

**BIOENSAYOS PARA LA EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DE LA  
VINAZA: REVISIÓN SISTEMÁTICA**

**Paula Andrea Botía Arango**

**UNIVERSIDAD EL BOSQUE**

**FACULTAD DE INGENIERÍA**

**PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL**



**BOGOTÁ D.C**

**NOVIEMBRE DE 2016**

# **BIOENSAYOS PARA LA EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DE LA VINAZA: REVISIÓN SISTEMÁTICA**

**Paula Andrea Botía Arango**

**UNIVERSIDAD EL BOSQUE**

**FACULTAD DE INGENIERÍA**

**PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

**Línea de Investigación: Salud y Ambiente**

**Tipo de Investigación: Revisión Sistemática**

**Director: Möriz Velásquez Riaño**

**BOGOTÁ**

**NOVIEMBRE DE 2016**

*“La Universidad El Bosque, no se responsabiliza de los conceptos emitidos por los investigadores en su trabajo, solo velará por el rigor científico, metodológico y ético del mismo en aras de la búsqueda de la verdad y la justicia”.*

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis padres, a quienes les debo todo lo que tengo, les agradezco y nunca me cansaré de hacerlo, gracias a ellos he llegado a dónde estoy y he cumplido con sueños y metas que incluso, hoy día, no lo creo. Por amarme y dar todo de sí por mi bienestar y el de mi hermano, el hecho de poder contar con un título de profesional nunca dejará de ser sino gracias a ellos y a Dios por permitirme siempre tenerlos conmigo apoyándome.

A la Universidad El Bosque por ofrecerme el espacio para desarrollar y adquirir conocimientos no solo para mi vida profesional, sino para mi crecimiento como persona a través de mi tiempo como estudiante.

A Möritz Velásquez, por su paciencia y comprensión frente a mi situación. Gracias por tomarse el tiempo para realizar el trabajo, incluso de tomarse días de descanso para esto, por guiarme frente al desarrollo y estructuración de este, aprendí realmente del tema tratado; sin él, la presentación y desarrollo de este trabajo de grado no hubiera sido posible.

A Carlos Quintero, por brindarme las herramientas y lineamientos necesarios para el adecuado desarrollo y la presentación de mi trabajo de grado y su vez, por su paciencia y disposición frente a mis frecuentes dudas frente a fechas y entregas.

A Patrice Naudin, porque sin él no hubiera podido ubicarme y acoplarme al reto de vivir en el extranjero, gracias a él logré tener clara mi situación en la Universidad anfitriona en el exterior.

*Para Carlos y María Elena, gracias a ellos he llegado a  
convertirme en la persona que soy.*

## TABLA DE CONTENIDO

<b>1. Resumen</b> .....	8
<b>2. Introducción</b> .....	8
<b>3. Planteamiento del problema</b> .....	9
3.1 <i>Pregunta De Investigación</i> .....	9
<b>4. Justificación</b> .....	10
<b>5. Objetivos</b> .....	10
5.1 <i>Objetivo general</i> .....	10
5.2 <i>Objetivos específicos</i> .....	10
<b>6. Marco teórico</b> .....	10
6.1 <i>Marco de antecedentes</i> .....	10
6.2 <i>Marco conceptual</i> .....	12
6.2.1 <i>Producción de etanol</i> .....	12
6.2.2 <i>Vinaza</i> .....	12
6.2.3 <i>La vinaza como contaminante</i> .....	13
6.2.4 <i>Ecotoxicología</i> .....	14
<b>7. Metodología</b> .....	15
7.1 <i>Diseño de investigación</i> .....	15
7.2 <i>Metodología de investigación y de trabajo</i> .....	15
<b>8. Resultados</b> .....	18
<b>9. Análisis y discusión de resultados</b> .....	25
<b>10. Conclusiones</b> .....	29
<b>11. Recomendaciones</b> .....	30
<b>12. Bibliografía</b> .....	30
<b>13. Autoevaluación estudiante</b> .....	34

### **Lista de tablas**

<b>Tabla 1</b> <i>Composición química típica de la vinaza.</i> .....	<b>13</b>
<b>Tabla 2</b> <i>Criterios de inclusión y exclusión.</i> .....	<b>17</b>
<b>Tabla 3</b> <i>Matriz metodológica</i> .....	<b>18</b>
<b>Tabla 4</b> <i>Matriz Comparativa de estudios de evaluación la toxicidad de la vinaza</i> .....	<b>22</b>

### **Lista de figuras**

<b>Figura 1</b> <i>Metodología investigación y trabajo</i> .....	<b>17</b>
--	-----------

# BIOENSAYOS PARA LA EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DE LA VINAZA: REVISIÓN SISTEMÁTICA

## 1. Resumen

La disposición inadecuada e indiscriminada de la vinaza de caña de azúcar en los suelos y cuerpos de agua ha recibido atención desde hace décadas, debido a los problemas ambientales asociados a esta práctica. La vinaza, es el subproducto final de la destilación de biomasa, principalmente para la producción de etanol, utilizando como materia prima la caña de azúcar. Esta revisión tiene como objetivo, comparar a partir de una revisión sistemática los diferentes bioensayos para la evaluación de la toxicidad de la vinaza realizados a nivel mundial durante los últimos 21 años, no sólo con el fin de analizar los datos disponibles sobre el tema, sino además, contribuir a la actualización del mismo. En el presente trabajo, se analizaron los artículos que realizaron una evaluación en los efectos tóxicos que tiene la vinaza sobre organismos de diferentes cadenas tróficas como bacterias, microalgas, microcrustáceos, peces, plantas entre otros. Se puede establecer, por medio de la comparación de las  $CL_{50}$ , que el bioensayo más sensible para evaluar la toxicidad en la vinaza, es el realizado con organismos pertenecientes a la familia Daphniidae, en especial las especies: *Ceriodaphnia dubia* y *Daphnia magna*. Con este tipo de estudios, se hace evidente que la utilización de una serie de bioensayos constituye una herramienta disponible y valiosa en la identificación, monitoreo y control de la introducción de contaminantes tóxicos potenciales en el ambiente. Se puede afirmar que es mejor utilizar organismos cultivados en el laboratorio con el fin de desarrollar y seguir pruebas estandarizadas.

## 2. Introducción

Los procesos de contaminación afectan no solo a la salud humana sino además amenaza la integridad de los ecosistemas ocasionando daños irreversibles. Sin embargo, el deterioro ambiental se hace más evidente en el agua, donde los ecosistemas acuáticos son los receptores de sustancias de actividades industriales, domésticas y de agricultura. Estos ecosistemas son capaces de asimilar e incluso neutralizar el tóxico de estas sustancias, siempre y cuando no excedan su capacidad de depuración. Debido a su papel en la naturaleza, los efluentes industriales vertidos en el medio ambiente son la causa de diferentes impactos debido a los sólidos en suspensión, materia orgánica, toxicidad, color, turbidez, pH entre otros (Ferreira et al., 2011). Las sustancias que pueden afectar la salud y el medio ambiente cada año van en aumento, además estas sustancias pueden encontrarse en concentraciones tan bajas que no son detectables con los métodos químicos convencionales (Bello & López de Cerain, 2001).

Debido a la alta demanda energética en el mundo, investigaciones sobre fuentes renovables de energía, como la producción de bioetanol, ha captado la atención de un amplio grupo de investigadores. (Delgado, 2002). El proceso de obtención de etanol a partir de caña de azúcar comprende la extracción del jugo de caña (rico en azúcares) y su acondicionamiento para hacerlo más asimilable por las levaduras durante la fermentación. Del caldo resultante de la fermentación debe separarse la biomasa, para dar paso a la concentración del etanol mediante diferentes operaciones unitarias y a su posterior deshidratación, forma en que es utilizado como aditivo oxigenante. El jarabe de glucosa resultante es el punto de partida para la fermentación alcohólica donde se obtiene una solución acuosa de etanol que debe ser enviada a la etapa de recuperación de producto, tal como en el caso de la caña de azúcar (Cardona y cols, 2005)



De este proceso, se pueden llegar a generar subproductos los cuales se consideran altamente tóxicos para el medioambiente, es el caso de la vinaza, rica en nutrientes, principalmente materia orgánica, sales y ácidos. Es estimando que por cada litro de etanol, se obtienen de 3 a 14 litros de vinaza, dependiendo de los materiales y equipos usados al momento de la destilación (Botelho et al 2012; Barba Ho & García, 2012). Características como un pH ácido (4–5 unidades), altas concentraciones de color, alta demanda química de oxígeno (DQO) (50.000–150.000 mg.L<sup>-1</sup> de O<sub>2</sub>), altas concentraciones de sólidos y la presencia de fenoles, hacen de la vinaza, un efluente potencialmente contaminante para los ecosistemas naturales si su descarga se hace sin ningún tratamiento previo (Barba Ho & García, 2012).

Es por esto, que se hace necesaria la evaluación de los parámetros fisicoquímicos en el agua. Un instrumento alternativo y que complementa los tradicionales análisis físicos y químicos, es la determinación de la toxicidad de efluentes por medio de bioensayos, ya que los organismos vivos pueden presentar diferentes respuestas fisiológicas a determinadas concentraciones de estos subproductos. Estos bioensayos han cobrado importancia debido a que sirven como criterio de decisión para el manejo y la disposición final de estas sustancias (Navarro y cols., 2006).

Por lo anterior, en el presente trabajo, se presenta un análisis sistemático integral de los diferentes bioensayos para la evaluación de la toxicidad de la vinaza realizados a nivel mundial durante los 21 últimos años. De igual manera, se busca, conocer cuál es el bioensayo más sensible para determinación de la toxicidad de este efluente, de manera que ésta información pueda ser útil tanto en el campo industrial (para la toma de decisiones en cuanto al manejo y disposición final de este efluente) y en el campo académico para analizar los vacíos, retos y tendencias en esta temática de estudio.

### **3. Planteamiento del problema**

La descarga de vinaza en el ambiente, puede causar la proliferación de microorganismos nocivos que disminuyen el oxígeno disuelto en el agua, causando la muerte de otros organismos y plantas acuáticas benéficas, haciendo que esos acuíferos sean más difíciles de utilizar como fuentes de agua potable. Además, este efluente industrial, puede propiciar la liberación de olores desagradables y así contribuir a diseminar enfermedades endémicas como la malaria por el aumento de vectores atraídos por esos olores. La vinaza de caña también puede ser una fuente significativa de gases de efecto invernadero (GEI) a la atmósfera. Estas emisiones pueden resultar de la descomposición aeróbica y anaeróbica de la materia orgánica contenida en este contaminante, que puede ocurrir durante el transporte, el almacenamiento temporal o incluso después de la aplicación al suelo.

#### *3.1 Pregunta De Investigación*

¿Cuál es el bioensayo más sensible para la determinación de la toxicidad de la vinaza?

## 4. Justificación

El desarrollo de este estudio, hará posible analizar de una manera sistemática, los diferentes bioensayos propuestos para evaluar la toxicidad de la vinaza a nivel mundial en los últimos 21 años. A su vez, los resultados podrán ser útiles en distintos campos y disciplinas como la toxicología ambiental y la ingeniería ambiental, ya que para una eficiente disposición final de este subproducto, se necesita conocer que tan tóxico puede llegar a ser para diferentes matrices ambientales, ya que los parámetros tradicionales físico-químicos para el análisis de la calidad de un efluente no son capaces de aportar dicha información.

## 5. Objetivos

### 5.1 Objetivo general

- Comparar mediante una revisión sistemática, diferentes bioensayos para la evaluación de la toxicidad en la vinaza realizados a nivel mundial durante los 21 últimos años.

### 5.2 Objetivos específicos

- Determinar mediante un análisis comparativo cuál es el ensayo más sensible en cuanto a la concentración letal 50 (CL<sub>50</sub>) para evaluar la toxicidad en la vinaza.
- Analizar los vacíos, retos y tendencias en cuanto a la evaluación de la toxicidad de la vinaza.

## 6. Marco teórico

### 6.1 Marco de antecedentes

Los diversos efectos que puede tener la vinaza en la salud y medio ambiente se han estudiado durante varios años, es por esto que se toman estos estudios como el marco de referencia para el desarrollo del presente trabajo.

Kumar & Gopal (2001), observaron los efectos nocivos de la vinaza de caña, ya que esta sustancia incrementó la producción de moco y redujo la cantidad de proteínas en diferentes órganos como el hígado, cerebro, riñones y músculo en el pez *channa punctatus*.

En el estudio de Pedrosa et al. (2005), fue evaluada la toxicidad de la vinaza sobre huevos de los nemátodos *Meloidogyne javanica* y *Meloidogyne incognita*, los cuales exhibieron una disminución de la densidad y de las tasas de eclosión.

El efecto de la vinaza cruda, digerida y digerida diluída (1:5 v/v) sobre la citomorfología de 11 genotipos de caña de azúcar fueron evaluados por Srivastava et al. (2012). La vinaza cruda y la vinaza digerida tuvieron un efecto sobre el índice mitótico y un amplio espectro de efectos genotóxicos adherencias y retrasos en los cromosomas, metafases-C, multipolaridad, células bi/multinucleadas, y efectos mutagénicos como ruptura de cromosomas y micronúcleos. De acuerdo a estos autores, estas alteraciones fueron causadas por altas concentraciones de K, P, S, Fe, Mn, Zn y Cu y de metales pesados como Cd, Cr, Ni y Pb, todos estos compuestos presentes en la vinaza.

Votto et al. (2010), reportaron un incremento significativo en la aberración cromosómica en semillas de cebolla (*Allium cepa*) expuestas a muestras de suelo de terrenos de cultivo con y sin vinaza de caña. Según los autores, cuando la vinaza fue adicionada, puentes adherencias y ruptura cromosómica fue observada. Después de 33 días, los suelos que contenían vinaza causaron un efecto severo caracterizado por la presencia de múltiples rupturas cromosomales.

Siguiendo los estándares brasileiros para el uso de la vinaza y biosólidos en la agricultura, Christofolletti et al. (2013), evaluaron la genotoxicidad de este subproducto después de su degradación por diplópodos, empleando como organismo de ensayo *A. cepa*. Estos autores observaron que la vinaza de caña ocasionó efectos genotóxicos sobre células merismáticas en el organismo de ensayo, incluso después de su degradación por parte de los invertebrados.

A lo largo de los años se han planteado varias alternativas tanto biológicas como físico-químicas para el uso y degradación de las vinazas, estas estrategias incluyen, la producción de energía (metano) como en el caso de biodigestores anaerobios (Marques et al., 2013; Choeisai et al., 2014; Formagini et al., 2014), y la producción de biomasa microbiana o de algún metabolito de interés (Marques et al., 2013; Nitayavardhana et al., 2013; Sydney et al., 2014). Sin embargo, son pocos los estudios que han incluido parámetros de análisis de la toxicidad de esta sustancia después de realizado el tratamiento; de hecho, en la literatura se encuentra solamente el estudio de Grossi-Bothelho et al. (2012) y el estudio de Ferreira et al. (2011). En el ensayo realizado por Bothelho et al. (2012) se evaluó la toxicidad de la vinaza sobre cladoceros y peces antes y después de un ajuste de pH, empleando un ensayo de toxicidad agudo. La concentración letal media (LC<sub>50</sub> 48h) de la vinaza antes del ajuste de pH para *Ceriodaphnia dubia* y *Daphnia magna* obtenida por los autores fue de 0,67 y 0,80% respectivamente, y la concentración letal media (LC<sub>50</sub> 96h) para *Danio rerio* fue de 2,62%. Después del ajuste de pH, los valores incrementaron para todos los organismos evaluados, demostrando un descenso en la toxicidad. En el segundo estudio, se hizo una evaluación del tratamiento de vinazas con *Pleorotus sajor-caju* empleando *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Daphnia magna*, *Daphnia similis* e *Hydra attenuata* como indicadores toxicológicos. Este trabajo concluyó que el tratamiento propuesto permite tanto la reducción del color como la degradación de compuestos complejos y a su vez, permite la disminución de la toxicidad de la vinaza.

## **6.2 Marco conceptual**

### **6.2.1 Producción de etanol**

Las fuentes con alto contenido de azúcares como la glucosa, la fructosa, la galactosa y la sacarosa son materias primas que poseen un alto contenido de azúcares simples y fermentables. Las más importantes incluyen caña de azúcar, frutas, melazas, tubérculos y azúcar de remolacha. La ventaja de utilizar este tipo de fuentes consiste en que no es necesario realizar tratamientos previos para obtener los azúcares fermentables, ya que estos se encuentran presentes (Arteaga y cols., 2013).

En países productores de caña de azúcar, las melazas, son utilizadas en su mayoría como materia prima para producir etanol empleando levaduras alcoholeras. La demanda actual de etanol carburante en el mercado internacional, dado el incremento en el precio del petróleo, es mayor que la oferta de etanol producido únicamente a partir de melazas (Rolz & Fajardo, 2008). Las melazas, son jarabes oscuros con una alta viscosidad, las cuales son un subproducto resultante del proceso de refinación del azúcar; que contienen más de 43% de azúcares. Existen al menos seis tipos de melazas, las cuales pueden ser empleadas para fermentación alcohólica: la de caña de azúcar, high-test, refiners cane molasses, remolacha, refiners beet molasses y las cítricas (Arteaga y cols., 2013).

El rendimiento del etanol absoluto a partir de la caña fresca puesta en fábrica depende del contenido inicial de azúcares fermentables en la caña y de la eficiencia del proceso, pero esto, se estima que se obtiene entre 70 a 95 litros por tonelada (Rolz & Fajardo, 2008). Una tonelada de caña contiene alrededor de 120 kg de sacarosa, de las que aproximadamente 83% (100 kg) se recuperan en la producción de azúcar. Los 20 kg restantes van a parar a las melazas. Si se emplean los jugos secundarios directamente (aproximadamente 40% de los azúcares) para la producción de etanol, alrededor de 4.8 ton de sacarosa serán convertidas en 2666 L de etanol, sin contar con las ventajas adicionales de una mayor calidad del azúcar producido y cantidades significativas de bagazo sobrante para la generación de energía eléctrica renovable (Otero-Rambla y cols., 2009).

### **6.2.2 Vinaza**

Todos los líquidos susceptibles a sufrir una fermentación son denominados mostos. Una vez fermentado un mosto de melaza de caña de azúcar, pasa a llamarse vino, el que puede ser destilado posibilitando la recuperación del alcohol, dejando un residuo, que es la vinaza. En este contexto, uno de los puntos más críticos y poco discutidos con respecto a los impactos negativos de la caña de azúcar, es con respecto a la generación de vinaza (Ferreira, 2009; Marinho et al., 2013).

La vinaza es producida en muchos países a nivel mundial, así que la materia prima puede variar: caña de azúcar, en Sur América e India; remolacha, vino y frutas en Europa; maíz en Norte América (Marinho et al. 2013). Como características principales se encuentra que tiene un bajo pH (4 a 4,8 unidades de pH),

de color oscuro, con altos valores de Demanda Biológica de Oxígeno (DBO) (42000-100000 mg/L) y DQO (10000-210000 mg/L) y con un olor fuerte característico. Aproximadamente, se producen entre 3 y 14 litros de vinaza por cada litro de alcohol producido y su composición varía de acuerdo con la materia prima y los equipos utilizados en procesos para la obtención del alcohol (Ferreira, 2009).

En general, este efluente consiste básicamente de agua (93%) y de sólidos orgánicos y minerales (7%). Como ya se ha mencionado tiene altos niveles de materia orgánica, pero es baja en N y P. El principal componente de la vinaza, procedente de remolacha, caña de azúcar, o el maíz, es la materia orgánica en forma de ácidos orgánicos y cationes tal como K, Ca y Mg (Tabla 1) (Christofolletti et al., 2013).

*Tabla 1. Composición química típica de la vinaza.*

Parámetros	Vinaza		
	Caña de azúcar	Uva (vino)	Remolacha
pH	3,9	2,9	5,1
DBO	5046	18900	783000
DQO	13380	Na	Na
Potasio	2056	118-800	10000-10030
Sodio	50,2	Na	3,79
Sulfatos	710	120	0,62
Calcio	719	Na	0,71
Magnesio	237	Na	1,23
Fósforo	190	83	91
Dureza	2493	Na	na

Todos los valores excepto el pH están en mg/L (Christofolletti et al., 2013).

### 6.2.3 La vinaza como contaminante

#### 6.2.3.1 Ecosistemas acuáticos

Históricamente, hasta la década de los 70's, los crecientes volúmenes de vinaza eran descargarlos sin ningún tratamiento previo en ríos, principalmente situados cerca de cultivos de caña de azúcar y refinerías de etanol. Debido a sus impactos negativos, la vinaza se empezó a considerar altamente tóxica para la biota presente en los lugares de descarga. La vinaza tiene un alto potencial de contaminación, aproximadamente cien veces más que las aguas residuales domésticas, debido a la alta carga orgánica contenida, causando principalmente un agotamiento del oxígeno, ocasionando la proliferación de microorganismos, lo que hace más difícil el uso de estos cuerpos de agua como fuentes de agua potable. Además, la descarga de vinaza en los cuerpos de agua libera un olor desagradable y contribuye a la difusión de enfermedades endémicas tales como la malaria por la proliferación de vectores atraídos por estos olores (Christofolletti et al., 2013).

### 6.2.3.2 Ecosistemas terrestres

La vinaza de caña de azúcar puede ser una fuente importante de emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) a la atmósfera. Estas emisiones pueden resultar de la descomposición aeróbica y anaeróbica de la materia orgánica en la vinaza que se produce durante el transporte, almacenamiento temporal o incluso después de la aplicación al suelo. En un estudio reciente, Carmen et al. (2012), observaron que debido a la aplicación de vinaza a la caña de azúcar campos en Brasil, hubo un incremento significativo en las emisiones de gases de efecto invernadero, especialmente el N<sub>2</sub>O. Estos autores también observaron que la presencia de la paja en la superficie del suelo, incrementaron las emisiones de CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O y no influyó en los flujos de CH<sub>4</sub> resultantes de la vinaza.

### 6.2.4 Ecotoxicología

El término Ecotoxicología fue propuesto por Truhaut en 1969, como una extensión natural de la Toxicología (ciencia que estudia los efectos de las sustancias tóxicas sobre los organismos individuales), refiriéndose a los efectos ecológicos importantes de los contaminantes: la toxicidad directa sobre los organismos y las alteraciones del medio ambiente en el cual viven los organismos (Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático, 2009). Esta disciplina está fundamentada en el principio de que la respuesta de los organismos vivos depende de la dosis del tóxico a la que fueron expuestos, del tiempo de exposición, de la edad y de las condiciones de salud de los organismos (Ferreira, 2009). Por lo cual, su principal objetivo es determinar el efecto que produce uno o varios compuestos químicos (presuntamente tóxicos) a los organismos de una determinada especie, así como su capacidad de acumulación en sus tejidos, y en general, su comportamiento en el medio natural (Gallego, 2003).

Es por esto, que la ecotoxicología tiene una metodología experimental propia para la evaluación de los efectos de los contaminantes. Los test de toxicidad son realizados en condiciones estándar, en las cuales los organismos de ensayo, son expuestos en el laboratorio, a diferentes concentraciones de las sustancias que se desean evaluar, las cuales contienen uno o varios contaminantes. Es por esto que se lleva a cabo un diagnóstico evaluativo, que tiende a la predicción y se fundamenta en tres parámetros: a) la determinación de la dosis del ambiente, b) evaluación de la carga y c) predicción del riesgo (Ferreira, 2009; Capó, 2007).

Los organismos utilizados para la evaluación de la toxicidad pueden ser de diferentes niveles tróficos y/o funcionales, preferentemente pertenecientes a los niveles tróficos estandarizados en todo el mundo. Por ejemplo, los productores primarios representados por *Lactuca sativa* y *Pseudokirchneriella subcapitata*, los consumidores primarios como *Daphnia magna* y *Daphnia similis* y los consumidores secundarios como *Hidra attenuata* y *Ranhus Chironomus*. La importancia de la utilización de más de una especie se basa en la información de que ninguna especie es sensible a todas las sustancias tóxicas que existen a nivel mundial y su sensibilidad varía de acuerdo con el tóxico y condiciones ambientales (Ferreira, 2009; Capó, 2007).

La evaluación de la toxicidad por medio de un bioensayo se puede expresar en diferentes unidades, siendo una de las más comunes la concentración letal media (CL<sub>50</sub>), la cual corresponde a la concentración de un xenobiótico que causa la muerte al 50 % de la población experimental al cabo de un tiempo determinado, generalmente en 48 o 96 horas (Rodríguez y Esclapés, 1995)

## **7. Metodología**

### ***7.1 Diseño de investigación***

La presente revisión sistemática tiene un enfoque cualitativo, ya que por medio de un análisis y recolección de información secundaria, se realizó una descripción e interpretación de los datos, a través del desarrollo y estructuración de una matriz comparativa, los cuales fueron organizados en orden cronológico con las diferentes variables seleccionadas. Estas variables, fueron definidas como prioritarias según los parámetros más comunes definidos por los autores de cada uno de los estudios objeto de la revisión.

Para el desarrollo del presente documento, se procedió a hacer uso de diferentes herramientas de búsqueda como lo son la Biblioteca Virtual de la Universidad El Bosque (Juan Roa Vásquez) y de la Google Scholar. Para esto, se usaron diferentes criterios de búsqueda como “vinaza”, “tratamiento de vinaza”, “toxicidad en la vinaza”, “efluentes de destilería” y sus correspondientes en inglés y portugués.

### ***7.2 Metodología de investigación y de trabajo***

Para el desarrollo de la investigación y recolección de los estudios a analizar y evaluar, se procedió a hacer uso de las herramientas de búsqueda anteriormente mencionados (Biblioteca virtual Juan Roa Vásquez y Google Scholar). Al ser un tema tan poco estudiado, no se hizo una selección de bases de datos específicas; sin embargo, se observó que la mayoría de los estudios elegidos para el desarrollo del presente trabajo, se encuentran la base de datos Science Direct y que a su vez se pueden encontrar en la red académica ResearchGate. Otras herramientas utilizadas para la búsqueda y selección de estudios fueron: Springerlink, Redalyc, Wiley Online Library.

Después de una primera búsqueda y en vista de que el número de artículos y estudios realizados con relación a la toxicidad en la vinaza era de cierta manera reducido para realizar un análisis comparativo adecuado, se revisaron también las referencias bibliográficas de los artículos ya elegidos con el fin de recolectar más información respectiva al tema.

El proceso llevado para el desarrollo del trabajo se puede dividir en tres grandes etapa o procesos, que a su vez se dividen en otros procesos, explicados con más detalles en la Figura 1.

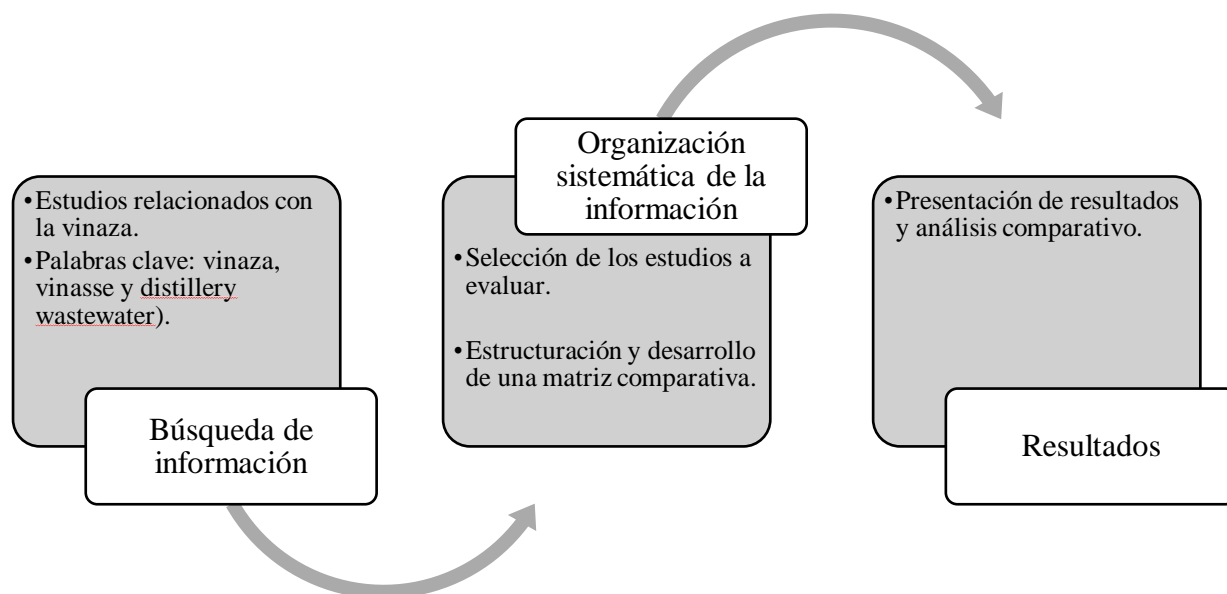


Figura 1: Metodología investigación y trabajo

La primer etapa, fue la de la búsqueda de la información, anteriormente ya explicada, donde se realizó de igual manera la elección de los artículos a analizar, para esto se eligieron como términos de búsqueda “vinaza, “tratamiento de la vinaza”, “toxicidad en la vinaza” y sus equivalentes en inglés y portugués. Además, en esta etapa se definieron unos criterios de inclusión y exclusión para la elección de los estudios (Tabla 2).

Tabla 2. Criterios de inclusión y exclusión.

Criterios de inclusión	Criterios de exclusión
<ul style="list-style-type: none"> <li>Estudios sobre vinaza cruda o tratada que provenga de la caña de azúcar y en los que se realicen bioensayos de toxicidad.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Estudios sobre vinaza cruda o tratada pero que no realicen bioensayos de toxicidad.</li> <li>Estudios de la vinaza que proviene de otras fuentes diferentes a la caña de azúcar.</li> </ul>

Por otra parte, la segunda etapa, se organizó sistemáticamente la información, seguida a su vez por la estructuración y desarrollo de la matriz de comparación en donde se organizaron los artículos por su orden cronológico y sus respectivas variables: cambio en los valores de DBO y DQO, pH y toxicidad. Por último, en la tercer y última etapa, se presenta el análisis y discusión de los resultados más sobresalientes (Tabla 3).

Tabla 3. Matriz metodológica



Objetivo general	Objetivo Específico	Actividades	Metodología	Resultados esperados
Comparar a partir de una revisión sistemática los diferentes bioensayos para la evaluación de la toxicidad de la vinaza realizados a nivel mundial durante los últimos 21 años.	Determinar mediante un análisis comparativo el ensayo más sensible para evaluar la toxicidad en la vinaza a nivel mundial durante los últimos 21 años.	Elección de bases de datos correctas para la obtención de información adecuada.	Selección de bases de datos por medio de Google Scholar y de la plataforma virtual de la biblioteca Juan Roa Vásquez.	Bases de datos o sitios de búsqueda.
		Elección de posibles documentos útiles para el desarrollo del trabajo.	Búsqueda de documentos en las bases de datos elegidas, que cumplan con los criterios de búsqueda como como “vinaza”, “tratamiento de vinaza”, “toxicidad en la vinaza”, “efluentes de destilería” y sus correspondientes en inglés y portugués.	Documentos para su posterior evaluación según los términos de inclusión.
		Definición de términos.	Determinar los términos de inclusión y exclusión para los parámetros a trabajar en el análisis comparativo.	Obtención de términos de inclusión y exclusión
		Aplicación de términos de inclusión y exclusión a los documentos anteriormente elegidos.	Selección de documentos a trabajar mediante una revisión meticulosa cada uno de estos, aplicando los términos ya establecidos.	Elección y organización de documentos a comparar con el fin de proceder a un análisis comparativo.
		Organización sistemática de la información	Leer documentos y revisar parámetros en común para el desarrollo de la matriz comparativa.	

		Desarrollo de la matriz comparativa.	Estructuración de la matriz por medio de la elección de parámetros en común entre los documentos anteriormente elegidos	Matriz comparativa
		Desarrollar un análisis comparativo de una manera detallada entre cada uno de los documentos elegidos, en base a la matriz anteriormente estructurada.	Comparación entre los documentos elegidos según la lectura cada uno, además de la matriz comparativa.	Análisis y discusión de resultados.
	Analizar los vacíos, retos y tendencias en cuanto a la evaluación de la toxicidad de la vinaza.	Análisis de cada uno de los documentos encontrados a lo largo del desarrollo del presente trabajo.	Comparar y analizar cada documento de manera que sea fácil la identificación de los vacíos, retos y tendencias que se pueden llegar a presentar en los documentos estudiados con respecto al tema.	

## 8. Resultados

Se realizó una minuciosa búsqueda de estudios relacionados con la toxicidad en la vinaza, por medio de Google Scholar y por la plataforma virtual ofrecida por la biblioteca Juan Roa Vásquez, de la Universidad El Bosque (Bogotá - Colombia). Al ser un tema tan poco estudiado, no se hizo una selección de bases de datos específica; sin embargo, se observó que la mayoría de los estudios elegidos para el desarrollo del presente trabajo, se encuentran la base de datos Science Direct y que a su vez se pueden encontrar en la red académica ResearchGate. Otras herramientas utilizadas para la búsqueda y selección de estudios fueron: Springerlink, Redalyc, Wiley Online Library. Todos los resultados fueron organizados sistemáticamente en una matriz comparativa (Tabla 4) teniendo en cuenta las variables mencionadas previamente en la metodología.

Al finalizar con la búsqueda según los términos de búsqueda anteriormente planteados, se obtuvieron 33 artículos, los cuales estaban relacionados con la vinaza, su tratamiento y/o toxicidad. Para la elección de los artículos finales a trabajar, fue necesaria, la aplicación de los términos de inclusión y exclusión (Tabla 2) teniendo como resultado la elección de 16 artículos científicos, 11 en inglés, 3 en portugués y 2 en español.

Con respecto a la evaluación de la toxicidad de la vinaza procedente de caña de azúcar, solamente 4 países están liderando estos estudios a nivel mundial, en su orden: Brasil, Colombia, India y México. Se encontraron 7 artículos realizados en India (Kumar et al., 1995; Kumar & Gopal, 2001; Ramana et al., 2002; Ramakritinan et al., 2005; Kannan & Upreti, 2008; Santana & Machado, 2008; Doke et al., 2011), 6 en Brasil (Ferreira et al., 2011; Botelho et al., 2012; Marinho et al., 2013; Correia et al., 2015a; Correia et al., 2015b; Guerreiro et al., 2016), 2 en Colombia (Barba Ho & García, 2012; Paz-Pino et al., 2014) y 1 en México (Navarro y cols., 2006).

Como se mencionó anteriormente en los criterios de inclusión, se seleccionaron estudios cuyo objetivo principal fue evaluar bioensayos para determinar la toxicidad de la vinaza y estudios en donde el propósito principal fue degradar la vinaza por algún método físico, químico o biológico o por una combinación de los anteriores e incluyeron dentro de sus parámetros de evaluación algún ensayo de toxicidad. Dentro del segundo grupo, se encuentra la mayoría de artículos analizados (Kumar et al., 1995; Kannan & Upreti, 2008; Santana & Machado, 2008; Ferreira et al., 2011; Botelho et al., 2012; Barba Ho & García, 2012; Paz-Pino et al., 2014; Correia et al., 2015a; Correia et al., 2015b; Guerreiro et al., 2016), los cuales, además de evaluar la toxicidad de la vinaza, también tuvieron en cuenta parámetros físico-químicos, como el pH, la DBO y la DQO.

Se observó, que el tratamiento para la vinaza más común, fue el ajuste de pH (Botelho et al., 2012; Correia et al., 2015a; Correia et al., 2015b), a pesar de haber aplicado el mismo concepto de tratamiento, cada uno de los autores utilizó su propia metodología; Botelho et al. (2012), ajustaron el pH de la vinaza hasta 7 usando hidróxido de sodio (NaOH), con el cual lograron obtener una disminución en la toxicidad de la vinaza, reflejada en el aumento del porcentaje de la CL<sub>50</sub> de los organismos utilizados en este estudio. Pese a estos resultados, (Correia et al., 2015a; Correia et al., 2015b) llegaron a este pH por medio de la adición de cal (CaO) a la vinaza; el cual, aunque no fue estable, disminuyó también la toxicidad del efluente.

Para los demás estudios, se usaron metodologías como el tratamiento anaeróbico (Kannan & Upreti, 2008; Barba Ho & García, 2012), el sistema foto Fenton u oxidación Fenton (Barba Ho & García, 2012; Guerreiro et al., 2016), la fotocatalisis (Santana & Machado, 2008), la electrocoagulación (Paz-Pino et al., 2014) y la decolorización con *Pseudokirchneriella subcapitata* (Ferreira et al., 2011).

De acuerdo a los autores, que presentaron entre sus resultados porcentajes de remoción de DBO y DQO, se puede afirmar que el tratamiento de foto-Fenton acoplado a un sistema biológico anaerobio (Barba Ho & García, 2012), fue el más adecuado por la eficiente disminución de los mismos, logrando un 96% y 97% de remoción de DBO y DQO respectivamente.

Para la evaluación de la toxicidad de la vinaza, la mayoría de los autores prefirieron trabajar con microcrustáceos (Santana & Machado, 2008; Ferreira et al., 2011; Botelho et al., 2012; Barba Ho & García, 2012; Paz-Pino y cols., 2014; Guerreiro et al., 2016), luego con peces (Kumar et al., 1995; Kumar & Gopal, 2001; Ramakritinan et al., 2005; Botelho et al., 2012; Marinho, 2013; Correia et al., 2015a; Correia et al., 2015b) y por último con plantas (semillas) (Ramana et al., 2002; Navarro y cols., 2006; Kannan & Upreti, 2008; Doke, et al., 2011).

*Daphnia sp.*, fue el microcrustáceo más común utilizado en las pruebas de toxicidad evaluadas en el presente trabajo. No obstante, Ferreira et al. (2011), utilizaron también una microalga y un cnidario (*Pseudokirchneriella subcapitata* y *Hydra attenuata* respectivamente); además Guerreiro et al. (2016), quienes emplearon a la bacteria *Vibrio fisheri* como organismo de ensayo. Dentro de los peces, la especie más utilizada fue el pez cebra (*Danio rerio*) (Kumar et al., 1995; Kumar & Gopal, 2001; Ramakritinan et al., 2005; Botelho et al., 2012) y la tilapia *Oreochromis niloticus* (Marinho, 2013; Correia et al., 2015a; Correia et al., 2015b).

Los bioensayos realizados con plantas (semillas) fueron los más heterogéneos en cuanto a la especie utilizada: Kannan & Upreti (2008) y Doke et al., (2011) emplearon semillas del género de *Vigna spp.*, mientras que Ramana et al. (2002 usaron semillas de pepino (*Cucumis sativus L*), calabaza (*Lagenaria siceraria (Mol.) Standl.*), cebolla (*Allium cepa*), tomate (*Lycopersicon esculentum*), y chile (*Capsicum annum*), mientras que Navarro y cols. (2006), procedieron a hacer uso de las semillas de lechuga (*Lactuca sativa var mantecosa*), y semillas del género *Sichorium spp.*, como escarola (*Sichorium endivia var. Lisa*) y de achicoria (*Sichorium intybus var. Fina*).

Aunque, a la hora de evaluar las unidades más comunes para la expresión de los resultados de los bioensayos de la toxicidad en la vinaza, se observó que la unidad más usada fue la concentración letal media 50 (CL<sub>50</sub>) (Kumar et al., 1995; Ramakritinan et al., 2005; Santana & Machado, 2008; Ferreira et al., 2011; Botelho et al., 2012; Barba Ho & García, 2012; Paz-Pino et al., 2014), otros autores no pudieron utilizar este tipo de unidades puesto que se centraron en la evaluación de la toxicidad de la vinaza sobre tejidos y órganos diana, con los cuales el análisis de la toxicidad es muy diferente (Kumar & Gopal, 2001; Ramakritinan et al., 2005; Marinho, 2013; Correia et al., 2015a; Correia et al., 2015b).

Para cada uno de estos estudios, la vinaza resultó ser altamente tóxica para las especies de pez estudiadas. Como el estudio de Ramakritinan et al (2005), quienes trabajaron con *Cyprinus carpio* y expresaron la toxicidad en términos de reducción de carbohidrato, de glucógeno, en la actividad de LDH y en la actividad de SDH en tejidos de músculo, hígado y cerebro. Como resultado se obtuvo que bajo concentraciones del efluente, el *C. carpio* presentó una disminución en el consumo de oxígeno, lo cual puede deberse a la formación de una película de moco coagulada sobre las branquias y el cuerpo por la acción de componentes sólidos suspendidos presentes en los efluentes de la destilería, por lo que la mortalidad de peces (expresada en CL<sub>50</sub>) puede resultar de la inhibición de la transferencia de oxígeno.

En cuanto a los resultados obtenidos por Kumar et al, 1995, la intoxicación por efluentes indujo ciertos cambios de comportamiento notables en los especímenes de guppy (*Lebistes reticulatus*). Justo después de introducir los organismos de prueba en diferentes concentraciones de la solución de ensayo, mostraron un movimiento errático y sacudido rápido. El movimiento fue comparativamente mayor en mayores concentraciones de efluentes (6,75% a 16% progresivamente). Los especímenes tenían la tendencia a escapar de las soluciones de ensayo debido a condiciones desfavorables creadas por el efluente. En concentraciones inferiores de 2,85% a 5,1% de soluciones de ensayo, después del aumento inicial de actividad de natación los especímenes alcanzaron sus actividades normales como el de control, pocas horas antes de la muerte. En este estudio, al igual que los explicados anteriormente con peces, las branquias y los riñones de los especímenes también se encontraron hinchados y dañados.

Tabla 4. Matriz Comparativa de estudios de evaluación la toxicidad de la vinaza

Año	Nombre	Autores	Lugar de estudio	Proceso para tratar la vinaza	Variables y/o parámetros estudiados									Organismo usado para prueba toxicidad	Variable de toxicidad evaluado	Valor			
					pH		DBO5 (mg/L)			DQO (mg/L)			Valor			Unidad			
					Inicial	Final	Inicial	Final	% Remoción	Inicial	Final	% Remoción							
1995	Bioassay of distillery effluent on Common Guppy, <i>Lebistes reticulatus</i> (Peter)	Kumar, S., S.S. Sahay, and M.K. Sinha.	India	Sí	5	8	52000	30000	-	-	-	-	<i>Lebistes reticulatus</i>	Concentración letal 50 (CL50)	8,974 8,111 5,902 5,319	%			
2001	Impact of Distillery Effluent on Physiological Consequences in the Freshwater Teleost <i>Channa punctatus</i>	Kumar, S.; Gopal, K	India	NO	6.4	-	57000	-	-	96000	-	-	<i>Channa punctatus</i> (Concentración 100%)	Efecto en la proteína del tejido	Hígado Cerebro Riñón Músculo	4,92 ± 0,96 2,00 ± 0,02 2,65 ± 0,01 5,17 ± 0,55	mg/g de peso húmedo		
													Glucosa en la sangre y nivel de glucógeno	Glucosa en la sangre Músculo Hígado	112 ± 6,9 0,78 ± 0,02 10,7 ± 0,34				
													Nivel de ácido láctico en los tejidos	Hígado Cerebro Riñón Músculo	2,53 ± 0,21 0,79 ± 0,66 1,07 ± 0,10 4,92 ± 0,45				
													Parámetros de la sangre	RCB WBC Hemoglobina Tiempo de coagulación MCH	3,58 ± 0,14 17,0 ± 1,8 21,1 ± 0,7 96,1 ± 0,05 8,17 ± 0,07				
													Porcentaje de germinación	Pepino ( <i>Cucumis sativus L.</i> ) Calabaza ( <i>Lagenaria siceraria (Mol.) Standl.</i> ) Cebolla ( <i>Allium cepa</i> ) Tomate ( <i>Lycopersicon esculentum</i> ) Chile ( <i>Capsicum annum</i> )	38 42 48 29 52				
														Velocidad de germinación	Pepino ( <i>Cucumis sativus L.</i> ) Calabaza ( <i>Lagenaria siceraria (Mol.) Standl.</i> ) Cebolla ( <i>Allium cepa</i> ) Tomate ( <i>Lycopersicon esculentum</i> ) Chile ( <i>Capsicum annum</i> )	24 14,33 18,04 6,35 12,89			
															Peak Valor	Pepino ( <i>Cucumis sativus L.</i> ) Calabaza ( <i>Lagenaria siceraria (Mol.) Standl.</i> ) Cebolla ( <i>Allium cepa</i> ) Tomate ( <i>Lycopersicon esculentum</i> ) Chile ( <i>Capsicum annum</i> )		2,47 3,69 5,77 1,17 2,14	
																Valor de germinación		Pepino ( <i>Cucumis sativus L.</i> ) Calabaza ( <i>Lagenaria siceraria (Mol.) Standl.</i> ) Cebolla ( <i>Allium cepa</i> ) Tomate ( <i>Lycopersicon esculentum</i> ) Chile ( <i>Capsicum annum</i> )	142 262 387 63 151
2002	Effect of distillery effluent on seed germination in some vegetable crops	Ramana, A., Biswas, A.K., Kundu, S., Saha, J.K., Yadava, R.B.R	Bhopal, India	NO	4,01	-	-	-	-	-	-	-							

Continuación Tabla 4. Matriz Comparativa de estudios de evaluación la toxicidad de la vinaza

Año	Nombre	Autores	Lugar de estudio	Proceso para tratar la vinaza	Variables y/o parámetros estudiados							Organismo usado para prueba toxicidad	Variable de toxicidad evaluado	Valor			
					pH		DBO5 (mg/L)			DQO (mg/L)				Valor	Unidad		
					Inicial	Final	Inicial	Final	% Remoción	Inicial	Final					% Remoción	
2005	Impact of Distillery Effluent on Carbohydrate Metabolism of Freshwater Fish, <i>Cyprinus carpio</i> .	Ramakritinan, C., Kumaraguru, A., & Balasubramanian, M.	Tamilnadu, India	NO	3,6-5,0	-	-	15000-30000	-	20000-65000	-	-	<i>Cyprinus carpio</i>	24 h 48 h 72 h 96 h Músculo Hígado Cerebro Músculo Hígado Cerebro Músculo Hígado Cerebro Músculo Hígado Cerebro Músculo Hígado Cerebro Glucosa Ácido láctico	Concentración letal 50 (CL50) Reducción de carbohidrato Reducción de glucógeno Porcentaje de reducción en la actividad de LDH Porcentaje de reducción en la actividad de SDH Porcentaje de aumento Porcentaje de reducción	1,2 1,1 1 0,8 39,9 36,9 34,5 36,9 54,1 47,1 66,7 71,3 47,5 52,2 62,4 50,6 118,5 722,4	%
2006	Determinación del efecto de diferentes compuestos a través de ensayos de fitotoxicidad usando semillas de lechuga, escarola y achicoria	Navarro A.R., Arueta R. G., Maldonado M.C.	México	NO	-	-	-	-	-	-	-	-	Lechuga ( <i>Lactuca sativa var mantecosa</i> ) Escarola ( <i>Sichorium endivia var. Lisa</i> ) Achicoria ( <i>Sichorium intybus var. Fina</i> )	Concentración Inhibitoria Mínima (CIM)	10 <sup>-4</sup> 10 <sup>-4</sup> 10 <sup>-4</sup>	Dilución (mg/L)	
2008	Influence of distillery effluent on germination and growth of mung bean ( <i>Vigna radiata</i> ) seeds	A. Kannan, Raj K. Upreti	India	Tratamiento anaeróbico	4,5	7,15	7752	28,7	-	13824	73,4	-	<i>Vigna radiata</i>	Vinaza cruda (Concentración 20% en 6h) Vinaza tratada (Concentración 20% en 6h) Vinaza cruda (Concentración 20% en 30h) Vinaza tratada (Concentración 20% en 30h)	Porcentaje de germinación Velocidad de germinación Índice de vigor Porcentaje de germinación Velocidad de germinación Índice de vigor Porcentaje de germinación Velocidad de germinación Índice de vigor Porcentaje de germinación Velocidad de germinación Índice de vigor	20 ± 4 44 ± 4 11 ± 2 80 ± 9 320 ± 31 744 ± 7 0 0 0 60 ± 6 480±48 162±17	% - - % - % - %

Continuación Tabla 4. Matriz Comparativa de estudios de evaluación la toxicidad de la vinaza

Año	Nombre	Autores	Lugar de estudio	Proceso para tratar la vinaza	Variables y/o parámetros estudiados							Organismo usado para prueba toxicidad	Variable de toxicidad evaluado	Valor				
					pH		DBO5 (mg/L)			DQO (mg/L)				Valor	Unidad			
					Inicial	Final	Inicial	Final	% Remoción	Inicial	Final					% Remoción		
2008	Photocatalytic degradation of the vinasse under solar radiation.	Santana, V. S., & Machado, N. R.	Unnao, India	Fotocatálisis heterogénea	3,7	4,1	-	-	-	-	-	-	-	Artemia salina	Concentración letal 50 (CL50)	1,54	%	
														Vinaza no tratada	1,77			
														Vinaza tratada sin catálisis	1,85			
														Vinaza tratada con TiO2	2,04			
														Vinaza tratada con Nb2O5-TiO2	2,05			
2011	Evaluation of sugarcane vinasse treated with <i>Pleurotussajorcaju</i> utilizing aquatic organisms as toxicological indicators	Ferreira, L. F., Aguiar, M. M., Messias, T. G., Pompeu, G. B., Lopez, A. M., Silva, D. P., & Monteiro, R. T.	São Paulo, Brasil	Decolorización con <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	3,9	5,3	11300	2570	75,3	42000	7200	82,8		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	Vinaza pura	Concentración de Inhibición 50 (ICS0)	1,6	%
														Vinaza tratada	15			
														<i>Daphnia magna</i>	Vinaza pura	Concentración letal 50 (CL50)	3,6	
														Vinaza tratada	66			
														<i>Daphnia similis</i>	Vinaza pura	Concentración letal 50 (CL50)	2,2	
														Vinaza tratada	21			
														<i>Hydra attenuata</i>	Vinaza pura	Concentración letal 50 (CL50)	2,3	
														Vinaza tratada	17,7			
														Vinaza pura	2			
														Vinaza tratada	Concentración efectiva 50 (CL50)	12		
2011	Physico-chemical analysis of sugar industry effluent and its effect on seed germination of <i>vigna angularis</i> , <i>vigna cylindrical</i> and <i>sorghum cernum</i> .	Doke, K. M., Khan, E. M., & Joseph Rapolu, A. S.	Pune, India	NO	4,35	-	-	-	-	1330	-	-		<i>Vigna cylindrical</i>	Porcentaje de germinación (Concentración 100%)	25,1	%	
														<i>Sorghum cernum</i>	40			
														<i>Vigna angularis</i>	72,8			
														<i>Vigna cylindrical</i>	42,5			
														<i>Sorghum cernum</i>	117			
														<i>Vigna angularis</i>	294,4			
2012	Acute toxicity of sugarcane vinasse to aquatic organisms before and after pH adjustment	Botelho, R. G., Tomisielo, V. L., Olinda, R. A., Maranhão, L. A., & Machado-Neto, L.	Piracicaba, Brasil	Ajuste de pH con hidróxido de sodio (NaOH)	4	7	-	-	-	-	-	-		<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Vinaza sin tratar	0,67	-	
														Vinaza tratada	2,99			
														<i>Daphnia magna</i>	Vinaza sin tratar	0,8		
														Vinaza tratada	5,62			
														<i>Danio rerio</i>	Vinaza sin tratar	2,62		
														Vinaza tratada	8,34			
2012	Evaluación de la factibilidad de acople de un sistema fotocatalítico biológico para el tratamiento de vinazas mediante estudios de toxicidad	Barba Ho, Luz E.; García, Laura Alexandra	Valle del Cauca, Colombia	Fotofenton		2,5		17342	65		43902	65		<i>Daphnia pulex</i>	Vinaza cruda	Concentración letal 50 (CL50)	6,9	CL50
				Fotofenton y degradación por sistema biológico anaerobio	4,5	7,2	50085	1838	96	125424	4172	97		Vinaza con Fotofenton	5,5			
														Vinaza tratada en el acople (FF-biológico)	16,7			
														Microorganismos anaerobios	Vinaza cruda	Actividad metanogénica mesofílica (AME)	39	%
														Vinaza con Fotofenton	18			

Continuación Tabla 4. Matriz Comparativa de estudios de evaluación la toxicidad de la vinaza

Año	Nombre	Autores	Lugar de estudio	Proceso para tratar la vinaza	Variables y/o parámetros estudiados						Organismo usado para prueba toxicidad	Variable de toxicidad evaluado	Valor				
					pH		DBO5 (mg/L)			DQO (mg/L)			Valor	Unidad			
					Inicial	Final	Inicial	Final	% Remoción	Inicial					Final	% Remoción	
2013	Vinhaça de cana-de-açúcar em corpos d'água: impacto analisado em histopatologia em fígados de tilápias	Marinho J. F.; Correia J.E.; Marcato A.C.; Pedro Escher J.; Fontanetti C.S.	Araras, São Paulo, Brasil.	NO	3,9	-	5046	-	-	13380	-	-	<i>Oreochromis niloticus</i> (Hígado)	Factor de importancia (w)	Degeración hidrónica	2	-
												Atrofia			2		
												Núcleo picnótico			3		
												Citoplasma vacuolizado			1		
												Pérdida de la integridad citoplasmática			3		
												Pérdida de límite celular			3		
								Acumulación de polisacáridos	1								
2014	Vinasse treatment by coupling of electro-dissolution, hetero-coagulation and anaerobic digestion.	Paz-Pino, O. L., Barba-Ho, L. E., & Marriaga-Cabrales, N.	Cerrito, Valle del Cauca, Colombia	Electro-disolución y hetero-coagulación (EH)	4,35	8,54	36847	30704	92,8	84375	45652	83,2	<i>Daphnia pulex</i>	Concentración letal 50 (CL50)	Vinaza sin tratar	3,96	%
				EH + biodegradación anaeróbica (EHBV)	7,45		2649			14159		Vinaza con EH			5,15		
											Vinaza con EHBV	11,42					
2015	Avaliação da toxicidade da vinhaça tratada quimicamente Diminuição da toxicidade da vinhaça de cana-de-açúcar a partir de ajuste de pH: Ensaio do Cometa e Teste do Micronúcleo em <i>Oreochromis niloticus</i> (Perciformes: Cichlidae).	Correia, J. E., Christofolletti, C. A., Ansoar-Rodríguez, Y., Quedes, T. A., & Fontanetti, C. S.	Araras, São Paulo, Brasil.	Ajuste de pH	4,6	7	13394,3	-	-	31723,2	-	-	<i>Oreochromis niloticus</i> (Concentración del 10% en 96 h)	Putrición de nucleoides	221±19,26	-	
2015	Toxicidade da vinhaça de cana-de-açúcar a partir da correção de seu pH com Cal (CaO): Histopatologia de brânquias de <i>Oreochromis niloticus</i> (Perciformes: Cichlidae) utilizando <i>Oreochromis niloticus</i> (Perciformes: Cichlidae) como organismo teste	Correia, J. E., Christofolletti, C. A., Marcato, A. C., & Fontanetti, C. S.		Ajuste de pH con Cal (CaO)	4,6	7,32	13394,3	47,1	-	31723,2	325,9	-	<i>Oreochromis niloticus</i>	Frecuencia de ocurrencia de alteraciones significativas encontradas en las bránquias (concentración 10%)	Desprendimiento epitelial	2,70±1,35	-
															Hemorragia	3,10±0,96	
															Aneurisma	1,00±1,22	
															Edema	0	
															Pérdida de crestas	3,80±0,90	
2016	Treatment of sugarcane vinasse by combination of coagulation/flocculation and Fenton's oxidation	Guerreiro L. F.; Rodrigues C. S.; Duda R. M.; Oliveira R. A.; Boaventura R. A.; Madeira L. M	Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil.	Oxidación Fenton	8,2	2,3	2096	1323	36,9	6836	2516	63,2	<i>Vibrio fischeri</i>	Porcentaje de Inhibición		8,3/ 11,8	%
				Coagulación/ Flocculación	7,05			1511	27,9		3856	43,6				10/ 14,2	
				Oxidación Fenton + Coagulación/Flocculación	7,02			866	45,7		2107	69,2				5,7/ 8,6	



## 9. Análisis y discusión de resultados

El creciente desarrollo industrial y urbano, ha traído consigo la generación de una cantidad apreciable de sustancias químicas potencialmente tóxicas, las cuales pueden afectar tanto la salud humana como a los ecosistemas en países desarrollados y en vías de desarrollo (Ferreira L. F., 2009)

El empleo de ensayos de toxicidad ha interesado a muchos autores a nivel mundial, en cuanto a la vinaza, se ha observado que los países con más estudios son Brasil e India. De los artículos evaluados, 7 fueron realizados en India, (Kumar et al, 1995; Kumar & Gopal, 2001; Ramana et al, 2002; Ramakritinan et al, 2005; Kannan & Upreti, 2008; Santana & Machado, 2008; Doke et al, 2011) y 6 en Brasil (Ferreira et al, 2011; Botelho et al, 2012; Marinho et al, 2013; Correia et al, 2015; Correia et al, 2015; Guerreiro et al, 2016).

En India, la industria de azúcar desempeña un papel importante en su desarrollo económico. El aumento del número de destilerías en la India ha dado lugar a un aumento sustancial de la carga de contaminantes industriales, entre ellos la vinaza. Los agricultores que utilizan estos efluentes para riego con el fin de reducir la demanda de agua, encuentran que el crecimiento de las plantas y el rendimiento de los cultivos se reducen, además de verse comprometida la salud del suelo (Doke et al., 2011).

Brasil, es el mayor productor de caña de azúcar en el mundo, con aproximadamente 5 millones de hectáreas de superficie cultivada, seguido de la India, China, Tailandia, México, Kenia y Pakistán. Según el último censo realizado, desde el inicio de la cosecha 2011-2012 se procesaron 492,70 millones de toneladas de caña de azúcar, generando un volumen de 12,71 millones de litros de etanol hidratado (Marinho, 2013). En 1975, el gobierno de Brasil creó el Programa Nacional de Etanol (PROÁLCOOL) durante la crisis del petróleo, como alternativa a los productos de petróleo, en un intento de proveer a los mercados nacionales e internacionales. Debido a la expansión de la industria del azúcar-etanol, desde 1975, las refinerías comenzaron a desempeñar un importante papel en contaminación (Christofolletti et al., 2013).

Es sabido que la toxicidad de las sustancias con presencia de metales en hábitats acuáticos, como la vinaza, depende de las características físico-químicas del agua, tales como la materia orgánica en suspensión, la proporción de gases disueltos, la dureza de la misma y el pH (Pereira y cols., 2009). Este último parámetro es determinante para el crecimiento y supervivencia de microorganismos, como es el caso de algunas bacterias, las cuales llegan a ser las responsables del agotamiento del oxígeno en un cuerpo de agua (Sanchón, 2002), siendo esta una de las razones por las cuales la vinaza, al contar con un pH ácido, se convierte en un efluente con un alto potencial tóxico.

Sin embargo, la DBO y la DQO, son los parámetros más importantes en la caracterización de efluentes (Ibañez, 2015). Por los datos aportados en diferentes estudios sobre la vinaza, (Kannan & Upreti, 2008; Ferreira et al, 2011; Botelho et al, 2012; Barba Ho & García, 2012; Paz-Pino et al, 2014; Correia et al, 2015a; Correia et al, 2015b; Guerreiro et al, 2016), se podría inferir que a mayor concentración de estos dos parámetros se presenta una mayor toxicidad con respecto a este efluente. Barba Ho & García (2012), pretrataron la vinaza por medio del procedimiento del foto Fenton seguida del tratamiento anaerobio, con el que obtuvieron una reducción del 97% de la DQO, del 96% de la DBO. Fue evidente que el pretratamiento permitió la transformación de la materia orgánica a partículas más simples, para así ser

más asimilables por parte de los microorganismos anaerobios. La modificación de estos parámetros reflejó la disminución de la toxicidad de la vinaza, por medio de la comparación entre bioensayos realizados con la vinaza antes y después de ser tratada. En este mismo estudio, también se demostró que no todos los tratamientos que puedan reducir estos parámetros en la vinaza, pueden disminuir su toxicidad; ya que en el pretratamiento por Fotofenton, a pesar de disminuir la DQO y la DBO, generó en el sistema compuestos más tóxicos que los inicialmente presentes en la vinaza para los organismos de ensayo. Esto puede ser debido a la presencia de ácido carboxílicos que quedan en las etapas finales del proceso de oxidación de la vinaza y resultan previamente a la formación del CO<sub>2</sub> (el cual es el compuesto final de la oxidación), y su efecto en el pH Barba Ho & García, 2012).

Históricamente, el uso de ensayos biológicos para la detección de sustancias nocivas o peligrosas se registra a comienzos del siglo XX. Hacia 1940, que se inicia el uso de bioensayos con peces; las pruebas con invertebrados y algas se reportan a lo largo de la década de los cincuenta. Actualmente, se hace uso de diferentes niveles poblacionales, comunidades o ecosistemas (micro y mesocosmos principalmente), que permiten evaluar el riesgo de una manera más eficiente. Estas pruebas, que se derivan de la toxicología clásica y son consideradas complementarias de los análisis fisicoquímicos convencionales, son alternativas eficaces para la predicción de niveles seguros de concentración de tóxicos en los que no se generan efectos nocivos en el ambiente (Díaz-Báez y cols., 2015).

En estos ensayos, es importante tener en cuenta que, aunque el principio del procedimiento utilizado sea el mismo, los resultados obtenidos pueden variar de manera significativa entre sí, debido principalmente al tipo de organismo de prueba utilizado, el tiempo de exposición, la solubilidad de la sustancia o de sus componentes, y la dosis empleada. Estos y otros factores podrían explicar la variabilidad de los resultados obtenidos entre los diversos estudios evaluados en el presente trabajo. Como se puede observar en la Tabla 4, los efectos tóxicos de la vinaza fueron analizados bajo distintas variables como la mortalidad, inhibición de algún proceso metabólico en el caso de la bioluminiscencia generada por *V. fischeri*, alteración del crecimiento de las plantas o en el cambio de alguno de los biomarcadores en tejidos y órganos diana de los peces estudiados.

Dentro de los artículos evaluados, se encontró que el bioensayo más común entre los autores, fue el desarrollado con base en la respuesta de las especies del género *Daphnia sp.* La amplia distribución geográfica, el importante papel que cumplen al interior de la comunidad zooplanctónica, la facilidad de cultivo en el laboratorio, la reproducción partenogenética (lo cual asegura una uniformidad de respuesta), y el corto ciclo de vida con la producción de un alto número de crías, han hecho de este grupo un estándar a nivel mundial para la evaluación de toxicidad (Díaz – Báez y cols., 2004).

Luego de los cladóceros, los ensayos más empleados fueron con varias especies de peces. Éstos organismos son ecológica y económicamente muy importantes. Representan un grupo de vertebrados con diferentes comportamientos y estrategias reproductivas, y juegan un papel importante en las cadenas tróficas, ya sea como depredadores o presas. Los peces tienen una amplia gama de comportamientos y hábitats, lo cual puede aumentar su potencial de exposición a sustancias tóxicas (Correia et al., 2015a).

Por último, la semillas de varias especies de plantas, también se utilizaron para la evaluación de la toxicidad de la vinaza, puesto que constituyen una eficiente herramienta de trabajo para evaluar el riesgo ambiental en la matriz suelo, por ser altamente sensibles al estrés ambiental, fáciles de manipular y almacenar, tener un bajo costo y una buena correlación con otros sistemas de prueba (Henry, 2008). Sin

embargo, a pesar de que las semillas cuenten con estas ventajas, la vinaza se puede considerar una sustancia hormetina, es decir, una sustancia capaz de ocasionar efectos beneficiosos a dosis pequeñas únicas, pero que dan lugar a efectos tóxicos cuando se administran a una sola dosis más elevada, además de eso, contiene componentes, también beneficiosos para el crecimiento y desarrollo de algunas semillas (plantas), como afirmaron con sus estudios autores como (Kadioglu & Algur, 1990; Kadioglu & Algur, 1992; Souza et al., 2014), razón por la cual podría no ser útil el realizar bioensayos con estas para la evaluación de la toxicidad del efluente en cuestión (Bello & López de Cerain, 2001; Henry, 2008).

Como se comentó anteriormente, la unidad de toxicidad reportada más común en los bioensayos, fue la concentración letal media ( $CL_{50}$ ), esto es debido a que su cálculo es relativamente sencillo. Generalmente se calcula por un método estadístico llamado Probit, construido a partir de una variable independiente (la concentración de tóxico) y una variable dependiente. El resultado es una recta en la cual se puede interpolar el 50% de la respuesta y conocer qué concentración de tóxico causa esa respuesta ( $CL_{50}$ ) (Fernández, 2016). Esta, se puede realizar manualmente o con ayuda de paquetes estadísticos (Díaz – Báez y cols., 2004). La concentración letal media ( $CL_{50}$ ), evalúa el parámetro conocido como letalidad, el cual es cuantificado por el número de organismos que mueren en cada grupo expuesto a la misma concentración de una sustancia. Precisamente, la letalidad en este caso es el parámetro que se conoce bajo el nombre de respuesta, es decir, el porcentaje de individuos que manifiesta un efecto observable referido a la población total (Bello & López de Cerain, 2001).

Los organismos que presentaron una mayor sensibilidad a la vinaza, según el cálculo de la  $CL_{50}$  fueron el pez *C. carpio*, *D. magna* y *C. dubia*, estos dos últimos, pertenecientes a la familia Daphniidae. Ramakritinan et al. (2005), empleando al pez *C. carpio*, obtuvieron un porcentaje de  $CL_{50}$  de 0,8 en un tiempo de exposición de 96 horas.

Este bioensayo se puede considerar como uno de los más sensibles y probablemente uno de los más completos para la evaluación de la toxicidad de la vinaza, ya que, el estado de salud de los peces es capaz de reflejar y dar una buena perspectiva de la condición real de un ecosistema acuático. Además, hay una extensa literatura sobre su comportamiento y fisiología. Sin embargo, con este tipo de organismos vertebrados, deben ser realizadas otras análisis complementarios, como lo son las observaciones del comportamiento del organismo antes de morir y el análisis histológico de preparaciones de órganos diana (hígado, riñones, etc.) obtenidas en la necropsia, haciendo que el bioensayo sea más complejo y con la necesidad de contar con más tiempo para llevarlo a cabo.

En cuanto a los valores de toxicidad aguda ( $CL_{50}$ ) reportados con los ensayos con organismos de la familia Daphniidae, arrojaron resultados similares de sensibilidad a la vinaza a los estudios con peces: 0,67 y 0,80 para *C. dubia* y *D. magna* respectivamente en un periodo de 48 h. El ensayo con *D. magna* es considerado como estándar para evaluar la toxicidad de diversas sustancias en medios acuáticos por diversos organismos y agencias internacionales como la ISO (2012), EPA (2002) and OECD (2004). Estos bioensayos son bastante útiles, no solo por su sensibilidad y rapidez de respuesta, sino que además existe una extensa información sobre las técnicas de cultivo, los requisitos de nutrientes, luz y temperatura, así como su respuesta a muchos compuestos tóxicos (Díaz – Báez y cols., 2004). Pese a lo anterior, es importante recalcar que a pesar de ser un ensayo estándar *D. magna* no siempre es el organismo más sensible a una respectiva sustancia tóxica como se ha reportado en múltiples estudios, como el llevado a cabo por Ferreira et al. (2011).

La toxicología como se conoce hoy día, se consolidó en el siglo XX, al tiempo que surgió la preocupación social por la idea de riesgo. Sin embargo, ha demostrado que no es una disciplina estática sino en continua evolución (Vallverdú, 2005), y en cuanto a la parte ambiental, sobre todo en países en vías de desarrollo se encuentra aún en una etapa muy incipiente (Laguna, 2002).

La toxicología entra a jugar un papel crucial en la salud ambiental, ya que esta disciplina estudia los mecanismos de exposición y acción a agentes ambientales que causan enfermedades crónicas, además de la cuantificación de peligro por la exposición a estas sustancias (Hernández-Guijo, 2010). Con el paso del tiempo, la toxicología clásica se ha visto obligada a ampliar su campo de acción, debido a que si ésta continuaba centrada en estudios experimentales y del tratamiento de intoxicaciones agudas, poco podría aportar a la solución del número creciente de efectos nocivos que la contaminación ambiental puede causar sobre los ecosistemas, que terminarán repercutiendo a los seres humanos (Albert, 2001).

Pese a los grandes aportes que ha venido realizando la toxicología ambiental a lo largo del tiempo, es importante aclarar que no es una disciplina exacta, puesto que algunas respuestas de mortalidad de los organismos no necesariamente se relacionan con sustancias tóxicas (si no por procesos intrínsecos), y que no siempre los contaminantes tóxicos generan respuestas que se puedan cuantificar por los métodos existentes (Bello & López de Cerain, 2001).

Por otra parte, los contaminantes pueden sufrir transformaciones de distinta naturaleza, que podrían aumentar o disminuir la toxicidad de un compuesto. Además, normalmente las sustancias químicas se distribuyen en varias matrices ambientales, por lo que al hacer las determinaciones en la matriz inadecuada o sólo en una de ellas, podría dar lugar a conclusiones erróneas. Adicionalmente, debe tenerse en cuenta que las concentraciones de un compuesto químico pueden tener variaciones temporales, de tal manera que sólo los organismos vivos tienen la capacidad de integrar y asimilar los efectos tóxicos que diversas sustancias de maneras específicas. De aquí la necesidad de realizar y contar con diferentes estudios sobre una misma sustancia con diferentes organismos, como se demostró en cada uno de los estudios evaluados en el presente trabajo (Capó Martí, 2007).

También, con frecuencia, los límites considerados seguros para una sustancia específica se establecen bajo condiciones y con especies que no necesariamente locales o de ecosistemas que se requieren o se pretenden proteger; además, con este único criterio, no es posible incluir a todas las sustancias tóxicas que pueden estar presentes en efluentes industriales complejos como la vinaza (Bello & López de Cerain, 2001; Juárez y cols, 2009). Por lo anterior, se pueden emplear en las evaluaciones ambientales, la definición de objetivos de calidad ambiental (como las características deseadas del agua para un propósito o aplicación determinada), lo que se logra mediante el establecimiento de estándares de calidad ambiental (ECA) (Juárez y cols., 2009).

Debido el acelerado desarrollo industrial, la toxicología cuenta tres problemas o retos principales que deben ser resueltos en los próximos años: 1) la elección de las sustancias claves para uso en bioensayos específicos para su caracterización, 2) el conocimiento de la(s) ruta(s) de la captación de las sustancias tóxicas y la síntesis de estas por los organismos en diferentes matrices ambientales (toxicocinética y toxicodinámica a nivel ambiental) y 3) la elección de los organismos y puntos críticos de estudio (Frejo y cols, 2011).

La controversia bioética en el campo de la toxicología, es un tema de interés para la mayoría de científicos que trabajan en esta área. El debate bioético se centra principalmente en el uso de animales para los diferentes bioensayo, ya que debido a la presión de grupos animalistas, ambientalistas y a un grupo de la comunidad científica, existe una tendencia creciente a evitar el sufrimiento de los mismos, aplicando protocolos bioéticos estrictos en los diferentes estudios (que algunas veces hacen parte de la legislación y normativa tanto del sector público como del privado). Lo anterior, ha llevado a la búsqueda de métodos de evaluación toxicológica que minimice o sustituya al uso tradicional de animales (Martínez-Hidalgo, 2007 ).

Otra razón importante para la disminución del uso de animales en el campo de la toxicología, se debe a que en muchos casos, es difícil extrapolar los resultados de los experimentos realizados en animales a los efectos que podrían producirse en la salud de los humanos al tratarse de especies diferentes. En la actualidad, se ha evidenciado, que por medio de ensayos *in vitro* se puede predecir los efectos de la toxicidad en humanos (en ensayos con líneas de células humanas) mejor que con los métodos tradicionales con animales (SINC, 2016).

La toxicología del siglo XXI, está enfocándose en el uso de métodos *in silico* e *in vitro*. En los estudios *in silico*, se realizan simulaciones por ordenador, a través de un software especializado, en donde se puede simular la actividad biológica de un determinado compuesto, el desarrollo de algunas enfermedades, y también se pueden diseñar compuestos con centros activos que se conoce que no son tóxicos. En los estudios *in vitro*, se pueden evaluar los efectos de diferentes sustancias sobre líneas celulares conocidas o sobre tejidos impresos 3D como piel y córnea (Barbosa, 2016). Herramientas que con un enfoque adecuado también podrían utilizarse en un futuro próximo en el campo de la toxicología ambiental.

## 10. Conclusiones

- El bioensayo más sensible para la evaluación de la toxicidad de la vinaza, en términos de concentración letal media, es por medio de dos especies pertenecientes a la familia Daphniidae, *Ceriodaphnia dubia* y *Daphnia magna*.
- Aunque la toxicología ha tenido un desarrollo adecuado con el paso de los años, llegando a ser una herramienta eficiente para la evaluación del riesgo ambiental, actualmente cuenta con tres retos principales: seleccionar las sustancias tóxicas con más repercusión en los ecosistemas, analizar las rutas de captación y la síntesis de estas por parte de los organismos y la elección de los organismos más sensibles a un determinado compuesto.
- La toxicología moderna, ha encontrado alternativas adecuadas para el desarrollo de pruebas de toxicidad, diferentes al empleo de animales, como las pruebas *in silico* e *in vitro*, que con un enfoque adecuado podrían utilizarse en el área de toxicología ambiental.

## 11. Recomendaciones

- A la hora de realizar una revisión sistemática, es necesario definir desde el principio los términos de inclusión y exclusión, debido a que este hará posible una adecuada delimitación de la información que se puede llegar a encontrar respecto a un tema.
- La Universidad El Bosque debe seguir apoyando los proyectos en toxicología ambiental, que son uno de los pilares de la salud ambiental en lo referente a la relación entre el hombre y su entorno.

## 12. Bibliografía

- Albert, L. A. (2001). *Desarrollo e importancia de la toxicología ambiental*. Obtenido de <http://www.bvsde.paho.org/bvstox/fulltext/toxico/toxico-01a2.pdf>
- Algur, O. F., & Kadioglu, A. (1992). The effects of vinasse on the growth, biomass and primary productivity in pea (*Pisum sativum*) and sunflower (*Helianthus annuus*). *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 139-144.
- Arteaga, L., Carvajal, G., & Bolaños, O. (2013). *Proceso de producción de etanol a partir de melazas*. Obtenido de <http://aunartech.aunar.edu.co/images/revista/pdf/junio-2013/008.produccion-de-etanol.pdf>
- Báez, M. C., Granados, Y. P., & Ronco, A. (2004). *Ensayo de toxicidad aguda con el cladóceros *Daphnia magna**. Obtenido de <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/573/cap1.pdf>
- Barba Ho, L. E., & García, L. A. (2012). Evaluación de la factibilidad de acople de un sistema fotocatalítico biológico para el tratamiento de vinazas mediante estudios de toxicidad. *Ingeniería de Recursos Naturales y del Ambiente*, 11, 63-71.
- Barbosa, V. (2016). *Como se testa um cosmético sem crueldade animal? Com pele 3D*. Obtenido de [http://exame.abril.com.br/negocios/como-se-testa-um-cosmetico-sem-crueldade-animal-com-pele-3d/?utm\\_medium%3dsocial%26utm\\_source%3dwhatsapp%26utm\\_campaign%3dsocial/](http://exame.abril.com.br/negocios/como-se-testa-um-cosmetico-sem-crueldade-animal-com-pele-3d/?utm_medium%3dsocial%26utm_source%3dwhatsapp%26utm_campaign%3dsocial/)
- Bello Gutiérrez, J., & López de Cerain Salsamendi, A. (2001). *Fundamentos de ciencia toxicológica*. Ediciones Díaz de Santos.
- Botelho, R. G., Tornisielo, V. L., Olinda, R. A., Maranhão, L. A., & Machado-Neto, L. (2012). Acute toxicity of sugarcane vinasse to aquatic organisms before and after pH adjustment. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 2035–2045.
- Capó Martí, M. A. (2007). *Principios de ecotoxicología: diagnóstico, tratamiento y gestión del medio ambiente*. Madrid: Tébar, S.L.
- Cardona, C. A., Sánchez, Ó. J., & Quintero, J. A. (2005). Simulación de los procesos de obtención de etanol a partir de caña de azúcar y maíz. *Scientia et Technica*, 2(28).

- Choeisai, P., Jitkam, N., Silapanoraset, K., Yubolsai, C., Yoochatchaval, W., Yamaguchi, T., . . . Syutsubo, K. (2014). Sugarcane molasses-based bio-ethanol wastewater treatment by two-phase multi-staged up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) combination with up-flow UASB and down-flow hanging sponge. *Water Science and Technology*, 1174-1180.
- Christofoletti, C. A., Escher, J. P., Correia, J. E., Marinho, J. F., & Fontanetti, C. S. (2013). Sugarcane vinasse: Environmental implications of its use. *Waste Management*, 33, 2752–2761.
- Correia, J. E., Christofoletti, C. A., Ansoar-Rodríguez, Y., Guedes, T. A., & Fontanetti, C. S. (2015). *Diminuição da toxicidade da vinhaça de cana-de-açúcar a partir de ajuste de pH: Ensaio do Cometa e Teste do Micronúcleo em Oreochromis niloticus (Perciformes: Cichlidae)*. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Ríó Claro.
- Correia, J. E., Christofoletti, C. A., Marcato, A. C., & Fontanetti, C. S. (2015). *Toxicidade da vinhaça de cana-de-açúcar a partir da correção de seu pH com Cal (CaO): Histopatologia de brânquias de Oreochromis niloticus (Perciformes: Cichlidae)*. UNESP (Universidade Estadual Paulista).
- Delgado, A. V. (2002). *Los residuos agrícolas de la cosecha cañera (RAC)*. Obtenido de [http://www.nest.unifei.edu.br/portugues/pags/novidades/curso\\_cyted/files/pdf/Tema%201-%20Residuos%20Agricolas%20da%20Cana-de-Acucar/ExperienciasInternacionais.pdf](http://www.nest.unifei.edu.br/portugues/pags/novidades/curso_cyted/files/pdf/Tema%201-%20Residuos%20Agricolas%20da%20Cana-de-Acucar/ExperienciasInternacionais.pdf)
- Doke, K. M., Khan, E. M., & Joseph Rapolu, A. S. (2011). Physico-chemical analysis of sugar industry effluent and its effect on seed germination of vigna angularis, vigna cylindrical and sorghum cernum. *Annals of Environmental Science* , 7-11.
- EPA. (2002). *Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms. Fifth edition* . Washington, DC.
- Fernández, Á. A. (2016). *Práctica módulo ecotoxicología: cálculo de las concentraciones letales 50 (cl50) a 96 horas para la toxicidad del nitrito en dos especies de invertebrados de agua dulce (Eulimnogammarus toletanus y Polycelis felina)*. Obtenido de <https://alvaroalonsodocencia.wikispaces.com/Probit-CL50>
- Ferreira, L. F. (2009). *Biodegradacao de vinhaca proveniente do processo industrial de cana-de-acúcar por fungos*. Universidade de Sao Paulo, Piracicaba.
- Ferreira, L. F., Aguiar, M. M., Messias, T. G., Pompeu, G. B., Lopez, 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.
- Formagini, E., Marques, F., Serejo, M. L., Paulo, P., & M.A., B. (2014). The use of microalgae and their culture medium for biogas production in an integrated cycle. *Water Sci Technol.* 2, 941-946.
- Frejo1, M. T., Díaz, M. J., Lobo, M., García, J., & Capó, M. (2011). Nanotoxicología ambiental: retos actuales. *Medicina Balear*, 36-46.

- Gallego, R. S. (2003). *Introducción al análisis de datos experimentales: tratamiento de datos en bioensayos*. Publicacions de la Universitat Jaume I.
- Guerreiro, L. F., Rodrigues, C. S., Duda, R. M., Oliveira, R. A., Boaventura, R. A., & Madeira, L. M. (2016). 1. Treatment of sugarcane vinasse by combination of coagulation/flocculation and Fenton's oxidation. *Journal of Environmental Management*, 237 - 248.
- Henry, L. (2008). *Anexo 5.A. I Recomendaciones concernientes a la selección de organismos para bioensayos acuáticos*. (D. I. Technology, Ed.) Obtenido de <http://www.bvsde.paho.org/bvsaca/fulltext/manual/parte2.pdf>
- Hernández-Guijo, J. M. (2010). *Introducción a la toxicología*. Obtenido de [https://www.uam.es/departamentos/medicina/farmacologia/especifica/ToxAlim/ToxAlim\\_L1.pdf](https://www.uam.es/departamentos/medicina/farmacologia/especifica/ToxAlim/ToxAlim_L1.pdf)
- Ibañez, J. A. (2015). *DBO y DQO para caracterizar aguas residuales*. Obtenido de <https://nihonkasetuwater.com/2015/02/07/dbo-y-dqo-bod-and-cod-para-caracterizar-aguas-residuales/>
- Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático . (2009). *Ecotoxicología*. Obtenido de <http://www.inecc.gob.mx/sqre-temas/766-sqre-eco>
- ISO. (2012). *ISO 6341: Determination of the inhibition of the mobility of Daphnia magna Straus (Cladocera, Crustacea) -Acute toxicity test*.
- Jiménez, M. R., & Kuhn, G. R. (2009). *Toxicología elemental*. Díaz de Santos.
- Juárez, F. J., Rincón, S. A., & Martínez, R. R. (2009). *Toxicología ambiental*. Universidad Autónoma de Aguascalientes.
- Kadioglu, A., & Algur, O. F. (1990). The Effect of Vinasse on the Growth of *Helianthus annuus* and *Pisum sativum*. Part 1--The Effects on Some Enzymes and Chlorophyll and Protein Content. *Environmental Pollution*, 67, 223-232.
- Kannan, A., & Upreti, R. K. (2008). Influence of distillery effluent on germination and growth of mung bean (*Vigna radiata*) seeds. *Journal of Hazardous Materials*(153), 609–615.
- Kumar, S., & Gopal, K. (2001). Impact of Distillery Effluent on Physiological Consequences in the Freshwater Teleost *Channa punctatus*. *Bull. Environmental Contamination Toxicology*(66), 617–622.
- Kumar, S., Sahay, S. S., & Sinha, M. K. (1995). Bioassay of Distillery Effluent on Common Guppy, *Lebistes reticulatus* (Peter). *Bull. Environmental Contamination Toxicology*(54), 309-316.
- Laguna, D. S. (2002). *Toxicología: Ciencia y destino*. Obtenido de [http://helvia.uco.es/xmlui/bitstream/handle/10396/6147/braco106\\_1984\\_2.pdf?sequence=1](http://helvia.uco.es/xmlui/bitstream/handle/10396/6147/braco106_1984_2.pdf?sequence=1)
- M.K., S., C.N., L., & Y.R, L. (2012). Development of sequence characterized amplified region (SCAR) marker for identifying drought tolerant sugarcane genotypes. *Austr. J. Crop Sci*, 6, 762-767.



- Marinho, J. F., Correia, J. E., Marcato, A. C., Pedro-Escher, J., & Fontanetti, C. S. (2013). *Avaliação da toxicidade da vinhaça por meio da análise histológica de fígados de peixes Oreochromis niloticus*. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Ríó Claro.
- Marques, S. S., Nascimento, I. A., Almeida, P. F., & author, F. A. (2013). Growth of *Chlorella vulgaris* on Sugarcane Vinasse: The Effect of Anaerobic Digestion Pretreatment. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 171-193.
- Martín, M. P., Blas, A. D., & Rodríguez, S. S.-F. (2009). Influencia del pH sobre el efecto tóxico inducido en clones de *dictyosphaerium chlorelloides* sensibles y resistentes a cromo. *Revista Compulense de Ciencias Veterinarias (RCCV)*, 3(2).
- Martínez-Hidalgo, M. P. (2007). Alternativas a la experimentación animal en toxicología: situación actual. *Acta Bioethica*.
- Navarro, A. R., Arrueta, R. G., & Maldonado, M. C. (2006). Determinación del efecto de diferentes compuestos a través de ensayos de fitotoxicidad usando semillas de lechuga, escarola y achicoria. *Rev. Toxicol*, 23, 125-129.
- Nitayavardhana, S., Issarapayup, K., Pavasant, P., & Khanal, S. K. (2013). Production of protein-rich fungal biomass in an airlift bioreactor using vinasse as substrate. *Bioresource Technology*, 301-306.
- OECD. (2004). *Test No. 202: Daphnia sp. Acute Immobilisation Test*. Paris: OECD Publishing.
- OMS. (2001). *Estrategia mundial de la OMS para contener la resistencia a los microbianos*.
- Otero-Rambla, M. A., García, R., Pérez, M. C., Martínez, J. A., Vasallo, M. C., Saura, G., & Bello, D. (2009). Producción de bioetanol a partir de mezclas de jugos-melazas de caña de azúcar. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*, 32 (1), 17-22.
- Paz-Pino, O. L., Barba-Ho, L. E., & Marriaga-Cabrales, N. (2014). Vinasse treatment by coupling of electro-dissolution, hetero-coagulation and anaerobic digestion. *Dyna*, 81(187), 102-107.
- Pedrosa, E. M., Barros, A. C., & Moura, R. M. (2005). Estudo de interação variedade-nematicida em cana-de-açúcar, em solo naturalmente infestado por *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *Pratylenchus zeae*. *Nematologia Brasileira*, 29, 39-46.
- Ramakritinan, C., Kumaraguru, A., & Balasubramanian, M. (2005). Impact of Distillery Effluent on Carbohydrate Metabolism of Freshwater Fish, *Cyprinus carpio*. *Ecotoxicology*, 693-707.
- Ramana, S., Biswas, A., Kundu, S., Saha, J., & Yadava, R. (2002). Effect of distillery effluent on seed germination in some vegetable crops. *Biosource technology*(82), 273-275.
- Rolz, C. E., & Fajardo, L. R. (2008). Producción de etanol directamente de caña de azúcar en diferente estado de desarrollo. *Revista 17 de la Universidad del Valle de Guatemala*, 56-69.

- Sanchón, M. V. (2002). *Salud Pública y AP de Salud*. Obtenido de La contaminación del agua: <http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/salud-publica-y-atencion-primaria-de-salud/otros-recursos-1/lecturas/bloque-iii/Contaminacion%20del%20agua.pdf>
- Santana, V. S., & Machado, N. R. (2008). Photocatalytic degradation of the vinasse under solar radiation. *Catalysis Today*, 133, 606-610.
- SINC. (2016). *Crean el mayor banco de datos de toxicidad sin ensayos en animales*. Obtenido de <http://www.agenciasinc.es/Noticias/Crean-el-mayor-banco-de-datos-de-toxicidad-sin-ensayos-en-animales>
- Souza, T. S., Hencklein, F. A., Angelis, D. F., & Fontanetti, C. S. (2014). En F. A. T. S. Souza, *Effects of agricultural residues in TPH concentration and genotoxic and mutagenic activities of a landfarming facility at an oil refinery* (págs. 169-184). São Paulo, Brazil: Nova Science Publishers, Inc.
- Sydney, E., Larroche, C., Novak, A., & Soccol, C. (2014). Economic process to produce biohydrogen and volatile fatty acids by a mixed culture using vinasse from sugarcane ethanol industry as nutrient source. *Bioresource Technology*, 380-386.
- Universia. (2012). *¿Cómo mejorar el uso de las vinazas de caña de azúcar?* Obtenido de <http://noticias.universia.net.co/ciencia-nn-tt/noticia/2012/11/29/985415/mejorar-uso-vinazas-cana-azucar.html>
- Vallverdú, J. (2005). La evolución de la Toxicología: de los venenos a la evaluación de riesgos. *Revisión Toxicológica*, 22, 153-161.
- Versteeg, D. J., Stalmans, M., Dyer, S. D., & Janssen, C. (1997). Ceriodaphnia and Daphnia: A comparison of their sensitivity to xenobiotics and utility as a test species. *Chemosphere*, 34(4), 869-892.
- Votto, A. P., Domingues, B. S., Souza, M. M., Júnior, F. M., Calda, S. S., Filgueira, D. M., . . . Trindad, G. S. (2010). Toxicity mechanisms of onion (*Allium cepa*) extracts and compounds in multidrug resistant erythroleukemic cell line. *Biological Research*, 429-437.

### 13. Autoevaluación estudiante

En el tiempo de desarrollo del trabajo de grado me encontraba fuera del país, y a pesar de que el proyecto era de carácter teórico, fue difícil la búsqueda y la obtención de ciertos artículos debido a licencias con las que cuenta la Universidad El Bosque en Bogotá, sin embargo fue gracias a mi director que pude acceder a estos, quien me apoyó como intermediario en la búsqueda de estos archivos en la Biblioteca Juan Roa Vásquez. Fue un gran reto para mí no sólo el hecho de en ocasiones no contar con los archivos necesarios para el desarrollo y lo que fue la estructuración del proyecto, sino que era más difícil el hecho de tener un horario distinto, siendo 7 horas de diferencia con Colombia, el cual impedía en ocasiones la

comunicación con los docentes en Bogotá. Sin embargo, se logró encontrar la manera de comunicarme con mi director y realizar las entregas pertinentes a los jurados. Con el trabajo de grado, aprendí mucho sobre un tema que aunque había escuchado y leído sobre este en un par de ocasiones, en realidad, no conocía mucho sobre este. En lo personal, considero de vital importancia este tipo de revisiones debido a que estas serán las que puedan llegar a reportar los distintos estudios y autores que trabajen un mismo tema, haciendo más fácil la búsqueda y organización de la información para próximos estudios. Debo reconocer, el hecho que me descuidé en el manejo del tiempo para el desarrollo de mi trabajo de grado, me confié y no fui consciente del tiempo tan medido que tenía, lo que me llevó a trasnochos y carreras que me pude haber evitado si hubiera aprovechado y administrado bien mi tiempo. Como a modo de opinión y debido a mi experiencia con el trabajo de grado, considero que es importante, tanto para los estudiantes que realizan su trabajo de grado en el exterior, como para el director y jurados del proyecto, establecer fechas para la entrega de avances y documento final del proyecto, además de determinar los medios de comunicación a utilizar, esto con el fin de que cada uno pueda contar con el tiempo necesario para el buen desarrollo del mismo.