

Caracterización de vinazas de la industria tequilera para su uso como medios nutritivos económicos en fermentaciones con bacterias lácticas

L.M. Martínez-Castillo*¹, M.G. Bustos-Vázquez², D. Trujillo-Ramírez², G.C. Rodríguez Castillejos¹ y O. Castillo-Ruiz¹

1 Universidad Autónoma de Tamaulipas, Unidad Académica Multidisciplinaria Reynosa Aztlán. Calle 16 y Lago de Chapala, Col. Aztlán, Cd. Reynosa, Tamaulipas. CP.88740, Reynosa, Tamaulipas, México. **2** Universidad Autónoma de Tamaulipas, Unidad Académica Multidisciplinaria Mante, Blvd. Enrique Cárdenas González No. 1201 Pte. Col. Jardín C.P. 89840, Ciudad Mante, Tamaulipas, México. *linda.martinez.cas@gmail.com

RESUMEN

Durante los últimos años la contaminación ambiental ha ido en aumento en todo el mundo, los residuos agroindustriales que resultan de los procesos realizados en la industria representan un foco de infección contaminando el ambiente. En este sentido, durante el proceso de obtención del tequila (bebida emblemática de México), se derivan dos tipos de residuos: bagazo y vinazas siendo estas últimas las utilizadas en este estudio. El objetivo principal de este artículo es la caracterización de las vinazas para su aprovechamiento como medio nutritivo y de bajo costo para su uso en fermentaciones utilizando bacterias lácticas. Las vinazas se analizaron mediante análisis fisicoquímicos para determinar el contenido en carbono, nitrógeno, cenizas, sólidos en suspensión, compuestos orgánicos y minerales. Posteriormente se utilizarán como medio nutritivo, comparando los resultados con los medios químicos que representan altos costos de producción en la obtención de aditivos alimentarios.

Palabras clave: contaminación, residuos, vinaza, medio nutritivo, bacterias lácticas.

ABSTRACT

In recent years, environmental pollution has been increasing throughout the world, agro-industrial waste resulting from the processes carried out in the industry, represent a source of infection contaminating the environment. In this sense, during the process of obtaining tequila (the emblematic drink of Mexico), two types of waste are derived: bagasse and stillage, the latter being the ones used in this study. The main objective of this article is the characterization of vinasses for their use as a low-cost nutritive medium for use in fermentations using lactic acid bacteria. The vinasses were analyzed by physicochemical analyzes to determine the content of carbon, nitrogen, ashes, suspended solids, organic and mineral compounds. Subsequently, they will be used as a nutritive medium, comparing the results with chemical means that represent high production costs in obtaining food additives.

Keywords: Contamination, waste, vinasse, nutrient medium, lactic acid bacteria.

INTRODUCCIÓN

Los residuos agroindustriales tienen un amplio potencial para aprovecharse en la obtención de nuevos productos, la agroindustria presenta un gran desarrollo económico y social, pero se debe mantener un equilibrio entre los procesos y la protección del medio ambiente ya que en ocasiones dichos residuos no son distribuidos correctamente y provocan gran contaminación (Corredor & Pérez, 2018).

Actualmente, la biomasa lignocelulósica y lipídica son fuentes que se utilizan para la obtención de alternativas renovables como los biolubricantes y biocombustibles líquidos gaseosos y sólidos (Mejías-Brizuela et al., 2016).

El agave se considera como una planta muy importante en la cultura y economía mexicana, así como en otros países latinoamericanos; se conoce a México el lugar de origen del agave, los científicos han buscado a lo largo del tiempo diversas aplicaciones de este cultivo en la industria, pero sin afectar su sostenibilidad y el medio ambiente; lo que indica que para hacer uso del agave es necesario hacer un estudio profundo de aspectos que conlleva el proceso de la producción como por ejemplo la bioquímica y fisiología vegetal así como una investigación biotecnológica del agave (Nava et al., 2015).

La industria tequilera es una actividad de gran importancia como bebida emblemática en México, pero la cual genera una gran cantidad de residuos, principalmente bagazo y vinazas (CTR Consejo Regulador del Tequila, 2017). En Tamaulipas, se cultiva agave en 21 municipios y se reconocen 18 empresas que se dedican a producir tequila, mezcal y miel de agave; las cuales al realizar los procesos generan entre 100 a 200 toneladas de residuos por mes; aunado a esto, no se aprovechan en su totalidad por lo que pueden causar contaminación ambiental (Hoz-Zavala & Nava-Diguero, 2017).

Los residuos líquidos que provienen de la industria del licor se conocen como vinazas las cuales resultan cuando se realiza la destilación y fermentación, son de color café oscuro con sabor a malta y olor a miel, el promedio de vinaza que se obtiene de un litro de alcohol producido es de 10 a 15 litros, su pH es ácido entre 3.4 y 4.5 (Alzate, 2015). Este residuo presenta un alto grado de contaminación pues tiene una alta carga de materia orgánica y de acuerdo con la NOM-064-ECOL-1994 no cumplen con las reglas ambientales para ser descargadas directamente. Es por ello, que se han propuesto varios tratamientos para reciclar las vinazas y utilizarlas para crear nuevos productos (Topete & Covarrubias, 2015).

Entre los antecedentes de usos que tiene la vinaza se encuentran el producir biogás, levadura forrajera que tiene un alto nivel nutricional y en la industria farmacéutica (Chanfón Curbelo & Lorenzo Acosta, 2014). El bagazo tiene un alto contenido de humedad presenta proteína y fibra que lo convierten en un residuo interesante para la alimentación animal y los estudios lo recomiendan como suplemento para mejorar la digestibilidad, así como el desempeño productivo de los animales (Gutiérrez et al., 2020).

Del bagazo del agave se puede extraer celulosa, mediante la técnica de electro hilado se puede obtener nano fibras de celulosa las cuales tienen propiedades para usarlas en sistemas de liberación y en material de refuerzo (Robles-García et al., 2018). Para poder aprovechar los residuos es importante primero tener una caracterización, que permita identificar posibles usos. Por ello, el objetivo del presente trabajo fue caracterizar proximalmente vinazas de agave de una tequilera tamaulipeca.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Las vinazas utilizadas en este proyecto fueron donadas amablemente por la tequilera “La Gonzaleña” situada en el municipio de González en el estado de Tamaulipas las cuales se almacenaron a 4°C hasta su utilización.

Métodos

Caracterización de las vinazas tequileras

Se realizaron análisis fisicoquímicos de las vinazas para determinar el contenido en humedad, nitrógeno, cenizas, sólidos en suspensión, proteínas, fibra, grasa, compuestos orgánicos y elementos minerales.

Humedad, Cenizas y Sólidos en suspensión

La determinación de humedad se llevó a cabo de acuerdo con la NMX-AA-016-1984, en cenizas se utilizó la metodología de la NMX-F-607-NORMEX-2013 y para sólidos la NMX-AA-034-SCFI-2015.

Todos los análisis se realizaron por triplicado para mayor exactitud, calculando el porcentaje por medio de ecuaciones.

Por otra parte, se analizaron las vinazas para determinar el contenido de grasas, fibra, nitrógeno y proteínas.

Grasa

La metodología utilizada fue la estipulada en la NMX-AA-005-SCFI-2013 se usó la vinaza deshidratada en un equipo soxhlet (Foss, mod. 2045) con cartuchos (Whatman de 33 mm de diámetro interno por 80 mm de longitud) y hexano como solvente realizándose por triplicado.

Nitrógeno

Se siguió la metodología de la NMX-AA-026-SCFI-2010, utilizando un equipo Kjeldahl (Tecni-lab, Mod: K6U-COMB) se llevaron a cabo 3 pasos, la digestión, destilación y titulación para llegar al porcentaje de nitrógeno presente en la muestra.

Proteínas

La determinación de proteínas según la NMX-AA-026-SCFI-2010 se obtiene al multiplicar el porcentaje de nitrógeno obtenido por el factor correspondiente en este caso 6.25.

Determinación de fibra

Para esta metodología se siguió la NOM-F-90-S-1978 realizándose por triplicado, utilizando la vinaza deshidratada sin grasa, H₂SO₄ al 0.255 N y NaOH al 0.3 N al terminar la práctica se procedió a realizar los cálculos para determinar el porcentaje obtenido.

Azúcares

La concentración de azúcares se determinó mediante un método cromatográfico, siguiendo la NMX-V-006-NORMEX-2019. La separación se llevó a cabo en un equipo de HPLC (Waters 2695) equipado con un detector de índice de refracción (Waters 2414) y un horno de columna, se utilizó una columna (Waters IC- pak ion- exclusión columna (300 x 7.8 mm). Se utilizó un método isocrático con H₂SO₄ 5mM como fase móvil a un flujo de 0.5 mL/min a 37°C. La cuantificación se llevó a cabo por el método estándar externo. Para ello, se realizaron curvas de calibración de sacarosa, glucosa, fructosa y xilosa en el rango de 0.625 a 20 g/L.

Elementos minerales

Para la determinación de aniones (Sulfatos y Fosfatos), cationes (Calcio, Magnesio, Sodio, Potasio), Boro y Manganeseo por espectrometría de emisión atómica-plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) se siguió la NOM-117-SSA1-1994.

pH de la muestra

Para las vinazas el pH se midió directamente de la muestra siguiendo las indicaciones de la NMX-AA-027-SCFI-2006 realizando el análisis por triplicado, en donde se sumerge el electrodo en la muestra con ayuda de un potenciómetro (Hanna HI98130, México), registrando la lectura después de que se estabilizó.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las características de las vinazas tequileras pueden variar dependiendo de las diferencias entre las condiciones de operación del proceso (López-López y Contreras-Ramos, 2015). Los resultados del análisis proximal y sólidos suspendidos se muestran en la Tabla 1.

Tabla I. Análisis proximales y solidos suspendidos

Parámetro	Porcentaje
Humedad	95.15 ± 0.02
Cenizas	0.79 ± 0.04
Fibra	12.79 ± 1.11
Nitrógeno	0.34 + 8.07X10 ⁻⁵
Proteína	2.18 + 0.0005
Grasa	0.14 ± 0.08
Sólidos suspendidos	4.84 ± 0.02

Fuente: Elaboración propia

De acuerdo a los resultados esperados, la humedad de la vinaza fue alta, alcanzando un 95.15% esto debido a su consistencia líquida; la concentración de solidos fue 4.84%; este resultado es similar al reportado por (Robles-González *et al.*, 2012), quienes reportaron que la vinaza presentaba un 95% de agua y 5% de sólidos totales en los cuales se encontraban los orgánicos suspendidos y disueltos, los dos primeros corresponden a compuestos orgánicos, materia orgánica, y el ultimo corresponde a sustancias minerales, cifras que se asemejan a nuestros alcanzados en este estudio.

Por otra parte, en un análisis químico de sólidos de vinazas realizado por (Íñiguez y Peraza, 2007), encontraron un porcentaje de humedad de 82.25% y un 17.75% de sólidos respectivamente.

Las cenizas se conocen como el residuo inorgánico obtenido después de eliminar todos los compuestos orgánicos en la materia prima, las cenizas representan los minerales que se encuentran en una muestra, en este estudio se obtuvo un resultado de 0.79%, en estudios realizados por Ibarra-Camacho *et al.*, 2018, donde analizaron la vinaza procedente de dos distintas tequileras alcanzaron resultados para cenizas de 0.93% y 0.69 %, (Íñiguez y Peraza, 2007) determinaron cenizas en un 0.84% para vinazas procedentes del primer alambique del proceso. El porcentaje de grasa presente en la muestra es de 0.14 lo cual indica que los valores alcanzados en este estudio fueron menores.

Por otra parte, el resultado de nitrógeno alcanzado dio un resultado de 0.34%, estudios previos realizados por (Leal *et al.*, 2003) a dos tipos distintos de vinazas mostraron valores de 0.55 y 0.57%. En una nota informativa de SAGARPA en 2016, mencionan valores de 0.79%, los valores alcanzados en la muestra de vinaza utilizada en este estudio presentaron niveles más bajos de nitrógeno, el estudio de proteína en este análisis nos dio un valor de 2.18%, en los estudios de (Leal *et al.*, 2003) obtuvieron un resultado de 3.43% y 3.56% en los datos de SAGARPA un 4.93%, la vinaza que se uso en este articulo presenta niveles más bajos de proteína.

Los resultados alcanzados de fibra fueron de un 12.79%, de acuerdo con (Estrada-Arriaga *et al.*, 2013) las vinazas contienen fibras de agave, lo que explica el alto contenido.

En lo que respecta al pH, (España-Gamboa, 2011) analizó vinazas tequileras, reportando un promedio de 3.4; este valor es similar a lo reportado por (Retes-Pruneda *et al.*, 2014) que indicaron un valor de 3.9; en el presente estudio la vinaza también tuvo un pH ácido (3.6).

Por otra parte, se analizaron los elementos minerales presentes en la muestra, los resultados se recogen en la Tabla 2.

Tabla II. Determinación de elementos minerales por espectrofotometría

Elemento	Ca	Cl	Cu	Br	K	Mg	Mn	Zn	Fe	Al	CN	Nitritos
(mg/L)	400	1	205	0.13	63.2	150	2.216	0.616	30.93	0.028	0.046	15.0

Fuente: Elaboración propia

La vinaza obtuvo valores de cationes: Calcio (400 mg/L), potasio (63.2 mg/L), magnesio (150mg/L), las altas concentraciones de estos componentes ya han sido reportadas por diferentes autores (Retes - Pruneda *et al.*, 2014) encontraron 226 mg/L de Ca, 104 mg/L de Mg, (López - López *et al.*, 2010) reporto 200 mg/L de Ca, 100 mg/L de Mg y 150 mg/L de K. Bustos *et al.*, 2004, alcanzaron valores muy superiores a los obtenidos en este estudio en muestras de lías o fangos del proceso de vinificación, suponiendo que son similares ambos residuos.

En cuanto a los metales pesados como hierro y cobre el estudio arrojó los siguientes datos: Fe 30.93 mg/L y Cu 205 mg/L, autores como (España-Gamboa *et al.*, 2011) reportaron una concentración de 4 mg/L de cobre. De acuerdo con (Prado, 2015), en el tequila se puede encontrar una concentración alta de cobre debido al proceso de corrosión del equipo de destilación que puede llegar hasta 10 mg L⁻¹ cuando el sistema ha estado fuera de operación unos días. Por lo tanto, también la vinaza contiene parte de este cobre (Cu), cuya concentración se ha reportado entre 0.36 y 4 mg/L por (España-Gamboa *et al.*, 2011). En cuanto al hierro (Fe) tenemos un valor de 30.93%, un estudio de (Retes-Pruneda *et al.*, 2014) indicó un valor de 14 mg/L y (España-Gamboa *et al.*, 2011) 35.2 mg/L, por lo que el valor de este estudio se encuentra por encima de (Retes-Pruneda *et al.*, 2014) y menor que el de España Gamboa *et al.*, 2011).

Los nitritos nos muestran resultados de 15.0 mg/L y los nitratos 0.0 mg/L. Popolizio, 2017 encontró resultados para los nitritos de (3.7 mg/L) no detectando la presencia de nitratos en las muestras, lo cual indicó un proceso de mineralización de la materia orgánica donde apenas empezaba el proceso de nitrificación o desnitrificación.

Detección de azúcares

Los azúcares analizados fueron glucosa, xilosa, sacarosa, fructosa, por medio de cromatografía, los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 3.

Tabla III. Detección de azúcares por medio de cromatografía

Compuesto	Tiempo de retención (min)	área	Factor de dilución	Concentración (g/L)
Sacarosa	11.502	912,991	10	0.6
Fructosa	14.054	1,486,858	10	9.1

Fuente: Elaboración propia

El análisis de compuestos orgánicos nos indica solo la presencia de sacarosa y fructosa en la muestra en un 0.6 g/L y 9.1 g/L respectivamente, sin la presencia de otro azúcar.

CONCLUSIÓN

De acuerdo a los resultados alcanzados se puede deducir que las vinazas son un residuo con gran potencial para ser utilizadas biotecnológicamente como medios nutritivos debido a su bajo costo en fermentaciones utilizando bacterias lácticas. El uso de vinazas sería un estudio viable para el crecimiento de microorganismos debido a que presenta alto nivel de azúcares lo cual favorece el ambiente para que crezcan los *Lactobacillus*, entre otras cosas la vinaza puede servir perfectamente para alimentación de ganado ya que tiene alto porcentaje de fibra y realizando los procesos químicos correspondientes sería una muy buena opción, el nivel de fructosa que presenta se puede utilizar en la fabricación de aditivos alimentarios en este caso un edulcorante, ya que la literatura menciona que favorece a las personas diabéticas como un sustituto de azúcar ya que no desencadena la producción de insulina por parte del páncreas y al ser más dulce que la sacarosa permite usar menos cantidad por porción. Concluimos que la caracterización de este residuo nos permite encontrar diferentes alternativas de uso de las vinazas en la industria.

BIBLIOGRAFÍA

- Bustos, G., Moldes, A. B., Cruz, J. M., & Domínguez, J. M. (2004). Formulation of low-cost fermentative media for lactic acid production with *Lactobacillus rhamnosus* using vinification lees as nutrients. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(4), 801-808.
- Corredor, Y. A. V., & Pérez, L. I. P. (2018). Aprovechamiento de residuos agroindustriales en el mejoramiento de la calidad del ambiente. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 59-72.
- España-Gamboa E et al., (2011). Vinasses: Characterization and treatments. *Waste Management Research*.29.1235-1250.
- Estrada Arriaga, E., Garzón Zúñiga, M. A., & Mantilla Morales, G. (2013). Desarrollo de una tecnología de tratamiento para aguas residuales de la industria de bebidas alcohólicas (tequila). Instituto Mexicano de Tecnología del agua
- Gutiérrez, D., Aguirre, L., Ortiz, B., Lima, R., Rodríguez, Z., González, A., & Elías, A. (2020). Valoración nutricional del bagazo de *Agave fourcroydes* (henequén) para uso en la alimentación animal. *Bosques Latitud Cero*, 10(1), 29-38.
- Hoz-Zavala, Ma. E., E. & Nava-Diguero, P. (2017). Situación del Agave y sus residuos en Tamaulipas. *Revista de Energías Renovables* 2017. 1-1:19-31
- Ibarra-Camacho, R., & León-Duharte, L. (2018). Caracterización químico-física de vinazas de destilerías. *Ciencia en su PC*, 1(2), 1-13.
- Íñiguez G. y Peraza F. (2007). Reduction of solids and organic load concentrations in tequila vinasses using a polyacrylamide (PAM) polymer flocculant. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 23, 17-24.
- Leal, I., Chirinos, E., Leal, M., Morán, H., & Barrera, W. (2003). Caracterización fisicoquímica de la vinaza del *Agave cocui* y su posible uso agroindustrial. *Multiciencias*, 3(2).
- López-López, A., Contreras-Ramos, S.M., 2015. Tratamiento de efluentes y aprovechamiento de residuos, in: Gschaedler Mathis, A.C., Rodríguez Garay, B., Prado Ramírez, R., Flores 81 Montaña, J.L. (Eds.), *Ciencia Y Tecnología Del Tequila: Avances Y Perspectivas*. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C., Guadalajara, pp. 343-378.
- López-López, A., Davila-Vazquez, G., León-Becerril, E., Villegas-García, E., Gallardo-Valdez, J., 2010. Tequila vinasses: Generation and full-scale treatment processes. *Revista Environmental Science Biotechnology* 9, 109-116.

- Mejías-Brizuela, N., Orozco-Guillén, E., & Galáan-Hernández, N. (2016). Aprovechamiento de los residuos agroindustriales y su contribución al desarrollo sostenible de México. *Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales*, 2(6), 27-41.
- Nava-Cruz, N. Y., Medina-Morales, M. A., Martínez, J. L., Rodríguez, R., & Aguilar, C. N. (2015). Agave biotechnology: an overview. *Critical reviews in biotechnology*, 35(4), 546-559.
- Norma Oficial Mexicana (NMX-006-NORMEX-2019) Determinación de azúcares (glucosa, fructosa, sacarosa) o Azúcares reductores totales. Método por cromatografía de líquidos de Alta Resolución o método volumétrico.
- Norma Oficial Mexicana (NMX-AA-005-SCFI-2013) Medición de grasas y aceites recuperables en aguas naturales, residuales y residuales tratadas.
- Norma Oficial Mexicana (NMX-AA-016-1984) Determinación de humedad.
- Norma Oficial Mexicana (NMX-AA-026-SCFI-2010) Medición de nitrógeno total Kjeldahl en aguas naturales, residuales y residuales tratadas.
- Norma Oficial Mexicana (NMX-AA-027-SCFI-2006) Residuos líquidos - Determinación de pH
- Norma Oficial Mexicana (NMX-AA-034-SCFI-2015) Medición de sólidos y sales disueltas en aguas naturales, residuales y residuales tratadas.
- Norma Oficial Mexicana (NMX-F-607-NORMEX-2013) Alimentos- Determinación de cenizas en alimentos.
- Norma Oficial Mexicana (NOM-117-SSA1-1994) Método de prueba para la determinación de cadmio, arsénico, plomo, estaño, cobre, fierro, zinc y mercurio en alimentos, agua potable y agua purificada por espectrometría de absorción atómica.
- Norma Oficial Mexicana (NOM-F-90-S-1978) Determinación de Fibra Cruda en Alimentos.
- Retes-Pruneda, J. L., Davila-Vazquez, G., Medina-Ramírez, I., Chávez-Vela, N. A., Lozano-Álvarez, J. A., Alatraste-Mondragón, F., & Jauregui-Rincón, J. (2014). High removal of chemical and biochemical oxygen demand from tequila vinasses by using physicochemical and biological methods. *Environmental Technology*, 35(14), 1773–1784.
- Robles-García, M. Á., Del-Toro-Sánchez, C.L, Márquez-Ríos, E., Barrera-Rodríguez, A., Aguilar, J., Aguilar, J.A y Rodríguez-Félix, F. (2018). Nanofibras de bagazo de celulosa de Agave tequilana Weber Var. azul por electrohilado: preparación y caracterización. *Polímeros de carbohidratos*, 192, 69-74.
- Robles-González V., Galíndez-Mayer J., Rinderknecht-Seijas N., Poggi-Varaldo H.M. (2012). Treatment of mezcal vinasses: A review. *Journal of Biotechnology*. 157: 524-546.
- SAGARPA (2016). vinazas: alternativas de uso. Nota informativa sobre innovaciones en materia de productividad del sector. Universidad Autónoma Chapingo, 1-12.
- Topete, N. G. M. A., & Covarrubias, G. I. (2015). Fertilizante orgánico obtenido de las vinazas tequileras y estiércol de ganado. *InterSciencePlace*, 1(4).