

Economía Circular: potencial de la vinaza sucro-alcoholera como medio de cultivo para microorganismos promotores del crecimiento vegetal

Mariela A. Torres^{1,2*}, Carlos G. Nieto-Peñalver^{1,3**}, Hipólito F. Pajot^{1,4}, Gisela González-Pardo⁵, Georgina Michelena-Alvarez⁵

1. Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos (PROIMI, CONICET), Argentina
2. Instituto de Ecología, Facultad de Agronomía, Zootecnia y Veterinaria, Universidad Nacional de Tucumán, Argentina
3. Instituto de Microbiología, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán. Argentina
4. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Catamarca. Argentina
5. Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA) Cuba

* mariela.torres@conicet.gov.ar

** Cgnieto@conicet.gov.ar

RESUMEN

Introducción. La vinaza, subproducto líquido de la industria sucroalcoholera, presenta gran potencial contaminante, pero también biotecnológico en un contexto de economía circular.

Objetivo. Revalorizar la vinaza como posible medio de cultivo para la producción de inoculantes agrícolas sustentables.

Materiales y métodos. Se emplearon cepas de *T. harzianum* Th2 (colección PROIMI) y *B. subtilis* B/23-45-10 Nato, del Instituto Cubano de Investigaciones de la caña de Azúcar. La vinaza, obtenida durante la zafra 2025, fue caracterizada (pH, conductividad, DQO, DBO, sólidos totales y fraccionados). Se evaluó la tolerancia de los microorganismos a la vinaza al 10, 20, 50, 75 y 100 % (v/v). La viabilidad de B/23-45-10 Nato se evaluó por recuento de UFC. El crecimiento de Th2 se determinó por peso seco.

Resultados y discusión. La vinaza mostró pH ácido (4.02), alta conductividad (8.25 mS·cm⁻¹) y elevados valores de DQO/DBO (55.924/23.333 mg·L⁻¹). B/23-45-10 Nato mantuvo viabilidad en todas las concentraciones hasta 100 %, sin aumento significativo de UFC respecto al inóculo. Th2 creció en todas las condiciones evaluadas, el peso seco fue significativamente mayor en vinaza al 50 y 75 %.

Conclusiones. La vinaza posee un potencial diferencial como medio de cultivo, dependiendo del microorganismo. Para *T. harzianum* Th2, la vinaza al 50 y 75 % favorecieron el crecimiento, lo que indica que esta puede actuar como fuente de nutriente. En contraste, *B. subtilis* B/23-45-10 Nato mantuvo su viabilidad, aunque sin incremento en el número de células viables, lo que sugiere que la vinaza podría limitar su proliferación. En conjunto, los resultados respaldan la viabilidad de utilizar vinaza para la formulación de medios de cultivo.

Palabras clave. Economía circular, vinaza, microorganismos promotores del crecimiento vegetal.

ABSTRACT

Introducción. Vinasse, a liquid byproduct of the sugar-alcohol industry, has great polluting potential, and also biotechnological opportunities within a circular economy context.

Objective. To revalue vinasse as a possible culture medium for the production of sustainable agricultural inoculants.

Materials and methods. Strains of *T. harzianum* Th2 (PROIMI collection) and *B. subtilis* B/23-45-10 Nato, from the Cuban Institute of Sugarcane Research, were used. Vinasse, obtained during the 2025 harvest, was characterized (pH, conductivity, COD, BOD, total and fractional solids). The tolerance of the microorganisms

to vinasse at 10, 20, 50, 75, and 100% (v/v) concentrations was evaluated. The viability of *B/23-45-10* Nato was assessed by colony-forming units (CFU). Th2 growth was determined by dry weight.

Results and discussion. The vinasse showed an acidic pH (4.02), high conductivity (8.25 mS•cm⁻¹), and elevated COD/BOD values (55.924/23.333 mg•L⁻¹). B/23-45-10 Nato maintained viability at all concentrations up to 100%, with no significant increase in CFU compared to the inoculum. Th2 grew under all conditions evaluated, with significantly higher dry weight in vinasse at 50% and 75%.

Conclusions. Vinasse has a differential potential as a culture medium, depending on the microorganism. For *T. harzianum* Th2, 50% and 75% vinasse favored growth, indicating it can act as a nutrient source. In contrast, *B. subtilis* B/23-45-10 Nato maintained its viability, although without an increase in the number of viable cells, suggesting vinasse might limit its proliferation. Overall, the results support the feasibility of using vinasse for culture media formulation.

Keywords. Circular economy, sugarcane vinasse, plant growth-promoting microorganisms

INTRODUCCIÓN

Los modelos de producción basados en la economía circular buscan optimizar el uso de los recursos naturales, mediante la creación de cascadas y ciclos productivos que diversifiquen los productos (1). La industria sucro-alcoholera es la actividad agroindustrial más importante tanto en Cuba como en el noroeste Argentino. Se estima que, por cada litro de etanol producido, se generan 13 litros de vinaza. Este subproducto posee una alta carga contaminante, pero también un importante potencial biotecnológico (2).

Ante la emergencia ambiental global, resulta importante desarrollar tecnologías que amplíen la economía circular en la producción sucro-alcohólica, incluyendo el aprovechamiento de la vinaza para generar nuevos bioproductos, como los bioinoculantes agrícolas. Estos son formulados con microorganismos promotores del crecimiento vegetal (PGP, por sus siglas en inglés: *Plant Growth-Promoting*), que favorecen el desarrollo de las plantas y actúan como agentes de biocontrol frente a fitopatógenos, y reducen o incluso reemplazan el uso de formulados químicos (3).

El Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA) cuenta con una amplia trayectoria en el desarrollo de bioproductos derivados de la caña de azúcar, que incluye incluyendo formulaciones con aplicación agrícola como: FITOMAS-E® y LEBAME®. En paralelo, la Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos (PROIMI-CONICET) ha evaluado, con éxito, el uso de vinaza como medio de cultivo para *Trichoderma* spp. y otras especies microbianas. Recientemente, este grupo demostró la viabilidad de emplear vinaza para el crecimiento de *Pseudomonas capeferrum* WCS385, *Rhizobium* sp. N21.2 y *Trichoderma* (*T.*) *harzianum* MT2, que alcanzó rendimientos de biomasa, comparables a los obtenidos en medios de cultivo ricos de laboratorio (4).

Entre los microorganismos de mayor relevancia para la agricultura se destacan *Bacillus subtilis* y *Trichoderma harzianum*, ampliamente reconocidos por su capacidad para promover el crecimiento vegetal, mejorar el desarrollo radicular, inducir tolerancia a diferentes tipos de estrés y ejercer control biológico frente a diversas enfermedades (5-8).

El presente trabajo tiene como objetivo valorar la vinaza como posible medio de cultivo, para la producción de inoculantes agrícolas sustentables de *T. harzianum* Th2 y *B. subtilis* B/23-45-10 Nato, y evaluar la tolerancia de los microorganismos al afluyente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Microorganismos y medios de cultivo de mantenimiento

Los microorganismos empleados en este estudio fueron *T. harzianum* Th2 y *B. subtilis* B/23-45-10 Nato. *T. harzianum* Th2 forma parte de la colección de la Planta Piloto de Procesos Industriales

Microbiológicos (PROIMI-CONICET, de Argentina) y fue aislado del producto comercial Rizoderma®, perteneciente a la empresa Rizobacter Argentina S.A. Esta cepa se mantuvo en medio Yeast-Malt Extract (YME) (9), incubada a 25 °C, durante 72 h; en cultivos líquidos se empleó agitación a 180 rpm. *B. subtilis* B/23-45-10 Nato pertenece a la colección del Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA-AZCUBA, Cuba). Esta cepa se mantuvo en medio Luria Bertani (LB) (10), incubada a 30 °C, durante 24 h y con agitación a 180 rpm en caso de cultivos líquidos.

Obtención y preparación de la vinaza

La vinaza fue obtenida durante la zafra 2025, directamente de las columnas de destilación de la destilería Antonio Sánchez, ubicada en Aguada de Pasajeros, provincia de Cienfuegos, Cuba. El efluente se conservó a ~4 °C hasta su utilización. Previo a su uso, fue esterilizado en autoclave a 121 °C, durante 20 minutos y 1 atm de sobrepresión.

Caracterización de la vinaza

Se realizó la caracterización físico-química de la vinaza. Los parámetros evaluados incluyeron la DQO, determinada mediante una modificación rápida del método estándar (Standard Methods), y la DBO, medida con el equipo Oxitop Box TW. La acidez y la conductividad eléctrica se midieron con electrodos específicos, mientras que los sólidos se cuantificaron por gravimetría, de acuerdo con los protocolos del ICIDCA. Se registraron los valores de sólidos totales (ST), sólidos disueltos (SD) y sólidos suspendidos totales (SST), así como las fracciones fija y volátil de cada uno (STF: sólidos totales fijos, STV: sólidos totales volátiles, SDF: sólidos disueltos fijos, SDV: sólidos disueltos volátiles, SSF: sólidos suspendidos fijos, SSV: sólidos suspendidos volátiles).

Evaluación de la tolerancia de *T. harzianum* Th2 y *B. subtilis* B/23-45-10 Nato a la vinaza como medio de cultivo

Se evaluó la tolerancia de ambos microorganismos frente a componentes, potencialmente tóxicos, presentes en la vinaza. Las concentraciones de vinaza evaluadas fueron 10, 20, 50, 75 y 100 %. En el caso de *B. subtilis* B/23-45-10 Nato, se inocularon las diferentes diluciones de vinaza con un precultivo, en medio LB de 24 h de crecimiento, previamente lavado con agua destilada. Los cultivos fueron inoculados en proporción 1:100 y se incubaron a 30 °C, con agitación a 180 rpm, durante 24 h. Como control positivo se utilizó medio LB. Luego de la incubación, se evaluó la viabilidad, mediante el recuento de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en medio LB agarizado con la técnica de Jett *et al.* (11). Brevemente, se sembró 10 µL de cada muestra en un extremo de la caja de Petri, con medio LB agarizado y se dejó migrar el líquido hacia el otro extremo de esta.

La tolerancia de *T. harzianum* Th2 se evaluó frente a las mismas concentraciones de vinaza y como control positivo, se utilizó medio YME. Estos cultivos fueron inoculados con una suspensión de conidios de *T. harzianum* Th2 en agua estéril, con 1×10^8 conidios mL⁻¹. La suspensión se obtuvo a partir de un cultivo de *T. harzianum* Th2 de 72 h, en medio YME sólido. La concentración de conidios se determinó con la utilización de una cámara de Neubauer. Los cultivos de *T. harzianum* Th2 se incubaron durante 72 h, a 30 °C con agitación a 180 rpm. El crecimiento se evaluó cuantitativamente, mediante la determinación gravimétrica del peso seco. Los valores de peso seco obtenidos en las distintas concentraciones de vinazas se compararon con los obtenidos en medio YME, mediante test *t*, con un nivel de significancia de $p < 0.05$. El análisis estadístico se realizó con el software *Infostat*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

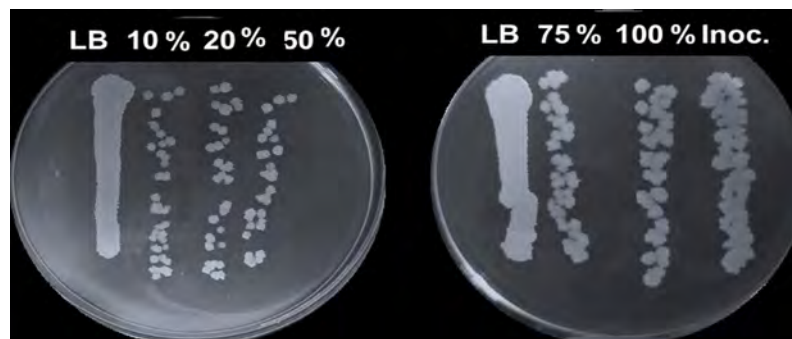
La caracterización del efluente es fundamental para predecir sus condiciones de almacenamiento y su potencial como medio de cultivo. Los resultados de la caracterización físico-química de la vinaza obtenidos se presentan en la tabla 1.

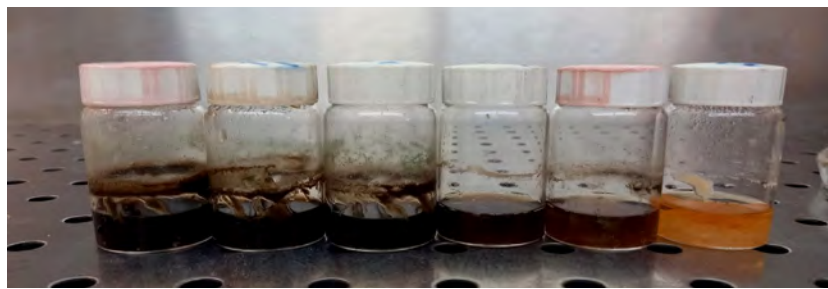
Tabla 1. Características físicoquímicas de la vinaza de la destilería Antonio Sánchez

Características de la vinaza	
pH	4.02
Conductivity (mS/cm)	8.25
DQO (mg/L)	55.924
DBO (mg/L)	23.333
ST (mg/L)	40210
STF (mg/L)	8164
STV (mg/L)	32050
SD (mg/L)	37725
SDF (mg/L)	7655
SDV (mg/L)	30070
SST (mg/L)	2485
SSF (mg/L)	505
SSV (mg/L)	1980

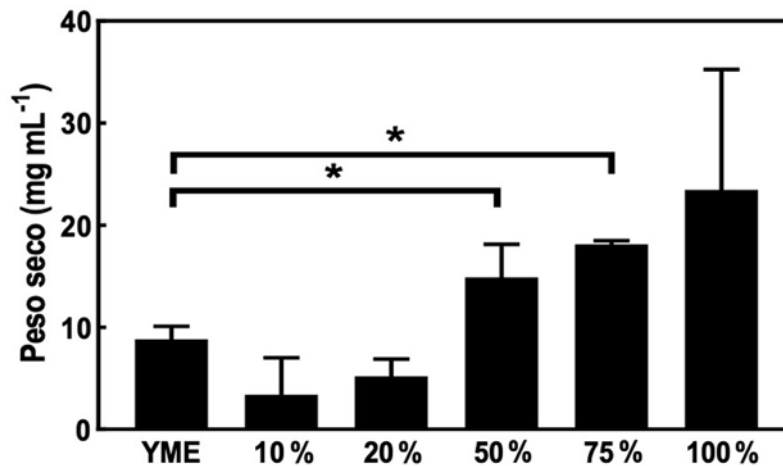
La vinaza analizada presentó un pH ácido (4.02) y elevada conductividad (8.25 mS cm⁻¹), dentro de los rangos esperados para efluentes de destilerías. Esto se atribuye a la presencia de ácidos orgánicos y compuestos fenólicos generados durante la fermentación y a la presencia de sales disueltas; principalmente potasio, calcio, magnesio y sulfatos y destilación. El carácter ácido de la vinaza limita el desarrollo de microorganismos no acidotolerantes. Los valores de DQO y DBO fueron altos (55.924 y 23.333 mg L⁻¹, respectivamente), lo que refleja la elevada carga orgánica de la vinaza y su fuerte potencial de contaminación.

En la evaluación de la tolerancia de *B. subtilis* B/23-45-10 Nato a distintas concentraciones de vinaza se observaron UFC en todas las muestras sin dilución. Este resultado indicó la viabilidad del microorganismo en todas las concentraciones de vinaza, incluso al 100 %, tras 24 h de incubación (figura 1). Sin embargo, no se detectó un aumento significativo en la cantidad de UFC respecto al inóculo inicial. Este resultado evidencia que la cepa toleró la acidez y la posible toxicidad de la vinaza, pero no logró crecimiento bajo las condiciones evaluadas. Esto sugiere necesarias modificaciones en algunos de los factores del efluente como el pH, previo a su utilización como medio de cultivo, o bien adaptar el microorganismo al medio de crecimiento.

**Figura 1.** Viabilidad de *B. subtilis* B/23-45-10 Nato, en diferentes concentraciones de vinaza, después de 24 h de incubación.



A



B

Figura 2. Crecimiento de *T. harzianum* Th2 en diferentes concentraciones de vinaza. **A)** Crecimiento en frascos con medio de cultivo de laboratorio (YME) y vinaza al 10, 20, 50, 75 y 100 % (de izquierda a derecha). **B)** Crecimiento evaluado por peso seco (g/L de medio de cultivo). Los asteriscos indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

En la evaluación de la tolerancia de *T. harzianum* Th2 a distintas concentraciones de vinaza se observó, macroscópicamente, el crecimiento de Th2 en todas las condiciones evaluadas, y fue más evidente en 50, 75 y 100 % (figura 2A). La cuantificación de biomasa por peso seco reflejó un aumento en el crecimiento de *T. harzianum* Th2 al 50, 75 y 100 % en concordancia con las observaciones previas (figura 2B). Aunque en las observaciones macroscópicas y en las medias de peso seco se aprecia una tendencia a mayores valores de biomasa entre el 50 y el 100 % de vinaza, con respecto a YME fue estadísticamente superior en vinaza al 50 % y 75 %, no en vinaza al 100 %, posiblemente debido a la variabilidad de los datos. También, es importante considerar que la presencia de sólidos no metabolizados en la vinaza podría haber contribuido, parcialmente, al peso seco registrado, especialmente en las concentraciones más altas, lo que podría haber sobrestimado el crecimiento fúngico real.

CONCLUSIONES

1. Los ensayos permitieron establecer que la vinaza presenta un potencial diferencial como medio de cultivo, según el microorganismo evaluado. Las condiciones evaluadas resultaron favorables para el desarrollo de *T. harzianum* Th2, mientras que *B. subtilis* B/23-45-10 Nato mantuvo su viabilidad en este medio, sin evidenciar crecimiento.
2. Estos resultados aportan información para el aprovechamiento de la vinaza en procesos biotecnológicos y plantean nuevas estrategias que deberán evaluarse para optimizar su uso como medio de cultivo.

AGRADECIMIENTOS

Los autores. agradecen el apoyo del Programa de Biotecnología para América Latina y el Caribe de la Universidad de las Naciones Unidas (UNU-BIOLAC).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gontard, N.; *et al.* (2018). A research challenge vision regarding management of agricultural waste in a circular bio-based economy. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 48(6), 614–654.
2. Christofolletti, C. A.; *et al.* (2013). Sugarcane vinasse: Environmental implications of its use. *Waste Management*, 33(12), 2752–2761.
3. Contreras-Cornejo, H. A.; *et al.* (2024). Mechanisms for plant growth promotion activated by Trichoderma in natural and managed terrestrial ecosystems. *Microbiological Research*, 281, 127621.
4. Torres, M. A.; *et al.* (2023). Vinasse as a substrate for inoculant culture and soil fertigation: Advancing the circular and green economy. *Science of the Total Environment*, 887(May).
5. Su, Y., *et al.* (2020). *Bacillus subtilis*: a universal cell factory for industry, agriculture, biomaterials and medicine. *Microbial Cell Factories* 2020 19:1, 19(1), 1–12.
6. Tseng, Y. H.; *et al.* (2020). An Endophytic Trichoderma Strain Promotes Growth of Its Hosts and Defends Against Pathogen Attack. *Frontiers in Plant Science*, 11, 573670.
7. Villarreal-Delgado, M. F.; *et al.* (2018). El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 36(1), 95–130.
8. Morán-Diez, M. E.; *et al.* (2021). *Trichoderma* and the Plant Heritable Priming Responses. *Journal of Fungi* 2021, Vol. 7, Page 318, 7(4), 318.
9. Tavares, A. P. A.; *et al.* (2005). Selection and optimization of culture medium for exopolysaccharide production by *Coriolus (Trametes) versicolor*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21(8–9), 1499–1507.
10. Sambrook, J.; Russell, D. W. (2001). *Molecular Cloning A Laboratory Manual* (N. Y. Cold Spring Harbor Laboratory Press (Ed.); 3rd Edition).
11. Jett, B. D.; *et al.* (1997). Simplified agar plate method for quantifying viable bacteria. *BioTechniques*, 23(4), 648–650.