran cantidad de contaminantes orgánicos e inorgánicos para los cuales los métodos convencionales no dan buenos resultados (Fuess y Garcia, 2014). La investigación de estos biomateriales ha resultado en la implementación de diversos métodos para la eliminación de contaminantes orgánicos e inorgánicos producidos por industrias como la industria textil y petrolera. Dentro del uso de biomateriales para el tratamiento de aguas se trabajan diferentes enfoques, como es el uso de biorreactores para la degradación de contaminantes, o filtros y biosorbentes para separarlos del agua (Carrasco Marín y Menéndez Díaz, 2010). Esto es así, porque la biomasa vegetal de estos residuos tiene características estructurales que facilita la bioadsorción de moléculas y metales pesados por distintos mecanismos como el intercambio iónico e interacciones hidrofóbicas entre otros mecanismos.

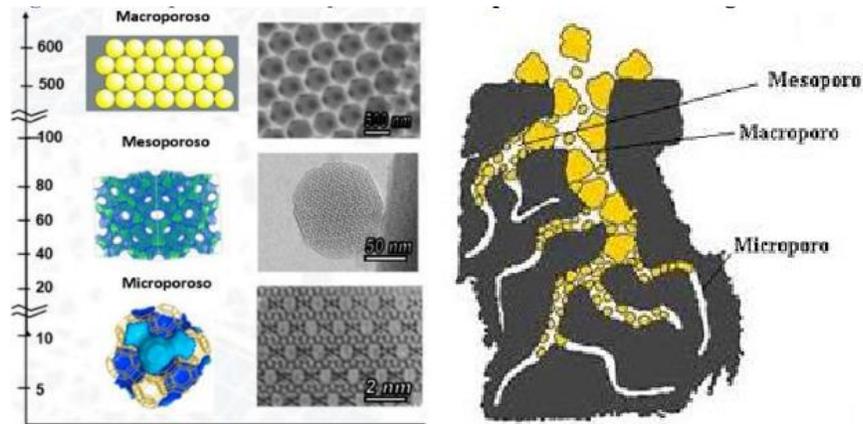
La adsorción es un fenómeno superficial que supone un aumento de la concentración y acumulación de uno o más compuestos determinados conocidos como adsorbatos sobre una interfase denominada adsorbente. Existen distintos tipos de interacciones que pueden propiciar la sorción; se puede clasificar la “fisiosorción” la cual corresponde a fenómenos físicos como potenciales de interacción y fuerzas de van der Waals, este tipo de absorción se considera reversible, puesto que no se dan modificaciones estructurales sobre el adsorbente ni sobre el adsorbato. La “quimisorción” se caracteriza por la formación de enlaces entre la superficie del adsorbente y el adsorbato son procesos irreversibles y muy específicos (Caputo, 2020).

La selección de un material biosorbente debe tomar en cuenta múltiples factores como el costo, el origen, disponibilidad, estado, posibilidad de reutilización, estabilidad, así como la capacidad de la biomasa seleccionada para interactuar con los contaminantes deseados. Por ello, se debe considerar el mecanismo de interacción entre el sorbente y los contaminantes para evaluar su rendimiento.

Según Elgarahy et al. (2021), las principales características que determinan la efectividad de un sorbente y su capacidad de bioadsorción para la eliminación de contaminantes específicos son la solubilidad, tamaño de partículas y área superficial, carga, composición química, reactividad, hidrofiliicidad y la presencia de grupos funcionales que faciliten los procesos de biosorción.

La capacidad de sorción está altamente relacionada a la morfología del material, el volumen y tamaño de sus poros, lo cual incide en la selectividad que presenta para determinados adsorbatos y la cinética de adsorción. Al ser un fenómeno superficial la adsorción depende en gran medida de la facilidad de interacción entre el adsorbato con el adsorbente, una mayor área de superficie es generalmente asociada con una mayor eficiencia. La Figura 4 muestra la clasificación de la porosidad de materiales adsorbentes según la UIQPA (Samuel et al., 2020).

**Figura 4** Esquema de los poros de un material según su tamaño.



Fuente: Caputo (2020)

El estudio de la morfología de un material sorbente resulta beneficioso, pues permite comparar evaluar y comparar características del material como su porosidad, forma y textura con otros materiales. Una técnica comúnmente utilizada en la caracterización de materiales es la microscopia electrónica de barrido debido a su alto poder de magnificación permitiendo observar detalles con magnificaciones de hasta 300 000x con ayuda de equipos modernos (Ipohorski y Bozzano, 2013).

Por otro lado, el pH del medio está directamente relacionado a la adsorción, al afectar tanto la carga de la superficie adsorbente como el grado de disociación de los adsorbatos; el efecto de este factor debe ser determinado experimentalmente según el adsorbato y adsorbente con los que se esté trabajando (Caputo, 2020). Conocer información del biosorbente como el punto de carga cero y la estimación de sus grupos superficiales permite predecir su efectividad en la adsorción de partículas cargadas (Abu et al., 2016).

Caputo (2020) presenta la importancia de la naturaleza del adsorbato; aquí vemos puntos importantes como la solubilidad del adsorbato en su solvente, puesto que la interacción

soluto-solvente presenta un impedimento en el proceso de absorción; la presencia de grupos funcionales y la naturaleza iónica del adsorbente también se toman en consideración debido a las posibles interacciones entre el adsorbato y el adsorbente que puedan ayudar al proceso de adsorción.

La espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) es un método utilizado para la identificación de grupos funcionales y enlaces presentes en un compuesto, el análisis con FTIR de un material sorbente busca revelar sus grupos funcionales, esta técnica resulta útil para el análisis del material antes de los ensayos de biosorción, ya que permite realizar predicciones acerca del comportamiento del material y su posible eficacia en la remoción de distintos tipos de contaminantes. El uso de FTIR después de los ensayos de biosorción también resulta de gran utilidad, ya que puede llevarnos a elucidar los mecanismos de biosorción (Samuel et al., 2020).

#### 2.2.4 Bagazo de caña

El bagazo de caña es un residuo producido en grandes cantidades durante el proceso de extracción de jugo de caña para la producción de azúcar y de etanol a partir de la caña de azúcar; el bagazo constituye aproximadamente entre un 26 y 29% del peso de la caña molida y está conformado por un 48% por fibra la cual puede separarse en dos fracciones, una fracción de fibra relativamente larga y con paredes gruesas, derivadas de la corteza y por haces fibrovasculares del interior del tallo de la planta y una segunda fracción medular proveniente de las paredes delgadas del tallo (Rincones et al., 2015). El componente mayoritario en la estructura del bagazo es la celulosa; su estructura cristalina propicia la formación de micro y macro fibras al agruparse con matrices de hemicelulosa (Chaudhary et al., 2021).

En zonas de producción azucarera, el bagazo de caña ha sido objeto de estudio debido a su gran disponibilidad y bajo costo, con el objetivo de aprovechar sus características fisicoquímicas y morfológicas en el tratamiento de contaminantes en agua, la alta capacidad de desorción de contaminantes, lo que permite la reutilización, y su disponibilidad como fuente de combustible. Estas características le confieren muchos puntos a favor en su selección como material biosorbente.

Por ejemplo, el uso del bagazo de caña en la remoción de hidrocarburos en agua se ha encontrado altamente eficaz, con un promedio de eficacia alrededor del 92% (Rincones et al., 2015). Se probó la capacidad de biosorción del bagazo de caña para la eliminación de hidrocarburos en muestras de agua contaminada, encontrando una efectividad del 98.5% y 94.8% en la remoción de aceites e hidrocarburos totales respectivamente (Martínez et al., 2022). Así mismo se ha observado que en estudios con hidrocarburos se obtuvieron resultados similares con respecto a los adsorbentes comerciales (Martínez et al., 2014).

Según Brandao et al. (2009) en su estudio sobre la remoción de hidrocarburos en soluciones acuosas utilizando bagazo de caña, se obtuvieron buenos resultados con muestras a bajas concentraciones y una afinidad para la remoción de sustancias no polares como puede ser la gasolina y el n-heptano.

Además, el bagazo de caña también ha sido materia de estudio en la remoción de metales y tintes presentes en el agua producto del vertido de efluentes industriales (Kerrou et al., 2021).

## 2.3 ECONOMÍA CIRCULAR

### 2.3.1 Concepto

La economía circular es un modelo de producción y consumo que busca maximizar la manera en la que interactuamos con los recursos, maximizando su eficiencia y minimizando la producción de desechos al promover la reutilización, reciclaje y reintegración de estos en los ciclos productivos, dándoles un valor agregado; este enfoque transforma lo que una vez fueron residuos finales de un proceso en materias primas valiosas para su transformación en insumos útiles u otros productos cerrando el ciclo de forma sostenible y reduciendo su impacto ambiental (Goyal et al., 2021).

### 2.3.2 Importancia

El uso de un enfoque circular a los residuos de las industrias azucarera y del etanol busca su valorización tanto como materias primas (Figura 3), como en la investigación, proponiendo estrategias que permitan el aprovechamiento de los residuos en la investigación de posibles soluciones biotecnológicas para la problemática ambiental, minimizando los desperdicios y el impacto medioambiental, fomentando la sostenibilidad de los procesos y la innovación (Ungureanu et al., 2022).

El biotratamiento de efluentes con hongos basidiomicetos y la utilización del bagazo como biosorbente aplican los modelos de economía circular de extensión de vida útil y producción más limpia. A la vez, estos procesos verdes están de acuerdo con los objetivos de desarrollo sostenible propuestos por Naciones Unidas (2018): El objetivo 6 sobre el agua limpia y el saneamiento es abordado desde la perspectiva del tratamiento de la vinaza

como residuo recalcitrante para mejorar sus características como efluente el cual no puede ser vertido en cuerpos de agua sin un tratamiento previo como se ha explicado anteriormente. Por otro lado, se atiende al objetivo 9 ya que el uso de las capacidades metabólicas de los hongos son tecnologías sostenibles que propician la innovación tecnológica (Meyer et al., 2020). Así mismo, la micorremediación y el aprovechamiento del bagazo como residuo sólido agroindustrial aborda la gestión sostenible. Todo lo anterior tiene la aplicación más amplia sobre la mitigación del impacto ambiental que está establecida en el objetivo de desarrollo sostenible 13.

CAPÍTULO III.  
MATERIALES Y MÉTODOS

### 3.1 MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPAMIENTO

#### 3.1.1 Materiales

##### **Material fúngico**

La cepa fue proporcionada por el Herbario de la Universidad Autónoma de Chiriquí (HCH). Se identificó morfológicamente como *Trametes villosa* (Sw.) Kreisel Polyporales y fue colectada en la comunidad de San José, Corregimiento de Las Lomas, Provincia de Chiriquí, República de Panamá (8°25'10,9"N, 82°23'28,3"W, 71 msnm) (Caballero et al., 2018).

##### **Muestras de vinaza**

Las muestras de vinaza fueron proporcionadas por la Central Industrial Chiricana S.A. Las muestras fueron recolectadas al final del proceso de destilación, se enfriaron a temperatura ambiente, se midió el pH y fueron almacenadas en contenedores de plástico con tapa, a una temperatura de 4 grados Celsius; previo a su utilización la vinaza fue descongelada, homogenizada, se ajustó su pH a 6 se centrifugó a 2000 rpm para separar sólidos del sobrenadante.

##### **Equipos y cristalería**

Balanza analítica KERN ABJ 220-4M, plancha calentadora Biomega H4000, agitador orbital Thomas Scientific, espectrofotómetro UV-Visible Thermo Scientific BioMate6 UV-Vis, incubador-agitador Shel Lab SI4, incubador a baja temperatura Shel Lab LI5, microscopio electrónico de barrido Zeiss Evo 40 VP 8, espectrómetro Infrarrojo Shimadzu

IRAffinity-1, sistema de filtración al vacío, bomba de vacío Life Sciences DOA-P712AA, cámara de flujo laminar UV Telstar AV-100, cámara de extracción Labconco, agitador vortex WESTTLNE VX-4, refrigeradora Samsung RT22SCSW, potenciómetro Apera Instruments PC60, horno con corriente de aire forzada Acrooss International modelo StableTemp-25, horno Shel Lab 1300U, micropipeta 100-1000 $\mu$ L SCIOLOGEXMA0009504, micropipeta 10-100 $\mu$ L SCIOLOGEX YM4D051728, pipetas volumétricas, matraces de cultivo celular, pipetas graduadas, matraces volumétricos, destilador de agua GFL 2001/4, congelador Onsul 220, tamices ASTM Fieldmaster de 500, 250 micras, autoclave electrónico automático horizontal Tuttnauer Co. LTD 3870M, medidor multiparámetro Apera Instruments PC60, centrifuga Hettich MIKRO 220R, molinillo Goldenwall 300-70mesh HC-300, platos Petri de 9cm de diámetro Greiner bio-one, vasos químicos de 25, 250, 600 mL Pyrex.

### 3.1.2 Reactivos

Agar papa dextrosa (PDA), MgSO<sub>4</sub>, tiamina, NH<sub>4</sub>Cl (Sigma-Aldrich), NaOH, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, C<sub>8</sub>H<sub>5</sub>KO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, yodo (Applichem), KCl, FeSO<sub>4</sub>, ZnSO<sub>4</sub> (Scharlau), CuSO<sub>4</sub>, glucosa (Aldon Corporation), HCl (LOBA Chemie), indicador naranja de metilo (Taylor Water Technologies), K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> (Central Drug House), KI (J.T. Baker), Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, almidón soluble, indicador fenolftaleína (Merck).

## 3.2 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

### 3.2.1 Mantenimiento de la cepa

La cepa de *T. villosa* se conservó en medio PDA al 4%, y en medio PDA al 4% diluido en vinaza 25% en platos Petri de 9 cm de diámetro, a 15°C con transferencias periódicas cada 30 días. Durante este tiempo se revisó la integridad de los cultivos y se repuso el sellado de los platos según la necesidad (Figura 5).

**Figura 5** Mantenimiento de cepas. *A. Procedimiento de transferencia periódica.*  
*B. Material fúngico en medio con vinaza al 25%.*



### 3.2.2 Producción de inóculo

La producción de inóculo se realizó de acuerdo con Caballero et al. (2021) en medio de cultivo basal y vinaza al 25 % v/v, mediante resuspensión del material biológico en medio

basal con vinaza, a partir del contenido de platos Petri, a razón de un plato por cada 50 mL de medio de cultivo (Figura 6).

**Figura 6** *Producción del inóculo.*



### 3.2.3 Selección de condiciones para el biotratamiento de vinaza con *T. villosa*

Se procedió a validar a la metodología de selección de condiciones para el biotratamiento de la vinaza con *T. villosa* según Caballero et al. (2024). Para ello se repitió el procedimiento de selección aplicando el diseño de Plackett-Burman (Tabla 2). En este caso la variable de respuesta fue el porcentaje de decoloración con respecto a la vinaza cruda. Las condiciones seleccionadas fueron utilizadas para generar suficiente volumen de vinaza tratada para realizar los experimentos de biosorción.

**Tabla 2** *Diseño de Plackett-Burman para la selección de condiciones para el biotratamiento de vinaza con T. villosa.*

Reactor	A	B	C	D	E	F	G	H	J	K	L
	g/L	g/L	g/L	g/L	g/L	g/L	g/L		mL	%(v/v)	
17	1.5	1.5	0.01	0.01	0	3	0.001	30	30	25	7
18	1.5	0.5	0.01	0.01	2	1	0.003	30	10	50	7
19	0.5	1.5	0.03	0.03	0	1	0.001	30	10	50	7
20	1.5	0.5	0.03	0.03	0	3	0.003	30	10	25	5
21	1.5	0.5	0.03	0.03	2	1	0.001	10	30	25	7
22	1	1	0.02	0.02	1	2	0.002	20	20	37.5	6
23	0.5	0.5	0.01	0.01	0	1	0.001	10	10	25	5
24	1.5	1.5	0.01	0.03	2	3	0.001	10	10	50	5
25	0.5	0.5	0.03	0.01	2	3	0.001	30	30	50	5
26	1	1	0.02	0.02	1	2	0.002	20	20	37.5	6
27	1	1	0.02	0.02	1	2	0.002	20	20	37.5	6
28	0.5	1.5	0.03	0.01	2	3	0.003	10	10	25	7
29	0.5	1.5	0.01	0.03	2	1	0.003	30	30	25	5
30	1	1	0.02	0.02	1	2	0.002	20	20	37.5	6
31	0.5	0.5	0.01	0.03	0	3	0.003	10	30	50	7
32	1.5	1.5	0.03	0.01	0	1	0.003	10	30	50	5

Codificación = A: KCl, B: MgSO<sub>4</sub>, C: FeSO<sub>4</sub>, D: ZnSO<sub>4</sub>, E: CuSO<sub>4</sub>, F: KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, G: Tiamina, H: C:N, J: Inóculo, K: Vinaza, L: pH. Fuente: Caballero et al. (2024)

Este diseño permite identificar el efecto de los efectos principales de los factores o condiciones de fermentación, pero no toma en cuenta las posibles interacciones. Cada

variable fue evaluada en tres niveles de concentración (nivel bajo, medio y alto) como se muestra en la Tabla 3.

En matraces de 250 mL se agregaron 50 mL de medio de cultivo siguiendo las condiciones descritas en la Tabla 2 para los factores A, B, C, D, E, F, G, K y L; para el factor J se preparó 50 mL de medio de cultivo según las condiciones de su réplica correspondiente, a los cuales se agregó el contenido de un plato Petri cubierto con crecimiento de *Trametes villosa* y se dejó en agitación magnética por 15 minutos para homogenizar el contenido, el líquido resultante de estos preinóculos fue agregado a cada matraz según la Tabla 2. Una vez inoculados los reactores se mantuvieron en agitación constante a 120 rpm y 30°C por 10 días.

Finalizado este período el contenido de los reactores se filtró al vacío utilizando papel Whatman #3, se midió el color del filtrado y se almacenó en recipientes plásticos con tapa de rosca a -5°C.

**Tabla 3** Variables evaluadas con el diseño de Plackett-Burman.

<i>Variable</i>	<i>Código</i>	<i>Nivel bajo (-I)</i>	<i>Nivel medio (0)</i>	<i>Nivel alto (+I)</i>
KCl (g/L)	A	0.50	1.0	1.5
MgSO <sub>4</sub> •7H <sub>2</sub> O (g/L)	B	0.50	1.0	1.5
FeSO <sub>4</sub> (g/L)	C	0.01	0.02	0.03
ZnSO <sub>4</sub> (g/L)	D	0.01	0.02	0.03
CuSO <sub>4</sub> •5H <sub>2</sub> O (g/L)	E	0	1.00	2.00
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (g/L)	F	1.00	2.00	3.00
Tiamina (g/L)	G	0.001	0.002	0.003
Relación carbono/ nitrógeno	H	10	20	30
Volumen de inóculo (mL)	J	10	20	30
Vinaza (% v/v)	K	25	37.5	50
pH inicial	L	5	6	7

Reproducido con permiso de: Caballero et al. (2024).

### 3.2.4 Preparación y análisis del biosorbente

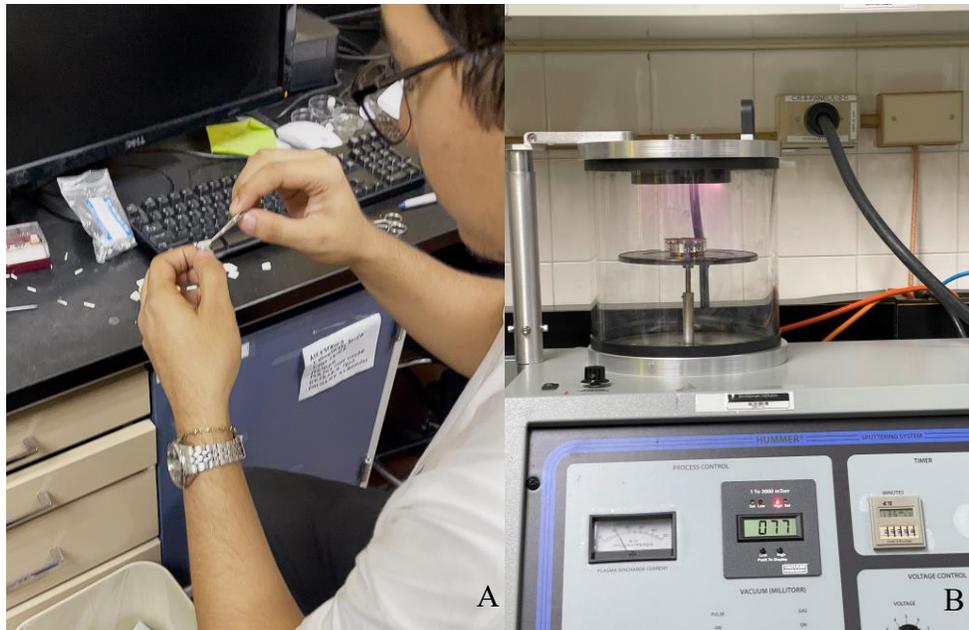
La muestra de bagazo de caña se secó al sol luego de haberse lavado con agua; posteriormente fue molida en molinillo de acero inoxidable. Finalmente, la muestra se tamizó a 500 micras y fue almacenado en bolsas “Ziploc” con gel de sílice como desecante. Los análisis que se detallan a continuación se realizaron sobre el bagazo antes y después del proceso de biosorción.

#### **Espectroscopía infrarroja y microscopía electrónica de barrido**

Los grupos funcionales presentes en el bagazo fueron analizados por espectroscopía FTIR-ATR, esta se realizó Centro de Biodiversidad y Descubrimiento de Drogas (CBDD), Laboratorio de Espectrometría de Masas, en un rango de longitud de onda de 600-4000  $\text{cm}^{-1}$  y resolución de 4  $\text{cm}^{-1}$ . Cada espectro se obtuvo de 45 escaneos en modo transmitancia.

El análisis de la morfología del bagazo se realizó por microscopía electrónica de barrido (SEM, siglas en inglés) (Figura 7); las muestras procesadas fueron recubiertas previamente con una fina capa metálica de una aleación de oro: paladio (40:60). La microscopía electrónica de barrido se realizó en el Centro Integral de Microscopía Avanzada del Instituto de Investigaciones Científicas y Servicios de Alta Tecnología de Panamá (INDICASAT AIP).

**Figura 7** Microscopía electrónica de barrido A. Preparación de las muestras. B. Pretratamiento con aleación oro: paladio.



### **Punto de carga cero**

Se determinó el punto de carga cero (PZC, siglas en inglés) basado en Al-Maliky et al. (2021). Este es un parámetro importante para determinar el pH al cual la suma de cargas positivas y negativas en el material es igual a cero. Con esta información es posible ajustar el pH de los materiales de acuerdo con la muestra que se someta a biosorción. Para ello se prepararon soluciones de KCl 0.1N y 0.01N, se ajustó el pH entre 2 y 9 ( $\pm 0,1$ ) en vasos de precipitado para ambas concentraciones; luego se transfirió este contenido a matraces Erlenmeyer de 250mL, se pesó y se agregó en cada matraz 0.15g de bagazo crudo y fueron colocados en agitación orbital a 150 rpm por 24 horas (Figura 8). Al cabo de este tiempo se decantó el sobrenadante en vasos de precipitado y se midió el pH final de cada uno de

los matraces (Figura 9). Para obtener el punto de carga cero se graficó  $\Delta\text{pH}$  (pH final- pH inicial) vs pH inicial. El punto de intersección de la curva con el eje X es el PZC.

**Figura 8** *Matraces en agitación para ensayos de PZC.*



**Figura 9** *Medición del pH final para el ensayo de PZC.*



## Índice de yodo

El índice de yodo (mg/g) es un parámetro que se utiliza para estimar la porosidad de un material adsorbente, específicamente para evaluar su microporosidad. Es en realidad un parámetro comparativo con respecto a otros índices y análisis que determinan el volumen

y el tamaño de los poros. También es útil como parámetro de comparación de distintos adsorbentes o de un mismo adsorbente que ha sido sometido a algún proceso posterior. En nuestro caso se determinó este índice según el método estándar para determinación de yodo en grasas y aceites (ASTM, 2021). Una solución de yodo 0.02N se puso en contacto con un peso definido de bagazo y luego se separó el bagazo por filtración; se procedió a titular el filtrado con una solución estándar de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ . Para comparar se incluyó el análisis de una muestra de carbón activado.

### **Acidez superficial**

Se midió la acidez superficial según (Rodríguez et al., 2014). En matraces Erlenmeyer de 250mL se agregaron 0.5g de las muestras de bagazo de caña crudo o residual y se agregó 50mL de una solución NaOH 0.01 o HCl 0.1N, estos matraces se mantuvieron en agitación orbital a 150 rpm por 24 horas. Al cabo de este tiempo, el contenido de los matraces fue filtrado al vacío utilizando papel Whatman # 3 y titulado utilizando soluciones NaOH 0.1N o HCl 0.01N previamente valoradas.

### 3.2.5 Protocolo de tratamiento combinado biotratamiento-biosorción

El biotratamiento de la vinaza con extractos enzimáticos crudos a partir del hongo *Trametes villosa*, se llevó a cabo en matraces de cultivo celular con 50mL de medio nutritivo complejo en presencia de vinaza al 25% siguiendo el mismo procedimiento utilizado para la producción de inóculo (Figura 10).

La composición del medio se formuló de acuerdo con la optimización descrita anteriormente. Las condiciones como temperatura, agitación, condiciones de iluminación y tiempo de fermentación fueron tomadas de (Caballero et al., 2021, 2024). La variable de respuesta será el porcentaje de decoloración de acuerdo con el método reportado por Vilar et al. (2018), aplicando la Ecuación 1.

$$\% \text{ Decoloración} = \frac{(\text{Absorbancia inicial} - \text{Absorbancia final})}{\text{Absorbancia inicial}} * 100\% \quad \text{Ecuación 1}$$

**Figura 10** *Producción de vinaza biotratada A. Reactores de vinaza B. Medición del % de decoloración de la vinaza biotratada.*



La vinaza pretratada se sometió a un proceso de biosorción con bagazo de caña (Figura 11). Las variables relevantes al proceso de biosorción tales como tiempo de contacto (minutos), pH inicial óptimo para biosorción, peso de biosorbente (g), fueron optimizadas por combinación de dos diseños experimentales: el tiempo de contacto se estableció

mediante análisis de un factor a la vez, y el resto de las condiciones se establecieron mediante una metodología de superficie de respuesta, aplicando un diseño central compuesto con 3 niveles (Tabla 4).

**Figura 11** *Proceso de biosorción con bagazo de caña.*



**Tabla 4** *Factores y niveles del diseño central compuesto.*

Variable	Unidad	Niveles		
		-1	0	1
pH		3	4	5
Bagazo	g	0.2	0.4	0.6
Vinaza	% (v/v)	50	75	100

La variable de respuesta fue el % de decoloración. Los reactores se prepararon de acuerdo con la matriz que se observa en la Tabla 5. Las condiciones optimizadas fueron aplicadas

en conjunto en un experimento final de biosorción para validar los resultados. Para estos experimentos se utilizó un volumen de vinaza de 50 mL en un matraz de cultivo celular con capacidad de 250 mL a una temperatura de 30°C y 150 rpm.

**Tabla 5** *Matriz de diseño central compuesto y resultados.*

Reactor	pH	Bagazo G	Vinaza %(v/v)	% de Decoloración Experimental	Predicción % de Decoloración
1	4	0.4	75	27.841	29.435
2	3	0.4	75	30.213	30.942
3	4	0.4	50	47.616	48.523
4	4	0.4	75	30.617	29.435
5	4	0.4	75	29.431	29.435
6	4	0.4	75	29.668	29.435
7	3	0.2	100	16.536	16.127
8	4	0.6	75	28.007	27.581
9	3	0.2	50	48.224	47.842
10	4	0.4	100	16.773	16.524
11	5	0.2	50	46.192	45.924
12	5	0.4	75	29.146	27.966
13	3	0.6	100	16.690	16.774
14	3	0.6	50	49.383	48.952
15	5	0.2	100	14.792	15.022
16	5	0.6	50	43.191	43.401
17	5	0.6	100	13.215	13.594
18	4	0.2	75	27.366	28.157

La lectura de absorbancia para las muestras de biosorción fue corregida con el uso de un blanco que consistió en la agitación a 150 rpm de matraces de 250 mL en los que se agregó 0.5 g de bagazo crudo y 50 mL de agua destilada, la corrección de la absorbancia se realizó usando la Ecuación 2.

$$\text{Absorbancia corregida} = \text{Absorbancia de la muestra} - \text{Absorbancia del blanco}$$

Ecuación 2

### 3.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los diseños experimentales, análisis estadístico y análisis gráfico se realizó con ayuda del software R Core Team. (2024). *R: A Language and Environment for Statistical Computing* (4.4.0). R Foundation for Statistical Computing. Stat-Ease, Inc. (n.d.). *Design Expert* (v10.0.1.0). Microsoft Corporation. (n.d.). *Microsoft® Excel® for Microsoft 365 MSO* (Version 2412 Build 16.0.18324.20092). Statistics Kingdom. (2017). *Multiple Linear Regression Calculator*. ((October 30, 2023) [web application]). [https://www.statskingdom.com/410multi\\_linear\\_regression.html](https://www.statskingdom.com/410multi_linear_regression.html).

## CAPÍTULO IV.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## 4.1 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1.1. Selección de condiciones para el biotratamiento de vinaza con *T. villosa*

La diferencia de color en el contenido de los diferentes reactores se observa en la Figura 12. Las combinaciones de factores que produjeron los mejores resultados en términos del porcentaje de decoloración corresponden al reactor #20 con un 92.94% de decoloración y al reactor #23 con un porcentaje de decoloración de 93.77% (Tabla 2). Las condiciones seleccionadas fueron KCl: 0.5 g/L, MgSO<sub>4</sub>: 0.5 g/L, FeSO<sub>4</sub>: 0.01 g/L, ZnSO<sub>4</sub>: 0.01 g/L, CuSO<sub>4</sub>: 0 g/L, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>: 1 g/L, tiamina: 0.001 g/L, C:N: 10, inóculo: 10 mL, vinaza: 25%, pH: 5; correspondientes al reactor #23, estas condiciones se utilizaron para producir suficiente volumen de vinaza tratada para realizar los experimentos de bioadsorción (Figura 13).

**Figura 12** Decoloración de la muestra de vinaza por *T. villosa* para diferentes combinaciones de factores de acuerdo con el diseño de Plackett-Burman.



**Figura 13** *Producción de vinaza biotratada.*



El diseño aplicado por Caballero et al. (2024), es exhaustivo ya que incluye tanto los componentes del caldo de cultivo, como pH, % v/v de vinaza y tamaño del inóculo, por lo cual permite evaluar las condiciones experimentales de la fermentación. Estos autores resaltan la importancia de aplicar diseños de selección o cribado en función de la muestra de vinaza.

Esto es así debido a que la composición de la vinaza es muy variable. Esta variabilidad está en función de la caña, de las condiciones de procesamiento, la destilación entre otros factores (Borrero et al., 2023; Santos et al., 2019).

Diversos estudios en el campo de bioprocesos y fermentaciones han aplicado el diseño de Plackett-Burman. Por ejemplo, Ong et al. (2011) aplicaron este diseño para identificar los factores más significativos y optimizar las condiciones para la remoción de azul de metileno, azul básico 3 y amarillo básico 11 utilizando quitosano como bioadsorbente; mientras que Salihu et al. (2013) aplicó este modelo para la selección de los componentes

relevantes en el medio de cultivo para la producción de lipasas por *Aspergillus niger* utilizando sustratos a base de manteca de Karité.

Una desventaja de este método es que solamente considera la contribución de los factores individuales, dejando de lado las posibles interacciones entre los factores (Ecuación 3). Sin embargo, como un primer ensayo para seleccionar los factores que más contribuyen con la respuesta, es un método muy útil que ayuda reducir la complejidad de los experimentos (Vanaja y Shobha Rani, 2007).

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ii} X_{ii} + \sum \beta_{ij} X_{ij} + \varepsilon \quad \text{Ecuación 3}$$

Ya que el objetivo de esta etapa consistió en obtener vinaza biotratada con el hongo en la que fuera evidente la decoloración producida, no se procedió a optimizar los niveles de las condiciones encontradas con el diseño de Plackett-Burman.

#### 4.1.2 Protocolo de tratamiento combinado biotratamiento-biosorción

##### **Determinación del tiempo de contacto**

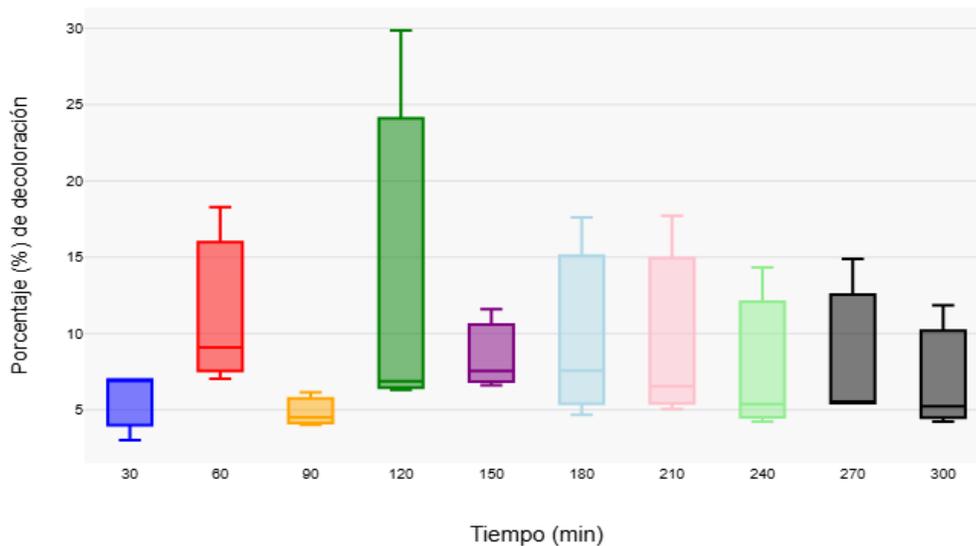
La Figura 14 muestra los resultados del experimento de un factor a la vez para la evaluación del % de decoloración versus tiempo. Los intervalos de confianza son amplios y se aprecia poca diferencia en el porcentaje de decoloración entre un tiempo de muestreo y otro,

aunque para algunos puntos podría notarse una diferencia. Para evaluar la normalidad de los datos, se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk, estableciéndose las siguientes hipótesis:

- **Hipótesis nula ( $H_0$ ):** Los datos siguen una distribución normal ( $p > 0.05$ ).
- **Hipótesis alternativa ( $H_a$ ):** Los datos no siguen una distribución normal ( $p < 0.05$ ).

Se comprobó que los datos no tienen una distribución normal y en consecuencia se aplicó estadística no paramétrica para el análisis de los datos. A través de la prueba Kruskal-Wallis se determinó que no hay diferencia significativa en el porcentaje (%) de decoloración en función del tiempo [ $\chi^2_{(9)} = 8.48$ ,  $p = 0.487$ ]. Si bien el valor de  $p$  global es mayor que 0.05, la prueba post-hoc de Bonferroni muestra una diferencia interna entre los rangos medios de los tiempos de 60 y 90 minutos ( $p < 0.05$ ).

**Figura 14** Variación del % de decoloración en función del tiempo.



Sánchez et al. (2016), reportaron un fenómeno similar en un experimento en el que se evaluó la capacidad de biosorción de iones  $Cd^{2+}$  y  $Pb^{2+}$  utilizando cáscara de cacao; se

reporta el tiempo de equilibrio para el  $\text{Cd}^{2+}$  y  $\text{Pb}^{2+}$  es de 10 y 60 minutos respectivamente. Por otro lado, Kumar et al. (2009), encontraron múltiples equilibrios al estudiar el tiempo de contacto para la adsorción del estriol E3, un contaminante emergente catalogado como disruptor endocrino, utilizando carbón activado. Por ello, los autores seleccionaron el límite superior como tiempo de contacto para los experimentos de adsorción.

En nuestro caso se seleccionó el punto a 150 minutos para realizar los ensayos de optimización.

### **Optimización de las condiciones de bioadsorción mediante diseño central compuesto.**

La Tabla 5 muestra los resultados experimentales y de predicción de acuerdo con el diseño central compuesto. Estos últimos se obtuvieron con base en el siguiente modelo en forma codificada (Ecuación 4)

$$\sqrt{\text{decoloración}} = +5.42 - 0.1372 A - 0.0273 B - 1.45 C - 0.0671 AB - 0.1464 B^2 + 0.0899 C^2 \quad \text{Ecuación 4}$$

Donde la variable de respuesta es el porcentaje de decoloración a partir de la vinaza biotratada, A es el pH, B son los gramos de bagazo de caña, C es la concentración (% v/v) de la vinaza. El paquete estadístico aplicó una transformación de variables tipo raíz cuadrada para mejorar la validez del modelo.

La Tabla 6 muestra el ANOVA para la decoloración de la vinaza de acuerdo con el diseño central compuesto. Se observa la significancia del modelo; el efecto del factor B no es significativo, pero se conserva dentro de la ecuación ya que su efecto de interacción (AB) y cuadrático B<sup>2</sup> si resultaron significativos. Los parámetros de ajuste muestran que el modelo es adecuado para explicar la variación del porcentaje de decoloración en función de las variables estudiadas.

**Tabla 6** Resultados del ANOVA para la biosorción con bagazo de caña.

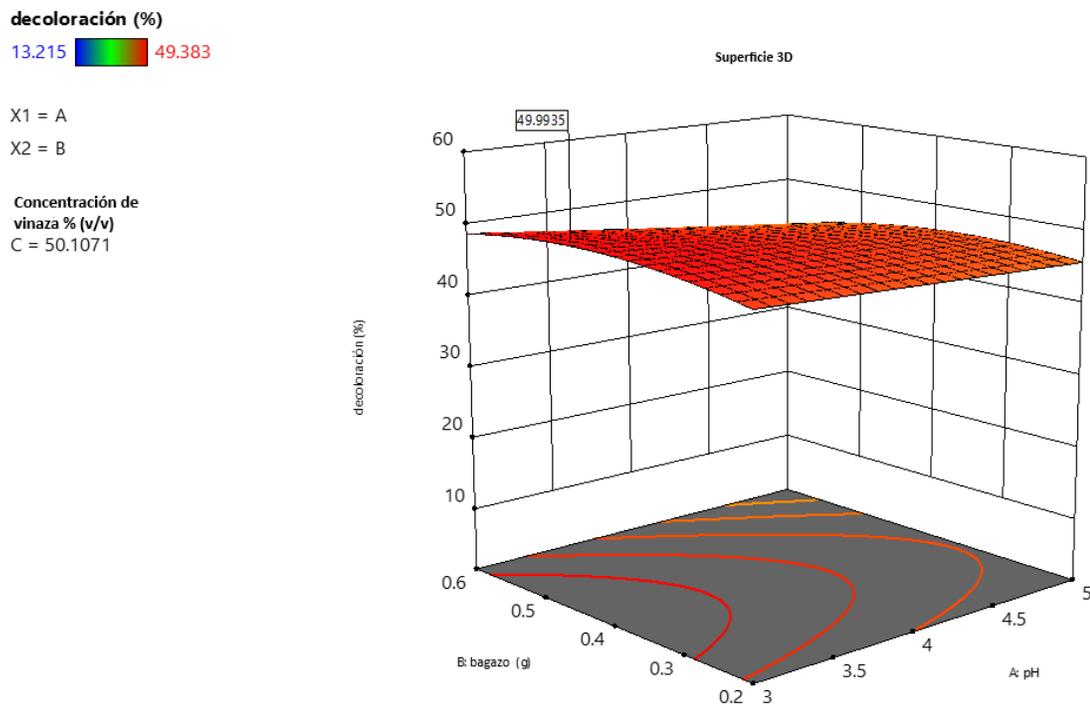
Fuente	Suma de Cuadrado	gl	Media al cuadrado	Valor F	Valor p	
<b>Modelo</b>	21.36	6	3.5600	545.00	< 0.0001	Significativo
A-pH	0.1881	1	0.1881	28.80	0.0002	
B-bagazo	0.0074	1	0.0074	1.14	0.3091	
C-vinaza	21.06	1	21.0600	3224.29	< 0.0001	
AB	0.0361	1	0.0361	5.52	0.0385	
BÂ <sup>2</sup>	0.0664	1	0.0664	10.17	0.0086	
CÂ <sup>2</sup>	0.0250	1	0.0250	3.83	0.0761	
<b>Residual</b>	0.0718	11	0.0065			
Falta de ajuste	0.0377	8	0.0047	0.4133	0.8587	No significativo
Error puro	0.0342	3	0.0114			
<b>Total corregido</b>	21.43	17				

R<sup>2</sup>: 0.9966, R<sup>2</sup> ajustado: 0.9948, R<sup>2</sup> de predicción: 0.9929, Precisión adecuada: 65.6957, C.V.:%:2.07%

Con la ecuación en forma codificada podemos analizar el impacto relativo de las variables independientes a través de la magnitud y el signo de sus coeficientes.

El coeficiente correspondiente al factor C, es mayor en magnitud lo que implica una mayor contribución sobre la variable de respuesta. El signo negativo indica que la respuesta se favorece a medida nos movemos hacia valores menores de este factor dentro del espacio experimental. Se observa también que la única interacción significativa se da entre el pH y los gramos de bagazo. Esto puede explicarse debido a que el pH es un factor que incide sobre las propiedades biosorbentes de un material, por su efecto sobre los grupos ionizables superficiales. La Figura 15 muestra el gráfico de superficie para la decoloración de la vinaza en función de los factores A y B, manteniendo el factor C en su nivel óptimo.

**Figura 15** Gráfico de superficie para la decoloración (%) en función de los gramos de bagazo y el pH.



Se observa que, al trabajar en la dilución óptima de vinaza, se obtiene toda una región de respuesta óptima a medida varían los factores A y B, disminuyendo un poco esta respuesta óptima hacia el límite superior de ambos factores. Aplicando una deseabilidad de 1.00, la solución numérica revela que se obtiene un 49.993 % de decoloración para la siguiente combinación de valores: dilución de vinaza, 50.107 % v/v; gramos de bagazo, 0.473 y pH, 3.125. Se repitió el experimento ajustando estos valores según las condiciones operativas como sigue: 3.12 pH, 0.473g de bagazo, 50.1%(v/v) vinaza y se obtuvo un 44.36% de decoloración.

Al comparar la vinaza cruda con la vinaza obtenida después del biotratamiento observamos un % de decoloración del 89.24%; este valor corresponde a la decoloración medida a la decoloración de la vinaza tratada resultante homogenizada después de la validación del método. Después del protocolo de biosorción con bagazo de caña se observó hasta un 93.1% de decoloración de la vinaza resultante con respecto a la vinaza cruda.

La norma DGNTI-COPANIT 35-2019 que regula la descarga de efluentes en cuerpos receptores de aguas marítimas y continentales, establece que el nivel máximo permisible de color es de 300 unidades de color, esto es con base en el método de comparación de color visual. No se establecen valores límites en función del método espectrofotométrico. Por su parte la norma DGNTI-COPANIT 39-2000 que regula la descarga de efluentes líquidos a sistemas de recolección de aguas residuales establece que “el efluente no debe introducir color visible al receptor”. Es importante señalar que la norma 35-2019 regula los parámetros a realizar por tipo de actividad económica y no incluye al parámetro color como mandatorio para la actividad de destilación, rectificación y mezcla de bebidas alcohólicas.

#### 4.1.3 Análisis del bagazo antes y después de la biosorción

##### *Espectroscopía Infrarroja*

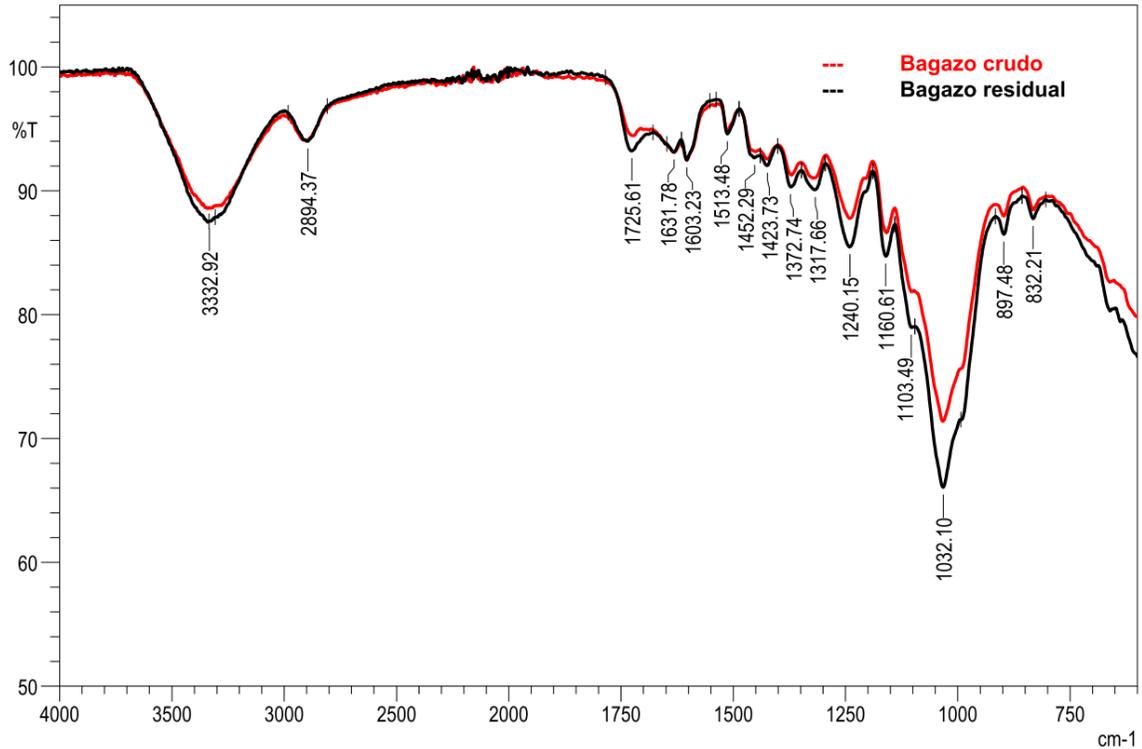
La Figura 16 muestra los espectros FTIR-ATR obtenidos de una muestra de bagazo crudo y una muestra del bagazo residual recuperado al finalizar el tratamiento combinado de la vinaza. Se aprecia la presencia de bandas significativas en las posiciones de  $897\text{ cm}^{-1}$ ,  $1032\text{ cm}^{-1}$ ,  $1103\text{ cm}^{-1}$ ,  $1240\text{ cm}^{-1}$ ,  $1603\text{ cm}^{-1}$ ,  $1725\text{ cm}^{-1}$ ,  $2894\text{ cm}^{-1}$  y  $3332\text{ cm}^{-1}$ .

Las bandas presentes a  $3332\text{ cm}^{-1}$  está relacionada a la vibración de grupos -OH presentes de la celulosa y hemicelulosa (Kanou et al., 2017; Zara et al., 2017). La banda observada a  $2894\text{ cm}^{-1}$  corresponde a las vibraciones de los grupos -CH<sub>2</sub>, característico de componentes alifáticos y aromáticos, además está relacionada con la presencia de lignina (Ahmad et al., 2018; Bilba y Ouensanga, 1996; Lorenzo et al., 2020).

Las bandas observadas a  $1725\text{ cm}^{-1}$  y  $1603\text{ cm}^{-1}$  están asociadas a estiramientos C=C y C=O. Esto sugiere la presencia de lignina y compuestos aromáticos como cetonas y carbonilos (Ahmad et al., 2018; Bilba y Ouensanga, 1996). El pico observado a  $1240\text{ cm}^{-1}$  se relaciona con enlaces C-O-C y C-O, presentes en esqueletos de celulosa y hemicelulosa (Bilba y Ouensanga, 1996; da Silva et al., 2012).

Las bandas encontradas a  $1103\text{ cm}^{-1}$  y  $1032\text{ cm}^{-1}$  corresponden a vibraciones de enlaces C-O, C-O-C, y C-OH típicas de polisacáridos y la lignina (Ahmad et al., 2018; Kanou et al., 2017; Zara et al., 2017); estas señales además están relacionadas con la presencia de celulosa y hemicelulosa (da Silva et al., 2012); La banda a  $879\text{ cm}^{-1}$  está asociada a la presencia de celulosa y hemicelulosa (Altamirano et al., 2017; Lorenzo et al., 2020).

**Figura 16** Espectros FTIR-ATR del bagazo crudo y el bagazo residual.

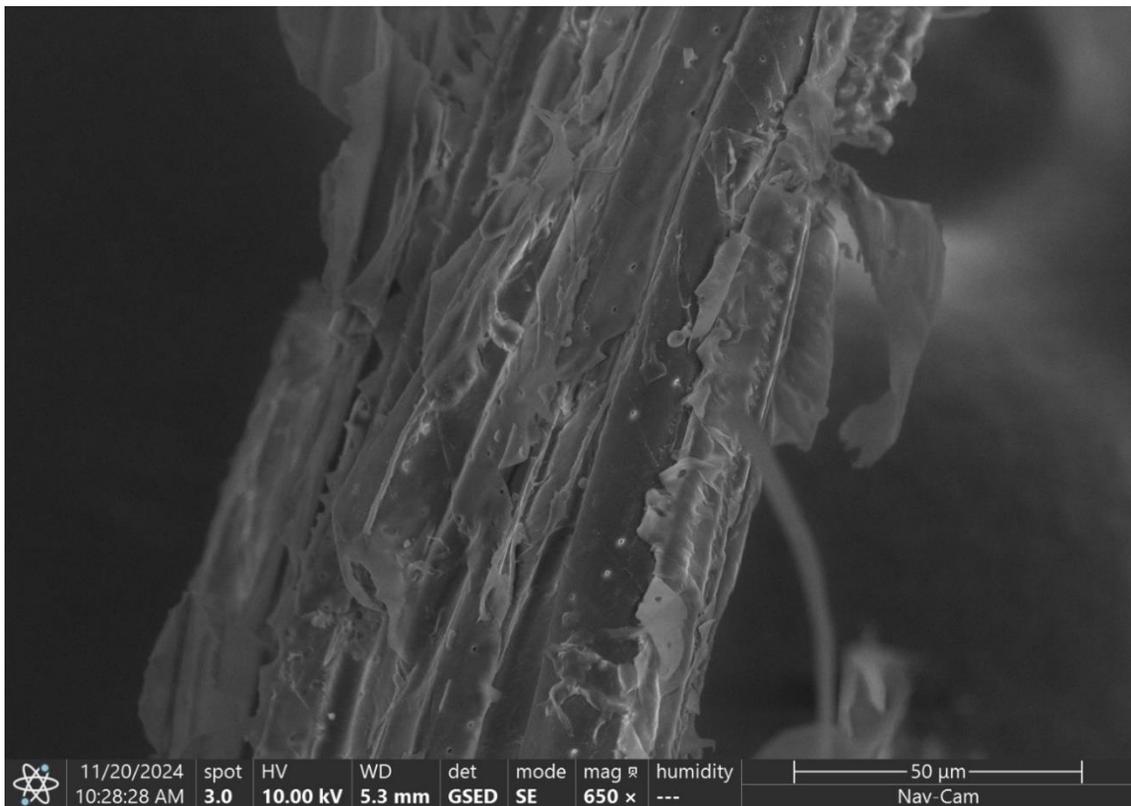


Al comparar ambos espectros, no se observan desplazamientos ni cambios significativos en la magnitud o presencia de las señales. Por lo anterior se puede atribuir que la decoloración de la vinaza ocurrió por fisiosorción, es decir involucró principalmente procesos físicos (Samuel et al., 2020). Según estos autores, los mecanismos de la fisiosorción incluyen las fuerzas de Van der Waals, interacción electrostática e intercambio iónico. Si el color en las vinazas se debe principalmente a las melanoidinas, es posible que hayan ocurrido interacciones electrostáticas toda vez que las melanoidinas en dispersión coloidal dentro del medio acuoso de la vinaza se comportan como polímeros aniónicos hidrofílicos (Rani y Pal, 2013).

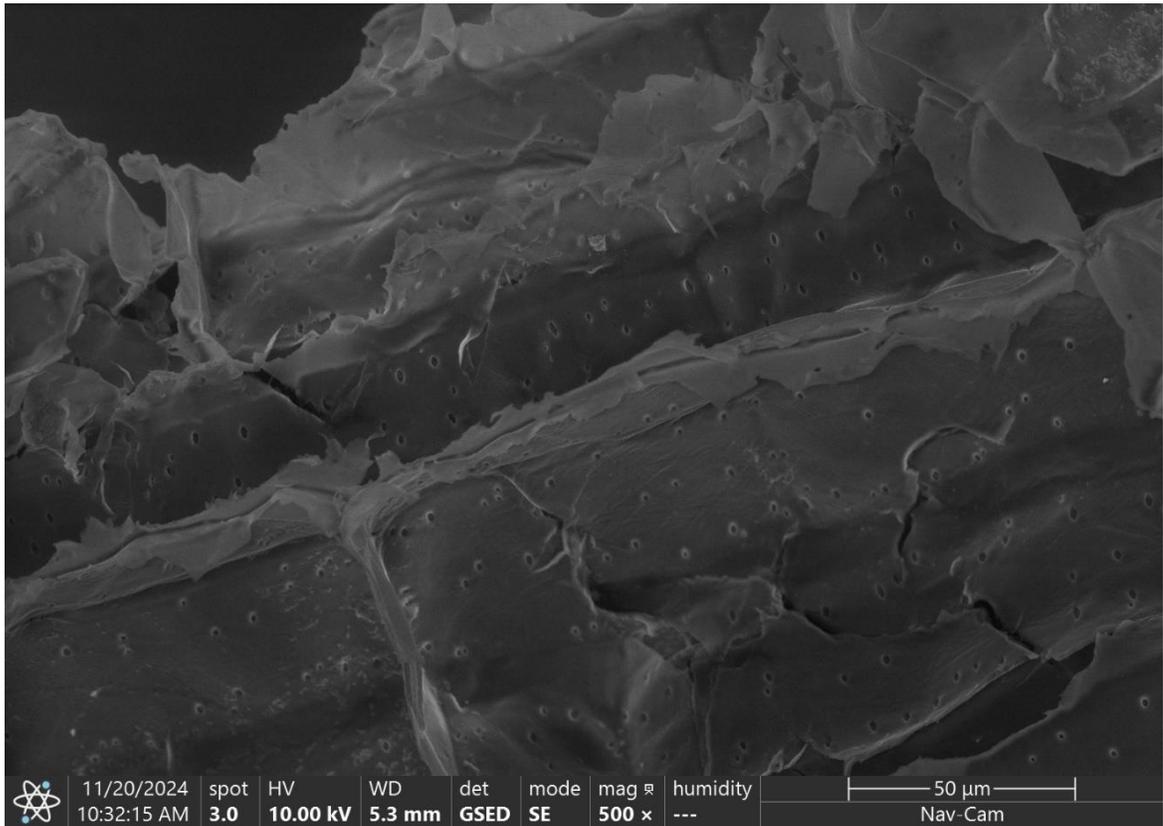
### ***Microscopía electrónica de barrido***

Las Figura 17 y 18 muestra la morfología del bagazo de caña antes (Figura 17) y después del proceso de biosorción (Figura 18) a una magnificación de 650x y 500x respectivamente. Se puede apreciar la estructura compacta, fibrosa e irregular del bagazo crudo, con presencia de poros. Producto del proceso de molienda los tejidos de sostén y tejidos conductores se observan separados.

**Figura 17** *Microscopía electrónica de barrido del bagazo de caña crudo a 650x.*



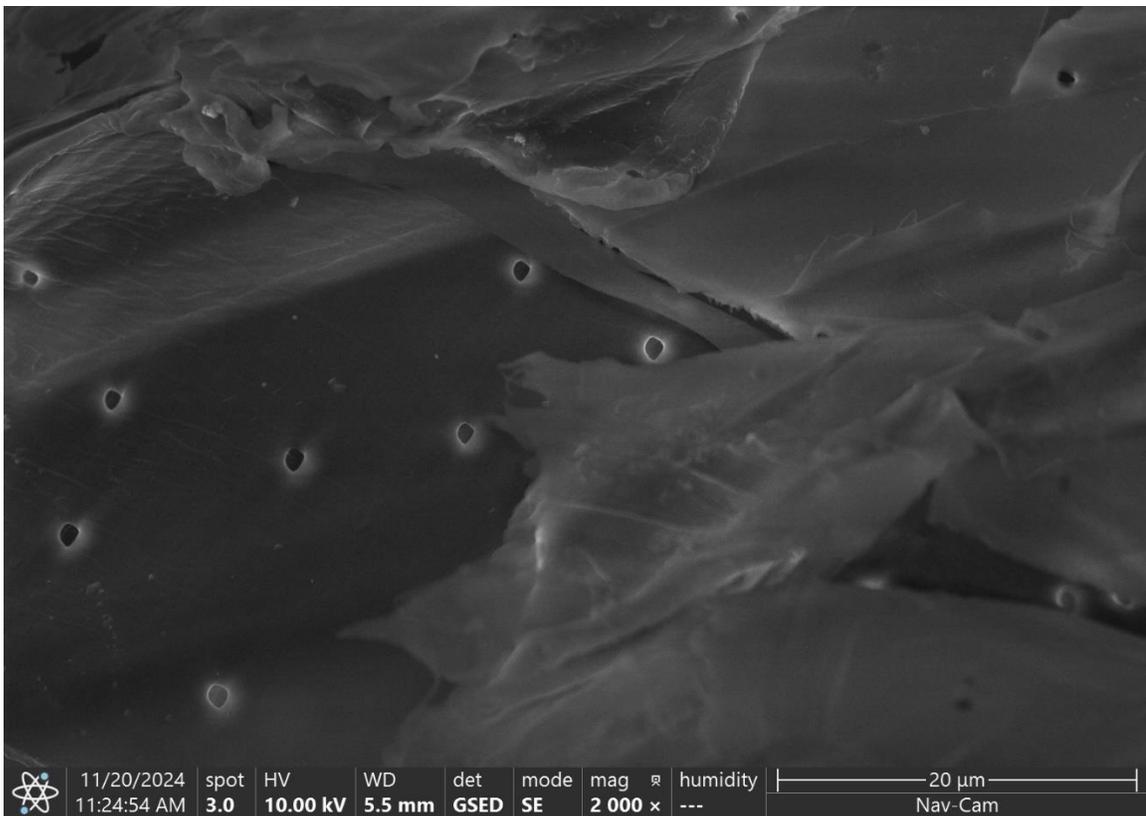
**Figura 18** *Microscopía electrónica de barrido del bagazo de caña residual a 500x.*



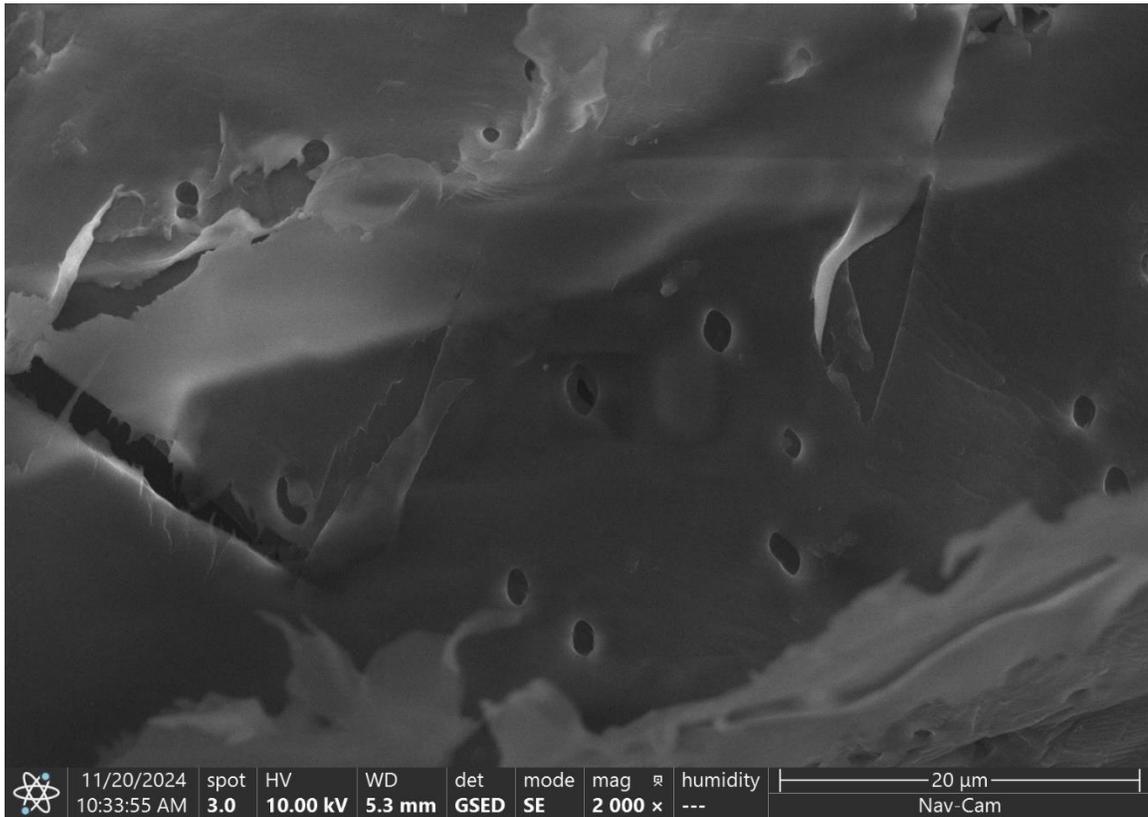
La estructura irregular es combinación de fibras y médula o meollo. Esta morfología favorece los procesos de biosorción en distintas regiones del material biosorbente. De acuerdo con Elgahary et. al. (2020) a través de los poros se da la biosorción intersticial que permite la penetración del adsorbato en diferentes estratos del material biosorbente. Esto depende del tamaño del poro y del tamaño relativo de las moléculas presentes en el adsorbato.

Las Figura 19 y 20 muestra la morfología del bagazo de caña antes (Figura 19) y después del proceso de biosorción (Figura 20) a una magnificación de 2000x. En las Figuras 18 y 20, se observan las imágenes del bagazo de caña después del contacto con la vinaza en las condiciones optimizadas, es decir pH 3.12, 0.473g de bagazo, y 50.1%(v/v) de vinaza.

**Figura 19** *Microscopía electrónica de barrido del bagazo de caña crudo a 2000x.*



**Figura 20** *Microscopía electrónica de barrido del bagazo residual a 2000x.*



No se observa en las imágenes una evidencia clara de saturación de la superficie del material con el adsorbato. En algunos casos se puede observar disminución de la porosidad por que el adsorbato cubre los poros y se nota una capa de adsorbato que cambia el aspecto de irregular o rugoso a una superficie más suave (Nure et al., 2017).

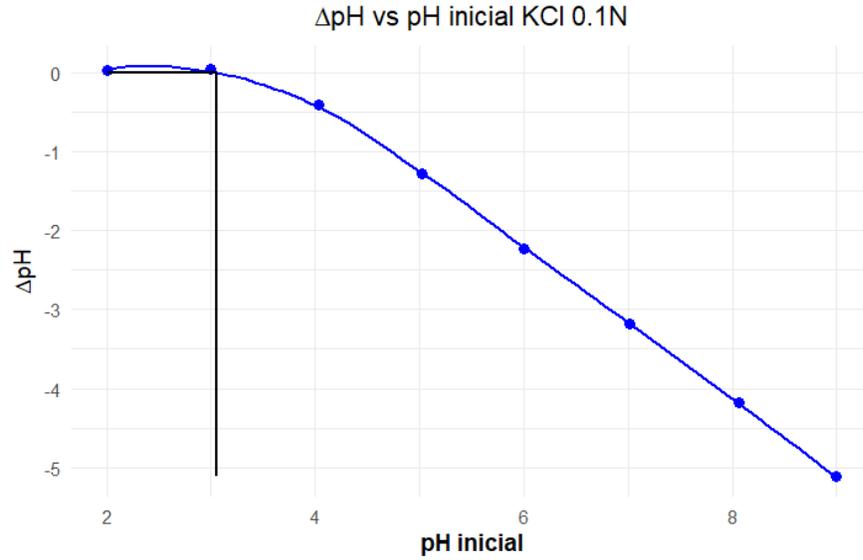
### ***Índice de yodo***

El índice de yodo calculado para el bagazo de caña fue de 0.9463 mg/g mientras que para el carbón activado fue 1.1518 mg/g. Según este resultado el bagazo de caña tiene una microporosidad ligeramente menor que la muestra de carbón activado. Sin embargo, esto es consistente con la naturaleza del bagazo, un material lignocelulósico que, en su forma nativa, tiende a tener una estructura menos porosa y sus poros se clasifican como macroporos (diámetro >50 nm). De acuerdo con varios autores (de Aquino et al., 2024; Samuel et al., 2020) la presencia de una alta microporosidad dificultaría la adsorción de moléculas más grandes, como las que se encuentran en diversos efluentes.

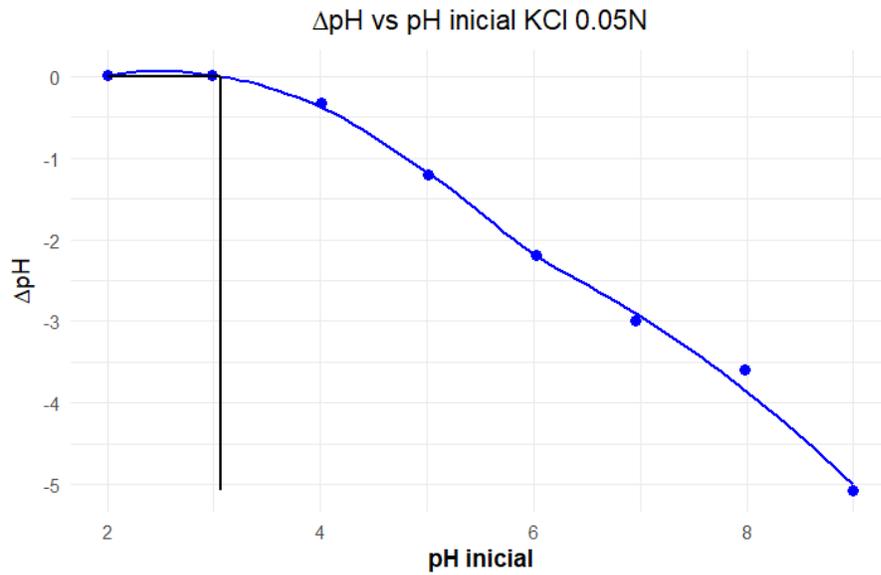
### ***Punto de carga cero***

El punto de carga cero del bagazo de caña para las concentraciones de KCl 0.1N y 0.05N fue calculado a 3.051 (Figura 21) y 3.065 (Figura 22). Esto nos indica que el bagazo de caña alcanza su punto de carga cero en un pH ácido. El punto de carga para el bagazo de caña ha sido previamente reportado por Kerrou et al. (2021) a pH 4.69 en una solución de NaCl 2M. Esto sugiere que el material es capaz de mantener un punto de carga cero más ácido en entornos de baja fuerza iónica lo que podría volverlo adecuado para el uso en soluciones diluidas.

**Figura 21** Gráfico de punto de carga cero para una concentración iónica de KCl 0.1N.



**Figura 22** Gráfico de punto de carga cero para una concentración iónica de KCl 0.05N.



Es importante mencionar que cuando se reportan valores de PZC es necesario especificar la fuerza iónica a la que se realizó el ensayo. También se debe tomar en cuenta que las

características fisicoquímicas de la caña de azúcar son el resultado de una combinación de factores como la composición genética, el clima, el manejo, las plagas y la edad de maduración de la planta (Aucatoma et al., 2015). Todo lo anterior es importante para interpretar los resultados.

Para la muestra de bagazo analizada de acuerdo con la metodología aplicada podemos decir que a valores de pH mayores que el PZC registrado, el material estará cargado negativamente y puede ser útil para la interacción electrostática con especies catiónicas, mientras que a valores por debajo del PZC, la superficie del material estará cargada positivamente por lo cual podrá establecer interacciones con especies aniónicas (Samuel et al., 2020).

### ***Titulación de grupos superficiales***

Se puede observar en la Tabla 7 que el bagazo de caña cuenta con un mayor contenido de sitios ácidos totales que de sitios básicos totales, lo que sugiere que este material tiene una mayor afinidad para la remoción de especies catiónicas, esto se debe al alto contenido de grupos ácidos en los materiales lignocelulósicos, la presencia de grupos carboxílicos, fenólicos y lactonas (Abu et al., 2016). Este resultado es congruente con la determinación del punto de carga cero.

Dopico et al. (2016) en su estudio sobre la caracterización del meollo del bagazo de caña como biosorbente reporta un contenido total de grupos ácidos de 1.7 mmol/g y un total de grupos básicos de 0.41 mmol/g, similar al encontrado en el presente estudio.

**Tabla 7** Grupos ácido-base del bagazo de caña crudo y residual.

Muestra	Grupos ácidos (mmol/g)	Grupos básicos (mmol/g)
Bagazo crudo	$1.14 \pm 0.01$	$0.01 \pm 0.001$
Bagazo residual	$1.15 \pm 0.04$	$0.07 \pm 0.002$

Resultados corresponden a la media de tres réplicas

## CAPÍTULO V.

### CONSIDERACIONES FINALES

## 5.1 CONCLUSIONES

Mediante la aplicación del protocolo de selección de condiciones para el biotratamiento con *T. villosa*, se validaron las variables relevantes para la decoloración de la muestra de vinaza utilizada en este estudio y se logró un % de decoloración respecto a la vinaza cruda de 93.77%.

Además, mediante la aplicación del diseño central compuesto y el experimento de un factor a la vez para el tiempo de contacto se establecieron las condiciones óptimas para decoloración de la vinaza pretratada mediante biosorción con bagazo de caña reduciendo el color de la muestra en un 44.36%.

De acuerdo con la metodología aplicada se puede concluir lo siguiente:

-El biotratamiento combinado con *T. villosa* y biosorción con bagazo de caña produjo decoloración en la vinaza.

-No se observaron cambios morfológicos ni estructurales en el bagazo de caña luego del proceso de biosorción. La ausencia de cambios estructurales sugiere que la interacción entre el bagazo y los componentes que le confieren color a la vinaza ocurrió mediante un proceso de fisiosorción.

## 5.2 RECOMENDACIONES

Se recomienda evaluar el diseño de muestreo para el experimento del tiempo de contacto, para disminuir posibles fuentes de error debido al diseño de los reactores.

Debido a que el bagazo molido presenta una baja densidad y ocupa mayor volumen en el reactor, se puede dificultar la transferencia de masa durante el proceso de adsorción; por ello se recomienda considerar aumentar los tiempos para los ensayos de punto de carga cero, índice de yodo, y acidez de grupos superficiales.

También sería interesante evaluar otras variables de respuesta como la remoción de la carga orgánica o el contenido fenólico utilizando el diseño propuesto en este trabajo.

Finalmente se recomienda estudiar el comportamiento del bagazo modificado en procesos de biosorción, aplicando metodologías de modificación no contaminantes de manera que se mantengan los objetivos de desarrollo tecnológico sostenible.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abu, A. H. B., Koay, Y. S., Ching, Y. C., Abdullah, L. C., Choong, T. S. Y., Alkhatib, M., Mobarekeh, M. N., & Mohd, N. A. (2016). Removal of Fluoride using Quaternized Palm Kernel Shell as Adsorbents: Equilibrium Isotherms and Kinetics Studies. *BioResources*, *11*(2). <https://doi.org/10.15376/biores.11.2.4485-4511>
- Aguila, R., Michelena, G., Lopez, O., Lam, L., & Ortega, L. (2024). Tratamiento de la vinaza de una fábrica de ron, con el bioproducto Lebame®. *Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar Cuba*, *58*(1), 83–89.
- Ahmad, S., Wong, Y. C., & Veloo, K. V. (2018). Sugarcane bagasse powder as biosorbent for reactive red 120 removals from aqueous solution. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *140*, 012027. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/140/1/012027>
- Akhtar, N., & Mannan, M. A. ul. (2020). Mycoremediation: Expunging environmental pollutants. En *Biotechnology Reports* (Vol. 26). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00452>
- Al-Maliky, E., Gzar, H., & Al-Azawy, M. (2021). Determination of Point of Zero Charge (PZC) of Concrete Particles Adsorbents. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, *1184*(1), 012004. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/1184/1/012004>
- Altamirano, K. R., Adden, K., Mora, L. D., Briones, J., & Rodríguez, K. (2017). Evaluación de la tensión elástica de papel elaborado a partir de residuos orgánicos. *Revista Ingeniería*, *28*(1), 29. <https://doi.org/10.15517/ri.v28i1.30587>
- Aragão, M. S., Menezes, D. B., Ramos, L. C., Oliveira, H. S., Bharagava, R. N., Romanholo, L. F., Teixeira, J. A., Ruzene, D. S., & Silva, D. P. (2020). Mycoremediation of vinasse by surface response methodology and preliminary studies in air-lift bioreactors. *Chemosphere*, *244*, 125432. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125432>
- ASTM. (2021). *Test Method for Determination of the Iodine Value of Fats and Oils*. ASTM International. <https://doi.org/10.1520/D5554-15R21>
- Aucatoma, B., Castillo, R., Mendoza, J., & Garcés, F. (2015). Factores que afectan la calidad de la caña de azúcar. En *Carta informativa CINCAE*. Centro de Investigación de la Caña de Azúcar del Ecuador.
- Bilba, K., & Ouensanga, A. (1996). Fourier transform infrared spectroscopic study of thermal degradation of sugar cane bagasse. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, *38*(1–2), 61–73. [https://doi.org/10.1016/S0165-2370\(96\)00952-7](https://doi.org/10.1016/S0165-2370(96)00952-7)

- Borrero, J., Oliva, D., & Arzola, J. (2023). Diseño de planta para la codigestión anaerobia de residuales vinaza-cachaza de la industria azucarera. *Minería y Geología*, *39*, 252–266.
- Brandao, P., Souza, T., Ferreira, C., Hori, C., & Romanielo, L. (2009). Removal of petroleum hydrocarbons from aqueous solution using sugarcane bagasse as adsorbent. *Journal of Hazardous materials*, *175*, 1106–1112. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.10.060>
- Caballero, R., Jimenez, V., Miranda, M., Rovira, D., Branda, G., & Chue, J. (2024). An Optimal Culture Medium for Laccase Production and Sugar Cane Vinasse Biotreatment with *Trametes villosa* Using Plackett-Burman and Central Composite Designs. *Applied Environmental Research*. <https://doi.org/10.35762/AER.2024001>
- Caballero, R., Jiménez, V., Miranda, M., Rovira, D., González, P., & Ramos, J. (2021). Optimization of conditions for the production of laccase by *Trametes villosa* (Sw.) Kreisel and its application in the bio-treatment of sugar cane vinasse. *Anales de Biología*, *43*, 27–37. <https://doi.org/10.6018/analesbio.43.03>
- Caballero, R., Miranda, M., Jiménez, V., González, P., & Hofmann, T. (2018). Evaluation of the mycelial growth of *Trametes villosa* (Sw.) Kreisel in media supplemented with copper (II) and sugarcane vinasse. *Anales de Biología*, *40*, 153–160. <https://doi.org/10.6018/analesbio.40.17>
- Cabrera, A., Reyes, J., Díaz, M., Guerra, L., & Pereda, I. (2021). Sistema combinado de reactores anaerobios empacados para el tratamiento de vinaza cruda cubana. *Ingeniería Hidráulica y Ambiental*, *42*, 95–106.
- Calidad del agua. Descarga de efluentes líquidos a cuerpos y masas de aguas continentales y marina. , Gaceta Oficial (2019).
- Caputo, M. (2020). *Estudio de la composición orgánica de la vinaza y metodologías para eliminar sus efectos contaminantes* [Universidad Nacional de La Plata]. <https://doi.org/10.35537/10915/111902>
- Carrasco Marín, F., & Menéndez Díaz, J. Á. (2010). *Nuevos materiales y tecnologías para el tratamiento del agua*.
- Cerón, V. Z., Andrés, M., & Ayerbe, G. (2013). *CARACTERIZACIÓN AMBIENTAL DE LAS VINAZAS DE RESIDUOS DE CAÑA DE AZÚCAR RESULTANTES DE LA PRODUCCIÓN DE ETANOL ENVIRONMENTAL CHARACTERIZATION OF STILLAGE FROM SUGAR CANE WASTE FROM THE PRODUCTION OF ETHANOL*. *80*, 124–131.
- Chafon, J., & Lorenzo, Y. (2014). ALTERNATIVAS DE TRATAMIENTO DE LAS VINAZAS DE DESTILERÍA. EXPERIENCIAS NACIONALES E INTERNACIONALES. *Revista Centro Azúcar*, *41*.

- Chaudhary, V., Tomar, A., Sindhu, A., Choudhary, D., & Kumar, M. (2021). Valorisation and Significance of Sugarcane Bagasse : A review. *Int. J. Agricult. Stat. Sci.*, 1(1), 1071–1078.
- Cierre Agrícola 2023-2024. (2024). <https://mida.gob.pa/wp-content/uploads/2024/09/CierreAgricola2023-2024.pdf?csrt=8729951456586118799>
- CONADESUCA. (2016). Vinazas: Alternativas de uso. En *Nota informativa sobre innovaciones en materia de productividad del sector*. Comité Nacional para el Desarrollo Sustentable de la Caña de Azúcar.
- da Silva, R., Colombari, F., Gomes, E., Moretti, M., Thoméo, J., Boscolo, M., & Perrone, O. (2012). *Structural analysis by ATR-FTIR of pretreated sugarcane bagasse using ozone and ultrasound in order to facilitate enzymatic hydrolysis for cellulosic ethanol production*. Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”. <https://www.biorrefinerias.cl/wp-content/uploads/2017/12/Roberto-Dasilva-Structural-analysis-by-ATR-FTIR-of-pretreated-sugarcane-bagasse-using-ozone-and-ultrasound-in-order-to-facilitate-enzymatic-hydrolysis-for-cellulosic-ethanol-production.pdf>
- de Aquino, F., dos Santos, A. C., Sarrouh, B., & Zanetti, R. C. (2024). Application of sugarcane bagasse and peanut shell in natura as bioadsorbents for vinasse treatment. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 26(2), 401–416. <https://doi.org/10.1007/s10098-023-02636-7>
- Descarga de Efluentes líquidos directamente a Sistemas de Recolección de Aguas Residuales., Gaceta Oficial (2008).
- Deshmukh, R., Khardenavis, A. A., & Purohit, H. J. (2016). Diverse Metabolic Capacities of Fungi for Bioremediation. En *Indian Journal of Microbiology* (Vol. 56, Número 3, pp. 247–264). Springer India. <https://doi.org/10.1007/s12088-016-0584-6>
- Dopico, D., Cías, C., & León, V. (2016). *El meollo del bagazo de la caña de azúcar: caracterización y evaluación como biosorbente de azul de metileno en solución* [Universidad de La Habana]. [https://fototeca.uh.cu/files/original/2129847/Daisy\\_Dopico\\_Ramirez\\_\[2017\].pdf](https://fototeca.uh.cu/files/original/2129847/Daisy_Dopico_Ramirez_[2017].pdf)
- Elgarahy, A., Elwakeel, K., Mohammad, S., & Elshoubaky, G. (2021). A critical review of biosorption of dyes, heavy metals, and metalloids from wastewater as an efficient and green process. En *Cleaner Engineering and Technology* (Vol. 4). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.clet.2021.100209>
- Espinosa, R., & Ovando, C. (2014). *Producción de etanol*. Programa de Investigación Industrial de CENGICAÑA.
- Fernandes, C. D., Nascimento, V. R. S., Meneses, D. B., Vilar, D. S., Torres, N. H., Leite, M. S., Vega Baudrit, J. R., Bilal, M., Iqbal, H. M. N., Bharagava, R. N., Egues, S. M., & Romanholo Ferreira, L. F. (2020). Fungal biosynthesis of lignin-modifying

- enzymes from pulp wash and *Luffa cylindrica* for azo dye RB5 biodecolorization using modeling by response surface methodology and artificial neural network. *Journal of Hazardous Materials*, 399, 123094. <https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2020.123094>
- Fernandez, M., Solange, P., Boarini, M., Mandille, J., Barberon, I., Perotti, R., Pereira, P., Agostini, E., & Paisio, C. (2022). Characterization of effluents from a tannery industry: a case study of Córdoba province, Argentina. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 38, 465–482. <https://doi.org/10.20937/RICA.54212>
- Fuess, L. T., & Garcia, M. L. (2014). Implications of stillage land disposal: A critical review on the impacts of fertigation. *Journal of Environmental Management*, 145, 210–229. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.07.003>
- González, S., González, G., González, G., & Árias, T. (2020). Aprovechamiento de la potencialidad de la vinaza para la producción de biogás como energía renovable. *Tecnología Química*, 40, 269–287.
- Goyal, S., Chauhan, S., & Mishra, P. (2021). Circular economy research: A bibliometric analysis (2000–2019) and future research insights. *Journal of Cleaner Production*, 287, 125011. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.125011>
- Gulzar, T., Huma, T., Jalal, F., Iqbal, S., Abrar, S., Kiran, S., Nosheen, S., Hussain, W., & Rafique, M. (2017). Bioremediation of Synthetic and Industrial Effluents by *Aspergillus niger* Isolated from Contaminated Soil Following a Sequential Strategy. *Molecules*, 22(12), 2244. <https://doi.org/10.3390/molecules22122244>
- Ibarra, R., León, L., & Osoria, A. (2019). Caracterización físico-química de vinazas de destilerías. *Revista Cubana de Química*, 31, 246–257. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2224-54212019000200246&nrm=iso](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-54212019000200246&nrm=iso)
- Iphorski, M., & Bozzano, P. (2013). Microscopia electrónica de barrido en la caracterización de materiales. *Ciencia e Investigación*, 43–53.
- Iturbe, R. (2010). Qué es la biorremediación? En *Ciencia de boleto* (Vol. 11). Universidad nacional Autónoma de México.
- Kanou, M., Kameoka, T., Suehara, K., & Hashimoto, A. (2017). Mid-infrared spectroscopic analysis of saccharides in aqueous solutions with sodium chloride. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 81(4), 735–742. <https://doi.org/10.1080/09168451.2016.1277943>
- Kerrou, M., Bouslamti, N., Raada, A., Elanssari, A., Mrani, D., & Slimani, M. S. (2021). The Use of Sugarcane Bagasse to Remove the Organic Dyes from Wastewater. *International Journal of Analytical Chemistry*, 2021, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2021/5570806>

- Kumar, A. K., Mohan, S. V., & Sarma, P. N. (2009). Sorptive removal of endocrine-disruptive compound (estriol, E3) from aqueous phase by batch and column studies: Kinetic and mechanistic evaluation. *Journal of Hazardous Materials*, 164(2–3), 820–828. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.08.075>
- León, L. (2023, octubre 13). *Vinazas en la agricultura: Estrategias de mitigación y manejo óptimo*. Ciencia al cuidado de tu tierra. <https://es.linkedin.com/pulse/vinazas-en-la-agricultura-estrategias-kmw0c>
- Lezcano, P., & Mora, L. M. (2005). *VIII Encuentro de Nutrición y Producción de Animales Monogástricos LAS VINAZAS DE DESTILERÍA DE ALCOHOL. CONTAMINACIÓN AMBIENTAL O TRATAMIENTO PARA EVITARLO*.
- Lorenzo, M. A., Rendon, R., & Guerra, R. (2020). *Bagazo de caña: una alternativa sustentable para la obtención de biopolímeros* (p. 151).
- Márquez, A., Mendoza, G., González Sergio, Buntinx, S., & Octavio, L. (2007). Actividad fibrolítica de enzimas producidas por *Trametes* sp. EUM1, *Pleurotus ostreatus* IE8 y *Aspergillus niger* AD96.4 en fermentación. *Interciencia*, 32, 780–785. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0378-18442007001100012&nrm=iso](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442007001100012&nrm=iso)
- Martínez, P., Rico, I., Domínguez, E., & Rodríguez, L. (2022). Removal of Hydrocarbons from Wastewater Using Sugarcane Bagasse. *Water, Air, & Soil Pollution*, 233(5), 149. <https://doi.org/10.1007/s11270-022-05584-y>
- Martínez, P., Rodríguez, I., Esperanza, G., & Leiva, J. (2014). Caracterización y evaluación del bagazo de caña de azúcar como biosorbente de hidrocarburos. *Afinidad*, 71, 57–62. <https://raco.cat/index.php/afinidad/article/view/276504/364436>
- Melgar, M., Villatoro, B., Pérez, O., Orozco, H., Quemé, J., Ovalle, W., Rosales, F., Molina, L., García, J., Díaz, F., Sandoval, G., Espinoza, G., Castro, O., Márquez, J., Meneses, A., Alfaro, J., Velásquez, E., Monterroso, L., Espinosa, R., ... Hernández, A. (2014). *El Cultivo de Caña de Azúcar en Guatemala* (M. Melgar, A. Meneses, H. Orozco, O. Pérez, & R. Espinosa, Eds.). Librerías Artemis Edinter, S.A.
- Menéndez, C., & Dueñas, J. (2018). Los procesos biológicos de tratamiento de aguas residuales desde una visión no convencional. *Ingeniería Hidráulica y Ambiental*, 39(3), 97–107.
- Meyer, V., Basenko, E. Y., Benz, J. P., Braus, G. H., Caddick, M. X., Csukai, M., de Vries, R. P., Endy, D., Frisvad, J. C., Gunde, N., Haarmann, T., Hadar, Y., Hansen, K., Johnson, R. I., Keller, N. P., Kraševc, N., Mortensen, U. H., Perez, R., Ram, A. F. J., ... Wösten, H. A. B. (2020). Growing a circular economy with fungal biotechnology: a white paper. *Fungal Biology and Biotechnology*, 7(1), 5. <https://doi.org/10.1186/s40694-020-00095-z>

- Mikucka, W., & Zielińska, M. (2020). Distillery Stillage: Characteristics, Treatment, and Valorization. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 192(3), 770–793. <https://doi.org/10.1007/s12010-020-03343-5>
- Molavian, M., Ghorbani, G., Rafiee, H., & Beauchemin, K. (2020). Substitution of wheat straw with sugarcane bagasse in low-forage diets fed to mid-lactation dairy cows: Milk production, digestibility, and chewing behavior. *Journal of Dairy Science*, 103(9), 8034–8047. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18499>
- Moncayo, S., Carangui, A., & Sivisapa, K. (2024). *Eficiencia de Aspergiullus niger en la adsorción de metales pesados*. Universidad Politécnica Salesiana.
- Montiel, A., Montalvo, N., García, L. E., Sandoval, L. C., Bautista, H., & Fernández, G. (2022). Post-Industrial Use of Sugarcane Ethanol Vinasse: A Systematic Review. *Sustainability*, 14(18), 11635. <https://doi.org/10.3390/su141811635>
- Naciones Unidas. (2018). *La agenda 2030 y los Objetivos de Desarrollo Sostenible: una oportunidad para América Latina y el Caribe (LC/G.2681-P/Rev.3)*.
- Nure, J. F., Shibeshi, N. T., Asfaw, S. L., Audenaert, W., & Van Hulle, S. W. H. (2017). COD and colour removal from molasses spent wash using activated carbon produced from bagasse fly ash of Matahara sugar factory, Oromiya region, Ethiopia. *Water SA*, 43(3), 470. <https://doi.org/10.4314/wsa.v43i3.12>
- Ong, S.-T., Khoo, E.-C., Keng, P.-S., Hii, S.-L., Lee, S.-L., Hung, Y.-T., & Ha, S.-T. (2011). Plackett–Burman design and response surface methodological approach to optimize basic dyes removal using sugarcane bagasse. *Desalination and Water Treatment*, 25(1–3), 310–318. <https://doi.org/10.5004/dwt.2011.1974>
- Pascual, I. (2019). *ESTUDIO DE LA EXTRACCIÓN DE FENOLES Y CLOROFENOLES EMPLEANDO LÍQUIDOS IÓNICOS MEDIANTE EL MÉTODO COSMO-RS*. Escuela Técnica Superior De Ingenieros Industriales Universidad Politécnica De Madrid.
- Rani, A., & Pal, N. (2013). Biodegradation of Melanoidin from Distillery Effluent: Role of Microbes and Their Potential Enzymes. En *Biodegradation of Hazardous and Special Products*. InTech. <https://doi.org/10.5772/56252>
- Rincones, F., Marfisi, S., Danglad, J., & Salazar, V. (2015). *CIENCIAS BÁSICAS Y TECNOLOGÍA ADSORPTION OF PETROLEUM HYDROCARBONS IN WATER BY A COLUMN PACKED WITH SUGARCANE BAGASSE*. 27, 441–453.
- Rodríguez, A., Zárate, S., & Bastida, A. (2022). Biodiversidad bacteriana presente en suelos contaminados con hidrocarburos para realizar biorremediación. *Tropical Journal of Environmental Sciences*, 56(1), 178–208. [https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2215-38962022000100178](https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2215-38962022000100178)

- Rodriguez, P., Giraldo, L., & Moreno, J. C. (2014, marzo). Modificación de la química superficial de carbones activados. Efecto de la oxidación con soluciones de HNO<sub>3</sub> y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sobre la remoción de Cadmio (II) en soluciones acuosas. *Afinidad*, 49–56.
- Rytioja, J., Hildén, K., Yuzon, J., Hatakka, A., de Vries, R. P., & Mäkelä, M. R. (2014). Plant-Polysaccharide-Degrading Enzymes from Basidiomycetes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 78(4), 614–649. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00035-14>
- Salihu, A., Bala, M., & Bala, S. M. (2013). Application of Plackett-Burman Experimental Design for Lipase Production by *Aspergillus niger* Using Shea Butter Cake. *ISRN Biotechnology*, 2013, 1–5. <https://doi.org/10.5402/2013/718352>
- Samuel, K., Soosai, M., Ganesh, I., & Sankar, K. (2020). *Bioprocess Engineering for Bioremediation: Valorization and Management Techniques* (Vol. 104). [https://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/111902/Documento\\_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/111902/Documento_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Sánchez, N., Uguña, M., & Vera, L. (2016). *Biosorción en tanque agitado de Cd<sup>2+</sup> y Pb<sup>2+</sup> con cáscara de cacao*. Univerdiad de Cuenca.
- Santos, P. S., Zaiat, M., Oller do Nascimento, C. A., & Fuess, L. T. (2019). Does sugarcane vinasse composition variability affect the bioenergy yield in anaerobic systems? A dual kinetic-energetic assessment. *Journal of Cleaner Production*, 240, 118005. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.118005>
- Singh, V., Haque, S., Niwas, R., Srivastava, A., Pasupuleti, M., & Tripathi, C. K. M. (2017). Strategies for Fermentation Medium Optimization: An In-Depth Review. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02087>
- Ungureanu, N., Vlăduț, V., & Biriș, S.-Ștefan. (2022). Sustainable Valorization of Waste and By-Products from Sugarcane Processing. *Sustainability*, 14(17), 11089. <https://doi.org/10.3390/su141711089>
- Vanaja, K., & Shobha Rani, R. H. (2007). Design of Experiments: Concept and Applications of Plackett Burman Design. *Clinical Research and Regulatory Affairs*, 24(1), 1–23. <https://doi.org/10.1080/10601330701220520>
- Vilar, D. S., Carvalho, G. O., Pupo, M. M. S., Aguiar, M. M., Torres, N. H., Américo, J. H. P., Cavalcanti, E. B., Eguiluz, K. I. B., Salazar, G. R., Leite, M. S., & Ferreira, L. F. R. (2018). Vinasse degradation using *Pleurotus sajor-caju* in a combined biological – Electrochemical oxidation treatment. *Separation and Purification Technology*, 192, 287–296. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2017.10.017>
- Yasmeen, Q., Asgher, M., Sheikh, M. A., & Nawaz, H. (2013). Optimization of Ligninolytic Enzymes Production through Response Surface Methodology. *BioResources*, 8(1). <https://doi.org/10.15376/biores.8.1.944-968>

Zara, J., Yegres, F., Vargas, N., Cubillan, L., Navas, P., & Márquez, M. (2017). Empleo de la Espectroscopia Infrarroja (FT-IR-ATR) como herramienta para la Caracterización del bagazo de caña proveniente de la Sierra Falconiana. *Química Viva*, 16, 17–24. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86354619003>



Universidad Autónoma de Chiriquí  
Vicerrectoría Académica  
Sistema de Bibliotecas e Información  
Certificado de originalidad



Fecha: 5/2/25

Facultad: Ciencias Naturales y Exactas.

Escuela: Química.

Se certifica que, tras llevar a cabo el proceso de análisis de originalidad y detección de similitudes en el trabajo de investigación titulado "DECOLORACIÓN DE VINAZAS DE DESTILERÍA MEDIANTE TRATAMIENTO COMBINADO CON Trametes villosa Y BIOSORCIÓN CON BAGAZO DE CAÑA", presentado por el/la estudiante MIGUEL A. CARDOZO S. con número de cédula N.º 9-761-317, con la asesoría del profesor Dra. ROSA ELENA CABALLERO el trabajo cumple con el 100% de originalidad, de acuerdo con el informe emitido por el profesor asesor.

Es importante señalar que el proceso de análisis de plagio se ha realizado utilizando la herramienta Turnitin y siguiendo procedimientos estandarizados para asegurar la precisión de los resultados.

Nota: El uso de la herramienta Turnitin fue aprobada por el Consejo Académico #5 - Sesión extraordinaria - 22 de mayo de 2023 y modificada el 6 de octubre de 2023

Eibar Amaya  
Responsable de  
departamento



Ada Chávez  
Directora del  
SIBIUNACHI