

## Evaluación preliminar del hongo ligninolítico *Trametes versicolor* inmovilizado en biomedio para el tratamiento de vinazas tequileras

Anderson A. Ramírez-Ramírez, Allan Tejeda, Arturo Montoya, Florentina Zurita \*

Centro de Investigación en Calidad Ambiental. Centro Universitario de la Ciénega, Universidad de Guadalajara. Ocotlán, Jalisco, México

\* Autor de correspondencia: [florentina.zurita@academicos.udg.mx](mailto:florentina.zurita@academicos.udg.mx)

### Artículo de divulgación científica

Recibido: 21 de abril de 2025 Aceptado: 4 de junio de 2025 Publicado: 21 de junio de 2025

DOI: <https://doi.org/10.56845/terys.v4i1.443>

**Resumen:** Durante la producción de tequila se generan grandes cantidades de residuos líquidos denominados vinazas, cuyos volúmenes son cada vez mayores debido a la tendencia de crecimiento de la industria tequilera. Este estudio plantea el tratamiento de tales residuos mediante el uso del hongo ligninolítico *Trametes versicolor* inoculado en biomedio. Se hizo un experimento a escala laboratorio que consistió en inocular el hongo en la biomedio en matraces de 2 L, además de incluir controles biológicos (matraces con vinazas y biomedio sin hongos). Los tratamientos se hicieron por triplicado y el volumen de vinazas a tratar fue de 1 L. Se analizaron parámetros como la DQO, la DBO<sub>5</sub>, el color verdadero y aparente entre otros, para determinar si el hongo era capaz de eliminar parte de la carga contaminante. Se encontró que el hongo fue capaz de eliminar los parámetros considerados como contaminantes, debido a que probablemente uso su maquinaria enzimática. Sin embargo, los porcentajes de remoción fueron considerablemente bajos, lo que da la pauta para seguir investigando y probando nuevos procesos que pudieran mejorar tales remociones.

**Palabras clave:** materia orgánica; enzimas oxidativas; color verdadero, color aparente

### Introducción

El agua es un recurso limitado cuyos usos consuntivos son el doméstico, industrial y agrícola. Como resultado de tales usos se generan las aguas residuales domésticas, aguas residuales industriales y escorrentías agrícolas. Las primeras se generan en los núcleos poblacionales, mientras que las industriales, proceden de cualquier actividad comercial o industrial y con frecuencia contienen sustancias que no se eliminan por un tratamiento convencional, ya sea por su naturaleza química o por sus concentraciones elevadas (Rodríguez-Fernández-Alba *et al.*, 2017). En México, específicamente, en el estado de Jalisco, existe una gran generación de aguas residuales durante la elaboración del tequila, conocidas como vinazas. Las vinazas son el residuo líquido que queda en los alambiques después de la destilación del jugo de agave fermentado. De acuerdo con diferentes estudios, por cada litro de tequila producido se generan entre 10 y 15 L de vinazas (Valencia-Botín *et al.*, 2024). Las vinazas poseen características fisicoquímicas muy particulares como un alto contenido de materia orgánica, de sólidos tanto suspendidos como disueltos, un color marrón muy intenso producto de compuestos denominados melanoidinas, así como un pH ácido de aproximadamente 3.4 a 4.5 unidades (Tejeda *et al.*, 2023). Debido a la complejidad y diversidad de los contaminantes presentes en las vinazas y sus concentraciones, muchas veces no se les da tratamiento antes de disponerlas en el ambiente. Se sabe de manera general que sólo las grandes y medianas empresas tienen sistemas de tratamiento bien definidos, que si bien son relativamente efectivos, también son costosos tanto en mantenimiento como en operación. De esta manera, las pequeñas y microtequileras solo tienen como opción el acondicionamiento de las vinazas, que consiste en neutralizar el pH y permitir su enfriamiento pues se generan con una temperatura de aproximadamente 90 °C (Zurita *et al.*, 2022).

Ante este panorama, las tecnologías basadas en la naturaleza surgen como una opción a los sistemas convencionales de tratamiento, en especial para las micro y pequeñas empresas ya que suelen ser de un menor costo de operación, así como tener una interacción más amigable con el ambiente. Como ejemplo de estas tecnologías, se tiene a la microrremediación, que tiene como finalidad la remoción de contaminantes mediante el uso de algún tipo de hongo. De acuerdo con lo anterior, este artículo describe una evaluación preliminar de eliminación de la carga contaminante de las vinazas tequileras mediante la actividad enzimática del hongo ligninolítico *Trametes versicolor*, inoculado en biomedio con el propósito de robustecer su resistencia a las vinazas.

## Desarrollo

### Planteamiento experimental

La investigación se realizó a nivel laboratorio en el Centro de Investigación en Calidad Ambiental del Centro Universitario de la Ciénega de la Universidad de Guadalajara. El estudio consistió en el tratamiento de 1 L de vinazas en matraces Erlenmeyer de 2 L que contenían biomedias o bioportadores inoculados con el hongo ligninolítico *Trametes versicolor*; además, se incluyeron controles biológicos (matraces con vinazas y biomedias sin hongos) (Figura 1). Primeramente, se realizó la inoculación y producción del hongo. Para ello, en condiciones de esterilidad, se sembró el hongo en medio GMY (glucosa-malta y extracto de levadura) y con los bioportadores. Posteriormente, los matraces se sometieron a agitación orbital a 120 RPM durante 8 días; periodo durante el cual, el hongo se desarrolló tanto dentro como fuera de la biomedias (Figura 1 (a)). Cabe destacar que la biomedias posee un área superficial de  $420 \text{ m}^2/\text{m}^3$ , lo que la hace ideal para que el hongo pueda colonizarla.

Las vinazas que se utilizaron en la investigación, se sometieron a un proceso de sedimentación previo con el propósito de disminuir la carga de sólidos. La vinaza utilizada se diluyó con agua destilada (V/V), iniciando con un 30% (30/70) hasta llegar al 100% de vinaza, con el propósito de permitir la adaptación del hongo a las mismas. Además, para cada tratamiento, el pH de las vinazas se ajustó con NaOH grado reactivo de valores promedio de 3.74 a 4.52 unidades, para que la vinaza estuviera en valores óptimos para los hongos ligninolíticos. Con el mismo propósito de que los hongos se adaptaran a las vinazas, se inició con un tiempo de retención de 10 días para la concentración del 30%. Posteriormente, el tiempo de retención fue de 5 días para las distintas concentraciones. Cabe mencionar que los experimentos se hicieron en batch, drenando cuidadosamente la vinaza después de la exposición de los hongos a cada concentración de vinaza y conservando los hongos para la siguiente concentración de vinaza. Los contaminantes que se evaluaron para cada vinaza diluida, antes y después de cada tiempo de retención, fueron la demanda química de oxígeno (DQO), demanda bioquímica de oxígeno ( $\text{DBO}_5$ ), sólidos disueltos totales (SDT), conductividad eléctrica (CE), pH, así como el color verdadero y el color aparente. Además, para confirmar la viabilidad de los hongos durante la experimentación, al final de la misma, se hizo una prueba de fluorescencia con FDA (Ramírez-Ramírez *et al.*, 2024); el FDA se hidroliza intracelularmente cuando las células están activas, produciendo fluorescencia (Figura 1 (d)). Como análisis estadístico se hicieron análisis de varianza para determinar si existía alguna diferencia entre tratamientos. Para esto se utilizó el software Statgraphics Centurion 19 con un nivel de significancia de 0.05 ( $\alpha=0.05$ ).

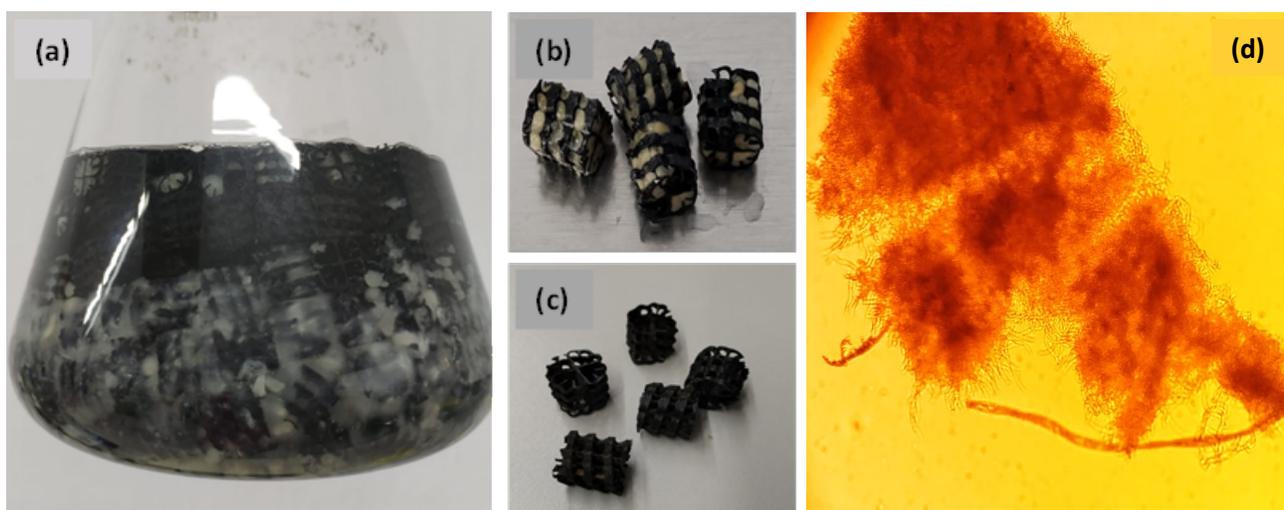


Figura 1. Inmovilización del hongo ligninolítico *Trametes versicolor* y prueba de fluorescencia. (a) Patrón de crecimiento, tanto dentro como fuera de la biomedias, (b) inmovilización del hongo, (c) Biomedias sin hongo inoculado, (d) fluorescencia con FDA

### Resultados

En lo referente al pH, este fue el único parámetro que estadísticamente presentó diferencias significativas ( $p<0.05$ ), aunque solamente para las diluciones del 30 y 50%. En cuanto a su comportamiento, se observa en la Figura 2 que

siempre presentó valores típicos de las vinazas tequileras, variando aproximadamente entre 3.7 y 4.8 unidades. También se observa que los valores en el control biológico siempre fueron mayores a los del hongo y que mantuvieron cierta homogeneidad a lo largo de la experimentación. En lo que respecta a los valores con el hongo, aunque también hay cierta homogeneidad, se observa una ligera tendencia de incremento entre las concentraciones del 50 y el 70%. Los mayores valores de pH en el control indican que este parámetro se incrementó durante la experimentación, lo cual permite pensar que la biomedica tuvo un efecto en este incremento; probablemente, los bioportadores constituyeron un medio que pudieron colonizar los microorganismos presentes en las vinazas. Sobre esto último, se ha demostrado en estudios como el de Cassman *et al.* (2018), la presencia de una gran diversidad de microorganismos presentes en las vinazas, principalmente bacterias. Por otro lado es sabido que la rugosidad constituye una de las características que afectan la colonización por parte de los microorganismos, siendo aquellas superficies más rugosas las más aptas para ser colonizadas por su mayor área superficial, tal como sucede con la biomedica (Behbahani *et al.*, 2022). Además de esto, la hidrofobicidad superficial también es importante en el aspecto de la colonización. Algunos estudios han demostrado que los microorganismos se adhieren más rápido a superficies hidrofóbicas no polares, tales como los plásticos o el teflón, que a superficies hidrofílicas como los metales o el vidrio (Behbahani *et al.*, 2022; Donlan, 2002; Nurioglu *et al.*, 2015). Adicionalmente, el incremento de pH en el control biológico probablemente se debió a un proceso de reducción de sulfatos, el cual a grandes rasgos se lleva a cabo en presencia de materia orgánica, abundante en las vinazas, liberando alcalinidad por bicarbonatos. Al respecto, y tomando en cuenta la diversidad de bacterias que pueden estar presentes en las vinazas, se han encontrado en ellas bacterias capaces de reducir sulfatos, tales como el género *Prevotella* (Cassman *et al.*, 2018). Además, existen estudios como el de Elliott *et al.* (1998) quienes refuerzan esta posibilidad al haber encontrado que bacterias sulfato reductoras fueron capaces de reducir el sulfato y producir alcalinidad con valores de pH tan bajos como 3.25 unidades e incrementándolo hasta 5.82. Si bien este último estudio se hizo con drenaje ácido de minas, las vinazas y dichos residuos comparten similitudes como un pH bastante ácido y abundante presencia de sulfatos, además de que han sido utilizados en estudios de manera conjunta y complementaria (Watanabe-Nogueira *et al.*, 2021).

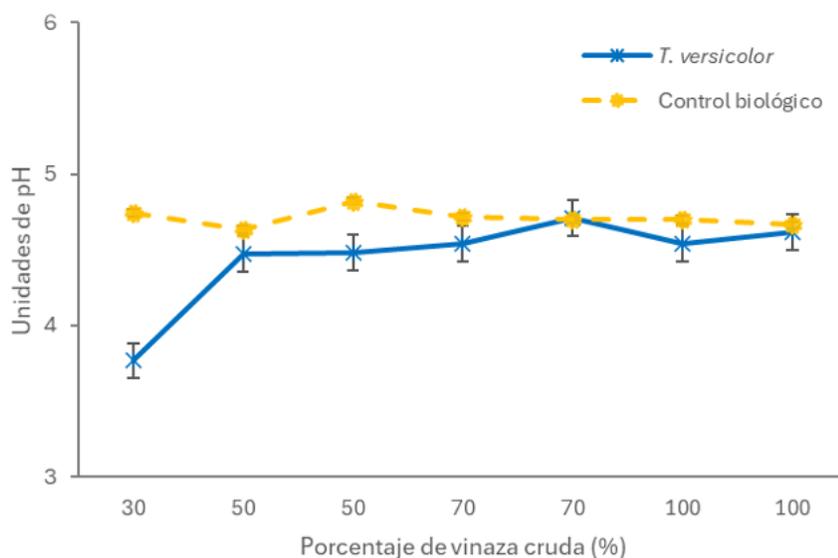


Figura 2. Comportamiento del pH a lo largo del tratamiento de las vinazas tequileras con el hongo *Trametes versicolor*

En cuanto a la materia orgánica representada por la DQO y la DBO<sub>5</sub>, estadísticamente no hubo diferencia significativa entre los tratamientos ( $p > 0.05$ ). Respecto a los resultados, en la Figura 3 se observan que con el 30% ambos parámetros registraron valores mayores en el tratamiento con hongo, mientras que a partir del 50%, siempre se observó una reducción de la materia orgánica con respecto al control. Probablemente, el incremento observado en el 30% se debió a un deslave del hongo en su proceso de adaptación a la vinaza y en cuanto al segundo se puede explicar por la actividad biológica del hongo, el cual para poder sobrevivir es probable que haya hecho uso de su maquinaria enzimática para con ello degradar los compuestos orgánicos y poderse alimentar. Esto último es un hecho bien definido, pues diversas investigaciones (Arora & Sharma, 2009; Civzele *et al.*, 2023; Novotny *et al.*, 2004; Solarska *et al.*, 2009) han evidenciado

que los hongos ligninolíticos con capaces de degradar la materia orgánica mediante enzimas oxidativas no específicas como la lacasa, manganeso peroxidasa, lignino peroxidasa, etc. En esta investigación para demostrar tal proceso enzimático, se utilizó el control biológico en el cual no se realizó la inoculación de hongos, para así evidenciar que cualquier modificación de los parámetros analizados se debía a la actividad biológica de estos organismos. Por otro lado, uno de los aspectos más importantes de esta investigación, es la evidente intención de eliminar la carga contaminante que poseen las vinazas tequileras, misma que es representada por los parámetros aquí analizados. Respecto a la materia orgánica, los problemas de contaminación que esta genera están bien documentados. Por ejemplo, en caso de que estos residuos sean descargados en un cuerpo de agua, esta genera la proliferación de microorganismos los cuales disminuyen la concentración de oxígeno disuelto en el agua, y afectando con ello a la flora y fauna. Por otro lado, en caso de su vertimiento en los suelos, se sabe que la materia orgánica puede descomponerse y con ello alterar los ciclos del nitrógeno y el carbono, emitiendo gases de efecto invernadero como el óxido nitroso o el metano, ello en condiciones de alta humedad (Moran-Salazar *et al.*, 2016; Ramírez-Ramírez *et al.*, 2024). Con base en lo anterior, se hace evidente la tendencia que tuvo el hongo inoculado en la biomedida, al ser capaz de eliminar la materia orgánica (aunque no alcanzó a ser significativa con respecto al control), no obstante, también debe mencionarse que los porcentajes promedio de remoción fueron muy bajos siendo estos del 13.4% y 9.34% para la DQO y DBO<sub>5</sub>, respectivamente.

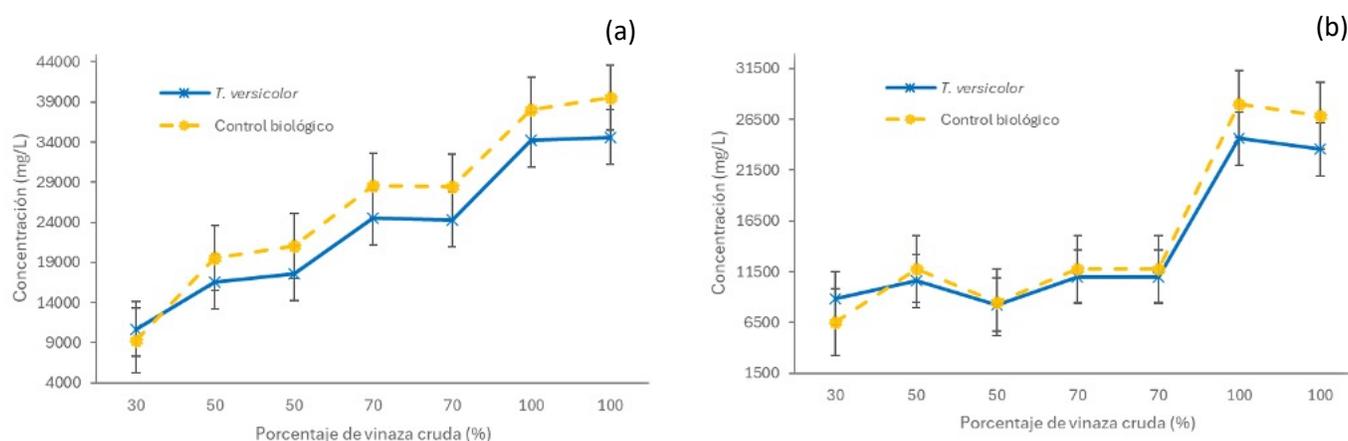


Figura 3. Comportamiento de la (a) DQO y la (b) DBO<sub>5</sub> a lo largo del tratamiento de las vinazas tequileras con el hongo *Trametes versicolor*

Respecto a los SDT y la CE, el comportamiento puede apreciarse en la Figura 4. Como era esperado, en ambas figuras se observa la clara tendencia de incremento conforme se aumentó la concentración de las vinazas, pasando de valores de 5,000 hasta casi 30,000 mg/L para el caso de los SDT y de aproximadamente 1,200 hasta los poco más de 7,000  $\mu\text{S}/\text{cm}$  para la conductividad. Además, se aprecia claramente que el tratamiento con el hongo siempre permitió que ambos parámetros disminuyeran en comparación con el control biológico, además de que los porcentajes de remoción fueron muy homogéneos independientemente de la concentración de la vinaza, lo que a su vez le confiere al hongo la propiedad de mantener un cierto nivel de remoción de estos parámetros. Por otro lado, estadísticamente no existió diferencia significativa entre tratamientos ( $p > 0.05$ ) y nuevamente se observa una clara tendencia de remoción en los tratamientos con el hongo. En promedio, los porcentajes de remoción que se obtuvieron fueron de 19.81% y de 14.33%, para los SDT y la CE, respectivamente. Otros estudios sobre tratamiento de vinazas con hongos ligninolíticos han obtenido porcentajes de remoción muy similares. Por ejemplo, Kumar *et al.* (2008) en su estudio sobre biorremediación y decoloración de melazas con diferentes consorcios bacterianos y hongos, obtuvieron una remoción de SDT de 19.27% y 14% con las dos especies de hongos (ambos del género *Aspergillus*). Además, es importante hacer notar que las pruebas de biorremediación y decoloración se hicieron con melazas enriquecidas o suplementadas con compuestos benéficos para los hongos, como la glucosa o el fosfato monopotásico, lo que sin duda debió ayudar en la obtención de los porcentajes de remoción logrados. En el caso de nuestro estudio, como ya se comentó, sólo se ajustó el pH inicial de valores promedio de 3.74 a 4.52 unidades, lo que refuerza la importancia de este estudio al hacer uso de las vinazas totalmente crudas. En lo que respecta a la conductividad, Romanholo-Ferreira *et al.* (2011) hicieron un estudio en el que utilizaron hongos del género *Pleurotus* para biodegradar y decolorar vinazas. Encontraron que la CE disminuyó en un 18.07%, lo cual es similar al porcentaje logrado en este estudio.

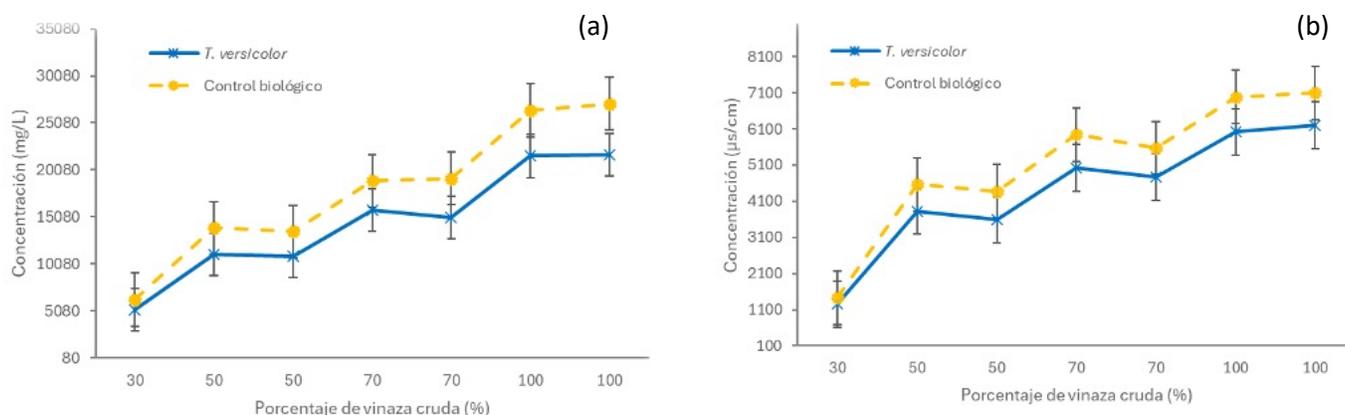


Figura 4. Comportamiento de los (a) SDT y la (b) CE a lo largo del tratamiento de las vinazas tequileras con el hongo *Trametes versicolor*

Finalmente, la reducción en el color aparente y verdadero tampoco fue significativa ( $p > 0.05$ ). En la Figura 5 se observa básicamente el mismo comportamiento que en los demás parámetros, es decir, un incremento en los dos parámetros conforme se incrementó la concentración de la vinaza. De igual manera se aprecia que en los tratamientos con el hongo siempre se registró una menor concentración del color aparente y verdadero. Esto era esperado considerando que el color está directamente relacionado con los sólidos disueltos y con la materia orgánica, por lo que al disminuir ambos lo mismo ocurre con el color. El color en las vinazas se debe a la presencia de melanoidinas (Ferreira, 2009; Romanholo-Ferreira *et al.*, 2011; Wadt, 2008) que son polímeros de alto peso molecular formados en la reacción de Maillard y compuestos fenólicos. Además, estas sustancias comúnmente son tóxicas para los microorganismos usados en procesos de tratamiento, tienen propiedades antioxidantes y son altamente recalcitrantes (Chandra *et al.*, 2008; Migo *et al.*, 1993; Mohana *et al.*, 2009; Naik *et al.*, 2008; Pérez *et al.*, 2006; Romanholo-Ferreira *et al.*, 2011). En cuanto al impacto que el color tiene en el ambiente, las vinazas puede bloquear la penetración de la luz del sol en los cuerpos de agua, reduciendo así la fotosíntesis y con ello mermando la concentración de oxígeno disuelto, lo que afectaría a los organismos acuáticos (Kumar *et al.*, 2008). De ahí la importancia de que estos parámetros disminuyeran, lo cual ocurrió en un 22.46% para el aparente y en un 24.13% para el verdadero. Probablemente, la remoción de color en los tratamientos con el hongo se debió a procesos como la adsorción en el micelio (Ziaei-Rad *et al.*, 2020) así como a la actividad enzimática señalada en el apartado de la materia orgánica (Díaz *et al.*, 2022). Por último, cabe mencionar que el hongo permaneció viable durante la experimentación, pues la prueba de viabilidad con FDA resultó positiva al presentar la coloración verde característica de esta prueba (Fig. 1d).

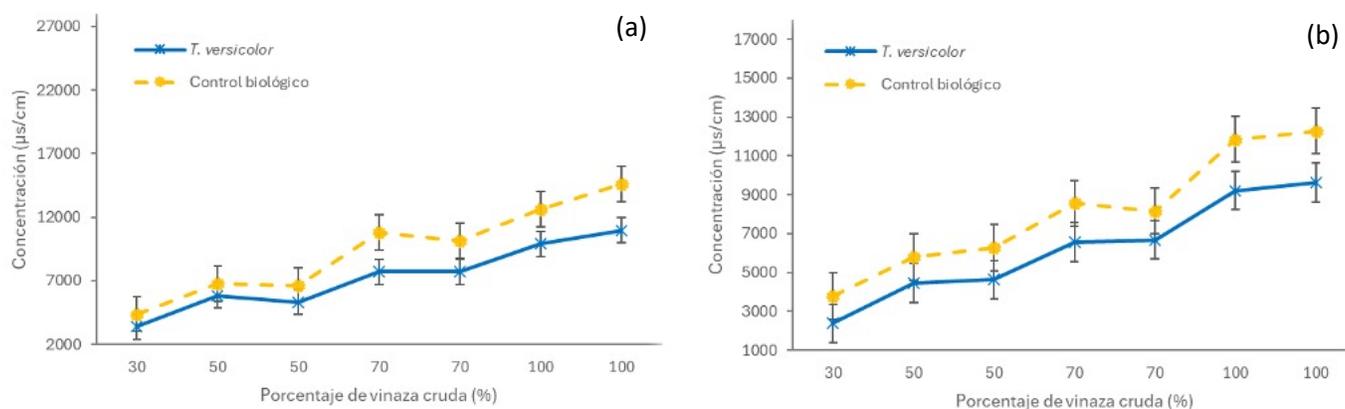


Figura 5. Comportamiento del (a) color aparente y (b) verdadero a lo largo del tratamiento de las vinazas tequileras con el hongo *Trametes versicolor*

## Conclusiones

En esta evaluación preliminar cuyo objetivo fue evaluar si el hongo ligninolítico *Trametes versicolor* podría sobrevivir y reducir la carga contaminante de vinazas tequileras crudas, se evidenció la ya probada capacidad de estos microorganismos para tratar aguas industriales de difícil manejo como las vinazas tequileras. Una de las aportaciones más importantes del estudio, fue exponer al hongo a vinazas tequileras sin más acondicionamiento que el ajuste de pH y observar la tendencia de reducción de los contaminantes. Esto exhibe una de las ventajas de la micorremediación (a diferencia de sistemas con otro tipo de microorganismos); sin embargo, es claro que se requieren mayores estudios para continuar avanzando en esta línea de investigación, con la meta final de generar una tecnología alternativa para el tratamiento de las vinazas tequileras. Dichos estudios pueden incluir el aumento de los tiempos de retención y observar si con ello se logran mejores remociones de los parámetros.

### *Tendencias en el uso de los hongos ligninolíticos para el tratamiento de vinazas*

En general, los procesos de biorremediación han tomado relevancia en las últimas décadas debido a sus ventajas como una mayor amigabilidad con el medio ambiente o su menor costo de operación. En el caso de los hongos ligninolíticos, cada vez se realizan más estudios en los que se demuestra su capacidad para tratar diferentes tipos de residuos generalmente complejos. Este estudio preliminar demuestra que los hongos ligninolíticos son capaces de resistir y reducir los contaminantes presentes en las vinazas tequileras, pero aún se requieren más estudios mediante los cuales se logre incrementar la remoción de los contaminantes. Entre los factores que pueden incrementar la remoción de los contaminantes se encuentran los tiempos de retención más largos y la aireación de los sistemas, entre otros.

## Bibliografía

- Arora, D. S., & Sharma, K. R. (2009). Enhancement in in vitro digestibility of wheat straw obtained from different geographical regions during solid state fermentation by white rot fungi. *BioResources*, 4(3), 909-920.
- Behbahani, S. B., Kiridena, S. D., Wijayarathna, U. N., Taylor, C., Anker, J. N., & Tzeng, T. R. J. (2022). pH variation in medical implant biofilms: Causes, measurements, and its implications for antibiotic resistance. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1028560>
- Cassman, A. N., Lourenco, K. S., do Carmo, J. B., Cantarella, H., & Kuramae, E. E. (2018). Genome-resolved metagenomics of sugarcane vinasse bacteria. *Biotechnology for Biofuels*, 11(48), 1-16. <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s13068-018-1036-9>
- Chandra, R., Bharagava, R. N., & Rai, V. (2008). Melanoidins as major colourant in sugarcane molasses based distillery effluent and its degradation. *Bioresour. Technol.*, 99, 4648-4660.
- Civzele, A., Stipniece-Jekimova, A. A., & Mezule, L. (2023). Fungal ligninolytic enzymes and their application in biomass lignin pretreatment. *Journal of Fungi*, 9(7), 780. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/jof9070780>
- Díaz, A. I., Laca, A., & Díaz, M. (2022). Approach to a fungal treatment of a biologically treated landfill leachate. *Journal of Environmental Management*, 322. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.116085>
- Donlan, R. M. (2002). Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerg. Infect. Dis.*, 8, 881-890. <https://doi.org/https://doi.org/10.3201/eid0809.020063>
- Elliott, P., Ragusa, S., & Catchside, D. (1998). Growth of sulfate-reducing bacteria under acidic conditions in an upflow anaerobic bioreactor as a treatment system for acid mine drainage. *Wat. Res.*, 32(12), 3724-3730.
- Ferreira, L. F. R. (2009). *Fungi biodegradation of vinasse from industrial sugarcane processing* University of Sao Paulo-ESALQJ.
- Kumar, M. A., Abdullah, S. S., Kumar, P. S., Dheeba, B., & Mathumitha, C. (2008). Comparative study on potentiality of bacteria and fungi in bioremediation and decolorization of molasses spent wash. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 2(2), 393-400.
- Migo, V. P., Matsumura, M., Del Rosario, E. J., & Kataoka, H. (1993). Decolourization of molasses waste water using an inorganic flocculent. *J. Ferment. Bioeng.*, 75, 438-442.
- Mohana, S., Acharya, B. K., & Madamwar, D. (2009). Distillery spent wash: treatment technologies and potential applications. *Journal of Hazardous Materials*, 163(1), 12-25.
- Moran-Salazar, R. G., Sánchez-Lizárraga, A. L., Rodríguez-Campos, J., Dávila-Vázquez, G., Marino-Marmolejo, E. N., Dendooven, L., & Contreras-Ramos, S. (2016). Utilization of vinasses as soil amendment: consequences and perspectives. *Springer Plus*, 5(1). <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s40064-016-2410-3>
- Naik, N. M., Jagadeesh, K. S., & Alagawadi, A. R. (2008). Microbial decolorization of spentwash: a review. *Indian J. Microbiol.*, 48, 41-48.
- Novotny, C., Svobodova, K., Erbanova, P., Cajthaml, T., Kasinath, A., Lang, E., & Sasek, V. (2004). Ligninolytic fungi in bioremediation: extracellular enzyme production and degradation rate. *Soil Biology & Biochemistry*, 36, 1545-1551.
- Nurioglu, A. G., Catarina, A., & Esteves, C. (2015). Non-toxic, non-biocide-release antifouling coatings based on molecular structure design for marine applications. *J. Mater. Chem.*, 3, 6547-6570. <https://doi.org/https://doi.org/10.1039/C5TB00232J>
- Pérez, S. R., Savón, R. C., Diaz, M. S., & Kourouma, A. (2006). Selección de cepas de *Pleurotus ostreatus* para la decoloración de efluentes industriales. *Rev. Mex. Micol.*, 23, 9-15.
- Ramírez-Ramírez, A. A., Lozano-Álvarez, J. A., Gutiérrez-Lomelí, M., & Zurita, F. (2024). Tequila vinasse treatment in two types of vertical downflow treatment wetlands (with emergent vegetation and ligninolytic fungi). *Water*, 16. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/w16131778>
- Rodríguez-Fernández-Alba, A., Letón-García, P., Rosal-García, R., Dorado-Valiño, M., Villar-Fernández, S., & Sanz-García, J. M. (2017). Tratamiento Avanzados de aguas residuales industriales. In U. d. A. d. C. d. I. e. T. M. y. E. (CITME) (Ed.), (pp. 136). Madrid.

- Romanholo-Ferreira, L. F., Aguiar, M. M., Messias, T. G., Pompeu, G. B., Queijeiro-López, A. M., Silva, D. P., & Monteiro, R. T. (2011). Evaluation of sugar-cane vinasse treated with *Pleurotus sajor-caju* utilizing aquatic organisms as toxicological indicators. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74, 132-137. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.08.042>
- Solarska, S., May, T., Roddick, F. A., & Lawrie, A. C. (2009). Isolation and screening of natural organic matter-degrading fungi. *Chemosphere*, 75(6), 751-758. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.01.030>
- Tejeda, A., Montoya, A., Sulbarán-Rangel, B., & Zurita, F. (2023). Possible Pollution of surface water bodies with tequila vinasses. *Water*, 15(21), 3773. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/w15213773>
- Valencia-Botín, A. J., Chávez-Díaz, I. F., Zurita-Martínez, F., Tejeda-Ortega, A., & Zelaya-Molina, L. X. (2024). Plant growth-promoting and tequila vinasse-resistant bacterial strains. *Microbiology Research*, 15(3), 1144-1162. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/microbiolres15030077>
- Wadt, L. C. (2008). *Cultivo de Pleurotus spp. Em vinhaca visando a producao de biomassa e exopolissacarideos* University of Sao Paulo- CENA].
- Watanabe-Nogueira, E., Gouvea de Godoi, L. A., Marques-Yabuki, L. N., Brucha, G., & Zamariolli-Damianovic, M.-H. R. (2021). Sulfate and metal removal from acid mine drainage using sugarcane vinasse as electron donor: Performance and microbial community of the down-flow structured-bed bioreactor. *Bioresource Technology*, 330, 1-11. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124968>
- Ziaei-Rad, Z., Nickpour, M., Adl, M., & Pazouki, M. (2020). Bioadsorption and enzymatic biodecolorization of effluents from ethanol production plants. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 24. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101555>
- Zurita, F., Tejeda, A., Montoya, A., Carrillo, I., Sulbarán-Rangel, B., & Carreón-Álvarez, A. (2022). Generation of Tequila Vinasses, characterization, current disposal practices and study cases of disposal methods. *Water Air and Soil Pollution*, 14(1395), 1-16.