



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**



**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y**

**BIOTECNOLOGÍA**

**CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA**

---

Extracción de celulosa a partir de estiércol de vaca y conejo mediante procesos  
físicoquímicos y mecánicos para la elaboración de filtros

---

Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción: Proyecto de Investigación, previo a la obtención del Título de Ingeniero Biotecnólogo, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

**Autor:** Eder Ariel Paredes Cruz

**Tutora:** MSc. María Daniela Garcés Moncayo

**Ambato – Ecuador**

**Febrero – 2024**

## **APROBACIÓN DEL TUTOR**

MSc. María Daniela Garcés Moncayo

### **CERTIFICA:**

Que el presente Informe final del Trabajo de Titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Informe final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 12 de enero del 2024

---

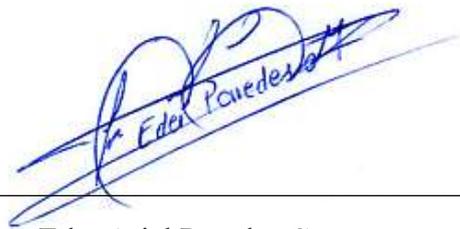
Ing. María Daniela Garcés Moncayo, MSc.

CI 1803571585

**TUTORA**

## **AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**

Yo, Eder Ariel Paredes Cruz, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Informe final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación previo a la pensión del título de Ingeniero Biotecnólogo, son absolutamente originales auténticos y personales de excepción de las referencias bibliográficas.



Eder Ariel Paredes Cruz

C. I. 1727261149

**AUTOR**

## **DERECHOS DE AUTOR**

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Informe Final del Trabajo de Titulación o parte de él, un documento disponible para su lectura consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Informe Final del Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando los derechos de autor



Eder Ariel Paredes Cruz

C. I. 1727261149

**AUTOR**

## **APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO**

Los suscritos profesores calificadores, aprueban el Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:

---

Presidente del Tribunal

---

M.Sc. Danée Fernández Rivero

1757181209

---

Dra. Helena Maritza de la Torre Olvera

1309651998

Ambato, 06 de enero del 2024.

## DEDICATORIA

*Al **Todopoderoso**, quien con su infinita gracia me ha permitido salir victorioso y lleno de gloria en cada batalla de mi vida. Porque yo con Dios, nadie contra mí.*

*A mi madre **Ximena**, mi símbolo de amor más puro, motivo de mis alegrías y fuente de fortaleza para alcanzar cada una de mis metas.*

*A mi padre **Ángel**, el hombre más amoroso, comprensivo, perseverante, valiente y sobre todo mi leal compañero de aventuras, quien me ha impulsado a nunca darme por vencido.*

*Cada uno de mis logros han podido ser alcanzados gracias a su infinito amor y apoyo constante.*

*A mi hermano **Danny**, mi amado compañero de vida y cómplice de travesuras. Tu presencia me ayuda a ser mejor persona.*

*A mi adorada **Luna**, razón y origen de mi trabajo de titulación. Tu compañía y amor ha completado mi ser y a ayuntado la soledad de mi vida.*

**Con amor, Eder Ariel.**

## AGRADECIMIENTO

*Al padre Todopoderoso por vestirme con su gloria, haberme cuidado y sostenido en los momentos más difíciles de mi vida.*

*A mis amados padres, por todo su esfuerzo, sacrificio y por la crianza que me han inculcado. Su ejemplo de lucha, superación y perseverancia me ha permitido mantenerme resiliente ante las adversidades de la vida. Sin su amor y ayuda nada de esto hubiera sido posible.*

*A mi querido hermano, por su amor, protección y apoyo incondicional en cada etapa de mi vida.*

*A mis amados Luna, Macarena, Octavia y Lucas, por llenar de efímeros e incontables momentos de felicidad mi vida y por acompañarme en los días sombríos de la misma.*

*A mi tutora MSc. María Daniela Garcés, quien ha confiado en mi trabajo y me proporcionó las herramientas y conocimientos complementarios durante el desarrollo de este proyecto de investigación.*

*A la Universidad Técnica de Ambato que a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología forjaron mis conocimientos y formación para afrontar la vida laboral.*

*A mis amigos, Cris, Dome, Dais, Meche, Pame, Josué, Nacha, Toby, Nao, Luis, Carmita, Lore, Eugenia, María, Michelle, Nathy, Bryan, Carito y Licha por llenar mi vida de alegrías, aventuras y acompañarme en momentos difíciles de afrontar.*

*Todos y cada de uno de ustedes se han convertido en un pilar fundamental en diferentes etapas de mi vida.*

**Con cariño y gratitud Eder Ariel.**

## ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN .....	iii
DERECHOS DE AUTOR.....	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO.....	v
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTO.....	vii
ÍNDICE DE GENERAL TABLAS .....	xii
ÍNDICE GENERAL DE GRÁFICOS.....	xiii
ÍNDICE GENERAL DE FIGURAS .....	xiv
ÍNDICE GENERAL DE ANEXOS .....	xv
GLOSARIO DE TÉRMINOS.....	xvi
RESUMEN EJECUTIVO .....	xvii
ABSTRAC .....	xviii
CAPÍTULO I.....	1
MARCO TEÓRICO.....	1
1.1 Justificación.....	1
1.2 Sostenibilidad ambiental .....	3
1.3 Impacto de la silvicultura .....	4
1.4 Sector Ganadero: Análisis y relevancia en la actualidad .....	5
1.5 Sector cunicultor: Análisis y relevancia en la actualidad.....	6

1.6	Celulosa: Características .....	7
1.6.1	Presencia de celulosa en el estiércol de vacunos .....	7
1.6.2	Presencia de celulosa en el estiércol de conejos.....	8
1.7	Objetivos .....	10
1.7.1	Objetivo General .....	10
1.7.2	Objetivos específicos.....	10
CAPÍTULO II .....		11
MATERIALES Y MÉTODOS .....		11
2.1	Materiales.....	11
2.2	Métodos.....	12
2.2.1	Recuperación de celulosa contenida en el estiércol de vaca y conejo....	12
	Identificación de los puntos de recolección de materia prima.....	12
	Definición de puntos de recolección del estiércol .....	12
	Periodo de recolección de materia prima.....	13
	Lavado de materia prima .....	13
	Esterilización primaria de materia prima.....	13
	Movilización de materia prima .....	13
	Esterilización secundaria .....	14
	Secado de materia prima.....	14
	Trituración mecánica .....	14
	Empleo de sosa caustica Na(OH) para el despulpado .....	14
	Extracción de licor negro.....	14
	Blanqueamiento de fibra.....	15
	Secado de la pulpa de celulosa .....	15
2.2.2	Elaboración de filtros .....	16
	Preparación de la mezcla .....	16
	Prensado de filtro .....	16
2.2.3	Aplicación de pruebas de integridad para la evaluación de la	
	funcionalidad de los filtros .....	17
	Análisis bromatológico de los filtros .....	17

Determinación de pH .....	17
Determinación de humedad.....	17
Determinación de cenizas .....	17
Análisis microbiológico.....	18
Prueba de <i>E. coli</i> y coliformes .....	18
Prueba de aerobios totales.....	18
Prueba de mohos y levaduras.....	18
Determinación de componentes químicos .....	19
Preparación de la muestra para la caracterización .....	19
Obtención de halocelulosa .....	19
Determinación de alfa – celulosa .....	20
Determinación de gama y beta celulosa.....	21
Prueba de espectroscopia de transición infrarrojo .....	21
Determinación de la eficiencia de filtrado.....	22
CAPÍTULO III.....	23
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	23
3.1    Eficiencia de secado de materia prima esterilizada.....	23
3.2    Rendimiento del proceso de extracción .....	24
3.3    Análisis bromatológico .....	25
3.4    Análisis microbiológico .....	29
3.5    Determinación de componentes químicos de las pulpas de celulosa .....	30
3.6    Prueba de espectroscopia de infrarrojo por Transformada de Fourier (FTIR)	
32	
3.7    Determinación de la eficiencia de filtrado .....	36
CAPÍTULO IV.....	38
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	38

4.1	Conclusiones .....	38
4.2	Recomendaciones.....	39
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40
	ANEXOS.....	56

## ÍNDICE DE GENERAL TABLAS

<b>Tabla 1</b> Listado de equipos y materiales empleados .....	11
<b>Tabla 2</b> Reactivos y cantidades .....	12
<b>Tabla 3</b> Cálculo de rendimiento de celulosa obtenida.....	24
<b>Tabla 4</b> Resultado del análisis de esterilidad de los filtros.....	30
<b>Tabla 5</b> Mediciones de ph de los filtros.....	58
<b>Tabla 6</b> Determinación de contenido de humedad de los filtros elaborados .....	60
<b>Tabla 7</b> Determinación de contenido de cenizas de los filtros elaborados .....	62

## ÍNDICE GENERAL DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1</b> Eficiencia de secado y humedad residual .....	23
<b>Gráfico 2</b> Comparación de medias del ph de las pulpas .....	26
<b>Gráfico 3</b> Comparación de medias del contenido de humedad presente en los filtros .....	27
<b>Gráfico 4</b> Comparación de medias del contenido de cenizas presente en los filtros .....	28
<b>Gráfico 5</b> Componentes de la pulpa de celulosa .....	31
<b>Gráfico 6</b> Determinación del porcentaje de eficiencia de filtrado .....	36

## ÍNDICE GENERAL DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> Comparación de las muestras de celulosa obtenidas con dos muestras comerciales.....	32
<b>Figura 2</b> FTIR de la celulosa extraídas de estiércol de conejo.....	33
<b>Figura 3</b> FTIR de la celulosa extraídas de estiércol de vaca.....	34
<b>Figura 4</b> FTIR de la mezcla de celulosas extraídas de estiércol de conejo y vaca.....	35
<b>Figura 5</b> Recolección de estiércol.....	56
<b>Figura 6</b> Remojo de la materia prima.....	56
<b>Figura 7</b> Esterilización de estiércol.....	56
<b>Figura 8</b> Secado.....	56
<b>Figura 9</b> Trituración mecánica de las fibras.....	56
<b>Figura 10</b> Despulpado con NaOH al 10%.....	56
<b>Figura 11</b> Blanqueamiento con NaClO 5 %.....	57
<b>Figura 12</b> Obtención de celulosa.....	57
<b>Figura 13</b> Elaboración de mezcla y prensado.....	57
<b>Figura 14</b> Filtros estériles.....	57
<b>Figura 15</b> Detalle de la suscripción.....	58
<b>Figura 18</b> Pruebas bromatológicas.....	63
<b>Figura 19</b> Pruebas microbiológicas.....	64
<b>Figura 20</b> Determinación de la eficiencia de filtrado.....	65

## ÍNDICE GENERAL DE ANEXOS

<b>Anexo 1</b> Proceso de extracción de celulosa .....	56
<b>Anexo 2</b> Elaboración de filtro.....	57
<b>Anexo 3</b> Suscripción IBM SPSS Statistics .....	58
<b>Anexo 4</b> Análisis estadístico para el pH .....	58
<b>Anexo 5</b> Análisis estadístico para el contenido de humedad de los filtros .....	60
<b>Anexo 6</b> Análisis estadístico para el contenido de cenizas de los filtros .....	62
<b>Anexo 7</b> Pruebas de integridad .....	63

## GLOSARIO DE TÉRMINOS

- **Cecotrofos:** Heces blandas de doble digestión que generalmente ingieren los conejos.
- **Eq CO<sub>2</sub>:** Equivalente de dióxido de carbono.
- **FAO:** Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
- **Fe (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>:** Sulfato de amonio y hierro (II).
- **Fibrolítica:** Capacidad de degradar o disolver fibras.
- **H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:** Ácido sulfúrico.
- **K<sub>2</sub>CrO<sub>7</sub>:** Dicromato de potasio.
- **Leporinos:** Perteneciente o relativo a conejos.
- **Mercerización:** Proceso químico que se aplica a las fibras celulósicas con el objetivo de mejorar sus propiedades.
- **MM:** Millones.
- **NaOH:** Hidroxido de sodio.
- **Pg:** Peta gramos.
- **yr<sup>-1</sup>:** Por año.

## RESUMEN EJECUTIVO

La celulosa, un polímero altamente biodisponible, se obtiene principalmente de especies maderables, y se proyecta una demanda mundial de 142 mil millones de toneladas para 2030. Este aumento en el consumo, impulsado por diversas industrias, plantea riesgos para la biodiversidad debido a la expansión forestal. Para abordar este problema, se exploró la viabilidad de extraer celulosa a partir de los estiércoles generados por el sector ganadero y cunicultor.

La recuperación de celulosa de los estiércoles se realizó a través, del método de pulpeo alcalino con hidróxido de sodio; para la elaboración de filtros de celulosa se empleó un proceso de prensado. Adicionalmente los filtros fueron sometidos a distintas pruebas de factibilidad para demostrar su eficiencia.

A pesar de los desafíos del proceso, se lograron rendimientos de extracción de celulosa del 45.07 por ciento, 32.18 por ciento y 40 por ciento a partir del estiércol de conejo, vaca y una mezcla de ambos, respectivamente. La pulpa de celulosa muestra valores óptimos de pH entre 7.9 y 8.20, con contenidos de alfa celulosa superiores al 75 por ciento en los tres tratamientos. Los filtros se mantuvieron estériles con niveles óptimos de humedad (menor al 1 por ciento) y cenizas (menor al 4.5 por ciento) a lo largo del tiempo. Los espectros IR indican similitudes con la celulosa comercial, con variaciones atribuibles a la dieta animal y microbiota intestinal. Finalmente, los filtros presentan una eficiencia superior al 81 por ciento en la retención de partículas mayores a 0.0625 mm.

**Palabras clave:** Biotecnología ambiental, sostenibilidad ambiental, biopolímeros naturales, filtros de celulosa, residuos orgánicos, estiércol animal

## ABSTRAC

Cellulose, a highly bioavailable polymer, is primarily obtained from wood species, with a projected global demand of 142 billion tons by 2030. This increase in consumption, driven by various industries, poses risks to biodiversity due to forest expansion. To address this issue, the feasibility of extracting cellulose from manure generated by the livestock and rabbit farming sector was explored.

The cellulose recovery from manure was carried out using the alkaline pulping method with sodium hydroxide; a pressing process was employed for the production of cellulose filters. Additionally, the filters underwent various feasibility tests to demonstrate their efficiency.

Despite the challenges of the process, cellulose extraction yields of 45.07 percent, 32.18 percent, and 40 percent were achieved from rabbit, cow, and a mixture of both manures, respectively. The cellulose pulp exhibited optimal pH values between 7.9 and 8.20, with alpha cellulose contents exceeding 75 percent in all three treatments. The filters maintained sterility with optimal levels of moisture (less than 1 percent) and ashes (less than 4.5 percent) over time. IR spectra indicated similarities with commercial cellulose, with variations attributable to the animal diet and intestinal microbiota. Ultimately, the filters demonstrated an efficiency exceeding 81 percent in retaining particles larger than 0.0625 mm.

**Keywords:** Environmental biotechnology, environmental sustainability, natural biopolymers, cellulose filters, organic waste, animal manure.

# CAPÍTULO I

## MARCO TEÓRICO

### 1.1 Justificación

A pesar de la revolución científica y tecnológica el empleo de celulosa proveniente de fuentes maderables sigue siendo ampliamente usada. De acuerdo con el Departamento de Energía de EE. UU., se espera que las fuentes renovables abastezcan casi el 50% de los productos químicos esenciales para el año 2050 (**Mohanty et al., 2002**). Además, **Gschwandtner, (2022)** señala un aumento proyectado de 142 mil millones de toneladas en la demanda mundial de fibras de celulosa para el año 2030. Según datos del **Ministerio de Comercio Exterior, (2022)** Ecuador generó 244,654 toneladas de celulosa, lo que equivale a un consumo anual de 43 a 45 kilogramos por habitante.

Consecuentemente los datos **FAO, (2018)** revelan que 3.700 millones hectáreas son destinadas a la silvicultura, el 88.88% del total del terreno se consignan al cultivo de especies como pino, eucalipto, melina que son empleadas en la producción de pulpa y papel. Como se evidencia, la industria maderera requiere grandes extensiones de suelo, lo que resulta en la pérdida de biodiversidad y la disminución de la microbiota del suelo (**Lawrence et al., 2022**).

Dada la creciente preocupación por el medio ambiente, se exploran formas innovadoras de aprovechar los subproductos generados por otros sectores, como el ganadero y cunicultor. Según datos del **INEC, (2021)**, se registraron más de 5.2 millones de cabezas de ganado en Ecuador; asimismo dentro del sector cunícola el 98% de conejos se destinan al consumo de carne y el 2% restante se utiliza en labores de investigación y otros.

Ambos campos generan la acumulación de residuos sólidos ricos en celulosa con valores de 20% a 70% en peso seco (**Hernández et al., 2022**). Además, producen materia microbiana, la cual puede desembocar en cuerpos de agua usados para el consumo y riego de cultivos afectando su calidad y promoviendo enfermedades gastrointestinales y cutáneas (**Corral et al., 2021; Pomboza & Parco, 2022**).

En la naturaleza existen diversos tipos de fibras como el algodón, el lino y la celulosa todas tres son empleadas en industrias como la alimentaria, textil, farmacéutica, automotriz, electrónica, etc (**Norrrahim et al., 2021; Sabaruddin et al., 2021**) , no obstante, factores como la disponibilidad, menor costo de producción, biodegradabilidad, eficientes propiedades en la capacidad de retención de partículas y el buen nivel de compatibilidad con alimentos y bebidas debido a que no genera reacciones químicas que alteren las propiedades del producto hacen preferir el uso de la celulosa por encima de otros polímeros naturales (**Sayyed et al., 2021**).

En la biotecnología, los filtros de celulosa desempeñan un papel vital en una amplia gama de aplicaciones. Estos filtros se utilizan para separar células en cultivos celulares, purificar proteínas y ácidos nucleicos, así como para esterilizar medios de cultivo y eliminar partículas no deseadas (**Abdelhamid & Mathew, 2022; Ma et al., 2018**). Además, según **Junter & Lebrun, (2017)** son esenciales en la captura de microorganismos en microbiología y en la preparación de muestras para análisis. Su versatilidad y capacidad para trabajar en entornos estériles los convierten en herramientas fundamentales en la investigación y producción biotecnológica, garantizando la pureza y calidad de los productos finales (**Azimi et al., 2023**).

A nivel comercial existen fibras sintéticas que presentan propiedades similares a artículos de filtrado elaborados a partir de celulosa, celulosa microcristalina y nanocelulosa, sin embargo, el gasto energético durante el estado de producción es más elevado (**Fiore et al., 2016**). Esto genera una respuesta en cadena que inicia con un aumento en la emisión de gases de efecto invernadero, promueve la contaminación del aire y por ende repercute en la generación de enfermedades respiratorias (**Kılınc et al., 2018**). Al tener un origen sintético generalmente la composición de estas fibras suele ser de polipropileno, nailon o poliéster lo cual repercute en el tiempo de degradación pudiendo tomar más de cinco décadas (**Yadav & Hakkarainen, 2021**).

Con el fin de aprovechar las propiedades fisicoquímicas de la celulosa dentro de procesos de filtrado se plantea la extracción del polímero mediante un proceso biotecnológico en el que se transforme los subproductos (estiércoles) generados por el sector ganadero y cunicultor para la elaboración de filtros biodegradables.

## **1.2 Sostenibilidad ambiental**

Se puede definir como desarrollo sostenible al conjunto de acciones que permiten la generación de un bien o servicio de calidad sin comprometer el patrimonio y recursos naturales de futuras generaciones (**Oláh et al., 2020**). Este sistema tiene como objetivo el desarrollo económico circular destinado a conservar los recursos de los ecosistemas en el mayor tiempo posible, maximizando su valor, aprovechando y minimizando residuos (**Jeswani et al., 2020**).

En los últimos años, la preocupación ambiental ha ido creciendo es por ello que **Kirikaleli & Adebayo, (2021)** plantean la idea de que, si se busca alcanzar con eficiencia la sostenibilidad ambiental, es necesario implantar procesos con tecnologías limpias que vayan a la par con técnicas y metodologías de control, medición y evaluación adaptables a las legislaciones nacionales e internacionales, así como también a las políticas económicas y sociales del país.

La sostenibilidad ambiental y la biotecnología están estrechamente relacionadas en la búsqueda de soluciones para los desafíos medioambientales. Una forma particularmente prometedora en la que ambas se fusionan es a través de la valorización de residuos para la generación de soluciones sostenibles (**Leong et al., 2021**). La biotecnología proporciona herramientas innovadoras que permiten la conversión de residuos orgánicos, como desechos agrícolas, aguas residuales y biomasa, en valiosos recursos renovables, incluyendo bioplásticos, biocombustibles y fertilizantes orgánicos (**Chew et al., 2019; Reichert et al., 2020**).

Este proceso implica el uso de técnicas de ingeniería y la aplicación de conocimientos en ciencias naturales para optimizar la transformación de residuos en productos de alto valor. Esto no solo reduce la acumulación de desechos y la

emisión de gases de efecto invernadero, sino que también fomenta una economía circular, destacando el potencial de la biotecnología, la ingeniería y el conocimiento en ciencias naturales para abordar de manera efectiva los desafíos ambientales y avanzar hacia un futuro más sostenible **(Wohlfahrt et al., 2019)**.

### **1.3 Impacto de la silvicultura**

La silvicultura juega un rol importante en la implementación de sistemas de producción sostenibles ligados al aseguramiento de suministros constantes de madera y productos forestales **(Rakatama & Pandit, 2020)**. Esta ciencia busca generar un equilibrio entre la producción continua y la generación de servicios ecosistémicos que abarquen aspectos como la conservación de la biodiversidad, protección de cuencas hídricas y mitigación del cambio climático **(D. Wang et al., 2020)**.

La gestión integral de áreas destinadas al cultivo, cosecha y gestión de árboles y bosques se constituye como una estrategia eficiente para la mitigación del cambio climático llegando a asimilar un 23.8 Pg CO<sub>2</sub> eq. yr<sup>-1</sup> lo que significaría una reducción del 37 % de las emisiones de gases globales para el año 2030 **(Verkerk et al., 2020)**. No obstante, enfocarse en la retención de carbono exclusivamente en ecosistemas forestales no aborda las siguientes cuestiones fundamentales.

En primera instancia, las zonas destinadas a la forestería se constituyen como áreas de cultivo mixtas las cuales funcionan como sumideros de dióxido de carbono hasta que este se satura debido a la mala planificación y a la falta de consideración de estrategias de adaptación para asegurar la resiliencia en ecosistemas boscosos **(Roman et al., 2021)**. Las bajas tasas de resiliencia de zonas silvicultoras no promueven la biodiversidad ni el aseguramiento de los recursos biológicos renovables no forrajeros y no alimentarios generados por un bosque no intervenido **(Verkerk et al., 2020)**.

Desde un análisis económico la silvicultura se presenta como una estrategia de generación de empleo principalmente en países de América Latina y el sudeste

asiático cuyas economías tienen un patrón primario – exportador y de especialización extractivista de poca tecnificación y con enfoque en las ganancias **(Merizalde et al., 2023)**. En Ecuador este sector generó 2.034 plazas de trabajo y una aportación al PIB de \$630.07 MM en el año 2022 **(Corporación Financiera Nacional, 2023)**, dentro de este contexto, los bosques, actúan como proveedores de materias primas y desempeñan un papel positivo en la esfera económica del país.

#### **1.4 Sector Ganadero: Análisis y relevancia en la actualidad**

La ganadería desempeña una función fundamental en los sistemas alimentarios, ya que representa una valiosa fuente de proteínas de extrema calidad así como de nutrientes esenciales, vitaminas, minerales y grasas **(Tullo et al., 2019)**. Además, la cría de ganado permite aprovechar áreas que no son adecuadas para la agricultura como praderas mientras se obtiene subproductos y compuestos orgánicos **(Carvalho et al., 2020)**.

El ganado también juega un papel destacado en los ciclos de nutrientes y brinda a quienes se dedican a su cuidado ingresos, bienes y medios de subsistencia. El sector ganadero ha experimentado una mayor especialización e industrialización, lo que ha llevado a un incremento en sus huellas ambientales **(Grossi et al., 2019)**. Estos impactos incluyen mayores emisiones de gases de efecto invernadero, exceso de nitrógeno, cambios en el uso del suelo y deforestación **(Tabassum-Abbasi et al., 2016)**.

Estas circunstancias plantean perspectivas preocupantes, ya que, de acuerdo con las últimas estimaciones de la **FAO, (2019)** se prevé un incremento adicional del 70% en la producción ganadera para el año 2050. Para el Ecuador la ganadería representa una actividad económica importante según cifras del **INEC, (2021)**, existe un aproximado de 5.2 millones de cabezas de ganado, dentro de este grupo predomina el ganado vacuno, seguido por las vacas destinadas a la producción lechera **(Corporación Financiera Nacional, 2022)**.

En el caso del ganado vacuno más del 95% se destina al consumo de carne y el restante a la reproducción. De la explotación del ganado lechero un 69% se destinó a la producción de leche, el 29% del ordeño se destinó para el procesamiento en finca, específicamente para la elaboración de quesos y quesillos, mientras que un 2% se destinó para consumo familiar (INEC, 2021).

### **1.5 Sector cunicultor: Análisis y relevancia en la actualidad**

La cunicultura hace referencia a las prácticas de crianza, reproducción manejo y venta de conejos con diferentes fines dentro de los que se destaca, la producción de carne la cual busca asegurar la soberanía alimentaria debido a que se constituye como una fuente de proteína de alta calidad. Otros propósitos son la experimentación animal y en menor medida se encuentra la manufactura del pelaje y uso como mascotas (Mancini & Paci, 2021; Mutsami & Karl, 2020).

En los últimos años este sector ha ido tomando más fuerza debido a los aportes de los animales en labores de investigación y generación de ingresos económicos por su comercialización, por lo cual se ha prestado especial atención en aspectos como, el mejoramiento genético, identificación de marcadores genéticos y la incidencia de condiciones bióticas y abióticas en el desarrollo de la especie (Rödel, 2022).

En el Ecuador, el 98% del sector cunícola destina la crianza de conejos para la obtención de carne, mientras el 1.5% restante es empleado en labores de investigación dentro de bioterios, el 0.5% corresponde a animales considerados mascotas(INEC, 2021). Asimismo, dentro del territorio nacional existen dos formas de explotación, la primera de ellas considerada a pequeña escala en donde existen menos de 20 reproductoras por camada; es de carácter no comercial y de autoconsumo. La segunda forma es con miras a la explotación industrial con un promedio de 350 reproductoras las cuales se distribuyen según la densidad poblacional de la camada (López, 2022).

## 1.6 Celulosa: Características

La celulosa  $(C_6H_{10}O_5)_n$  es un carbohidrato complejo que se encuentra principalmente en la pared celular de las plantas brindando soporte y rigidez a las mismas; este polisacárido se encuentra formado por moléculas de cadena lineal de (1,4) – D – glucopiranosas, su unión forman microfibrillas cuyo diámetro oscila entre 2 a 10 nanómetros(nm) y 25nm de longitud (T. Li et al., 2021).

Debido a su versatilidad, **Abouzeid et al., (2019)** afirman que la celulosa tiene varias aplicaciones en diferentes campos como el textil, industrial, farmacéutico y biomédico. Este tipo de fibra natural es la más abundante en el planeta y su uso se debe a que posee excelentes propiedades fisicoquímicas, biodegradables, biocompatibles, térmicas, mecánicas y benignas (Soares & Santos, 2019).

Sin embargo, como se mencionó con anterioridad las principales fuentes de celulosa son de origen maderable por lo cual es necesario la aplicación de procesos mecánicos y químicos para la separación de componentes como la lignina y la hemicelulosa (K. Liu et al., 2021). Hoy en día se buscan alternativas para obtener celulosa de otras fuentes, dentro de las cuales se destaca el empleo de bacterias y la recuperación de celulosa a partir de desechos orgánicos (Amirah et al., 2022; Blanco Parte et al., 2020).

### 1.6.1 Presencia de celulosa en el estiércol de vacunos

La celulosa es un carbohidrato complejo de difícil degradación en el caso de los rumiantes no poseen enzimas digestivas que sean capaces de descomponerla, no obstante, el ganado vacuno ha generado diversas asociaciones simbióticas con los microorganismos presentes en el rumen (ubicado antes del intestino delgado)(Gomez et al., 2019).

Dentro del rumen los microorganismos descomponen la celulosa en componentes simples como azúcares y ácidos grasos de cadena corta, sin embargo, gran parte de la celulosa no puede ser absorbida y digerida, por lo cual recorre todo el sistema digestivo y es expulsada en forma de estiércol, se estima que existe entre el 20 y

45% de celulosa en peso seco (Mao et al., 2015). A continuación, se detalla la microbiota típica del rumen.

- **Bacterias:** Se encuentran las de los géneros, *Prevotella*, *Ruminococcus*, *Fibrobacter*, *Butyrivibrio*, *Succinivibrio*, *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Clostridium*.
- **Protozoo:** Los principales géneros son, *Entodinium*, *Diplodinium*, *Isotricha*, *Ostracodinium*, *Epidinium*.
- **Hongos:** De los géneros, *Neocallimastix*, *Piromyces*, *Anaeromyces*, *Orpinomyces*
- **Arqueas metanogénicas:** Los géneros representativos son, *Methanobrevibacter*, *Methanosphaera*, *Methanomicrobium*, *Methanomassiliicoccus*.

### 1.6.2 Presencia de celulosa en el estiércol de conejos

El sistema digestivo de los conejos no contiene enzimas que permitan la completa degradación de la celulosa, sin embargo, Hu et al., (2021) sostienen que el tracto intestinal está colonizado por microorganismos como:

- **Bacteroidetes:** Dentro de este género se encuentran bacterias como *Bacteroides*, *Prevotella* y *Ruminococcus* micoorganismos responsables de la degradación de fibra vegetal como la celulosa y hemicelulosa.
- **Firmicutes:** Integran bacterias del género *Ruminococcus*, *Clostridium* y *Streptococcus* sirven como coadyuvantes en la degradación de la fibra vegetal.
- **Proteobacteria:** Son responsables de procesos de fermentación y metabolismo de los alimentos; los principales géneros son *Escherichia* y *Klebsiella*.
- **Actinobacteria:** Se encargan de la producción de vitaminas y la degradación de la fibra vegetal un claro ejemplo de esto es el género *Bifidobacterium*.

Como indican **Cotozzolo et al., (2020)** el trabajo de las bacterias inicia con la fermentación en el ciego, aquí se da lugar a la descomposición de celulosa y fibras vegetales complejas originando compuestos más simples como ácidos orgánicos, ácidos grasos de cadena corta y gases. Posteriormente como resultado de la fermentación bacteriana se da la formación de cecotrofos los mismos que tienen una forma esférica, de textura blanda y pegajosa ricas en nutrientes y celulosa (40 a 65% de peso en seco)

## **1.7 Objetivos**

### **1.7.1 Objetivo General**

- Extraer celulosa a partir de estiércol de vaca y conejo mediante procesos fisicoquímicos-mecánicos para la elaboración de filtros.

### **1.7.2 Objetivos específicos**

- Recuperar la celulosa contenida en el estiércol de vaca y conejo.
- Elaborar filtros a partir de materia prima obtenida.
- Evaluar la funcionalidad de los filtros con pruebas de integridad,

## CAPÍTULO II MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Materiales

A continuación, se detallan los equipos, materiales y reactivos empleados en el presente trabajo de investigación.

**Tabla 1** Listado de Equipos y Materiales Empleados

Equipos	Materiales
Autoclave	Botellas de vidrio tapa azul
Balanza analítica	Embudo buchner
Bomba al vacío	Frascos ámbar
Cámara de flujo laminar	Fundas ziploc
Campana extractora	Matraz quitasato
Cocina	Mechero bunsen
Espectroscopio infrarrojo (PerkinElmer Spectrum Two)	Mechero de alcohol
Estufa	Micropipeta 1000 $\mu$ L
Incubadora	Pinzas
Licuada	Pipetas serológicas
Microscopio óptico	Placas PTRFLM Aerobios Totales
Mufla	Placas PTRFLM <i>Escherichia coli</i> y coliformes
Nevera	Placas PTRFLM mohos y levadura
pH – metro	Tubos de ensayo
Plancha de calentamiento	Vasos de precipitación 100 – 2000 mL
Prensa	Botellas de vidrio tapa azul
Vortex	Embudo buchner
	Frascos ámbar

**Tabla 2** *Reactivos y Cantidades*

<b>Reactivo</b>	<b>Cantidad</b>
Ácido acético glacial	25 mL
Ácido sulfúrico	250 mL
Dicromato de potasio	25 g
Etanol (70 % y 96 %)	1 L
Hidróxido de sodio	600 g
Hipoclorito de sodio	5 L
Sulfato de amonio y hierro (II)	75 mL
Tolueno	210 mL

## **2.2 Métodos**

### **2.2.1 Recuperación de celulosa contenida en el estiércol de vaca y conejo**

#### **Identificación de los puntos de recolección de materia prima**

El estiércol de conejo y de vaca fue receptado de la finca del Sr. Manotoa Mejia Mario Germán, ubicada en el recinto Sillagua, perteneciente a la parroquia Moraspungo, del cantón Pangua, Provincia de Cotopaxi. La propiedad estaba destinada a la cría y producción de ganado bovino, y se consignó un espacio para la crianza y consumo de especies menores (conejos).

#### **Definición de puntos de recolección del estiércol**

Se establecieron dos puntos de recolección del estiércol, uno por cada tipo de animal, los cuales estaban dentro de la propiedad antes mencionada. Para los residuos del ganado, se construyó un área de almacenamiento sobre un piso de cemento con materiales como plásticos y cartones. El estiércol de los conejos se depositó en un saco de polipropileno, el cual se ubicó a un lado de la zona de cría. En ambos casos, se evitó el contacto con factores ambientales que ocasionaran la diseminación del estiércol fuera del área delimitada.

### **Periodo de recolección de materia prima**

Se seleccionaron los especímenes más jóvenes de los rebaños de conejos y vacas para iniciar la recolección diaria de cada tipo de estiércol. La recolección finalizó cuando se juntaron 2 kg de estiércol de vaca, el peso fue estimado en base a la metodología de **Chuiza et al., (2022)**, mientras que para el estiércol de conejo se juntaron 3 kg; este valor fue mayor debido a que el excremento de conejo se producía en menor cantidad, pero contenía un mayor porcentaje de celulosa y fue útil como aglutinante no maderable (**Escamilla et al., 2017**).

### **Lavado de materia prima**

Se empleó un recipiente con la capacidad necesaria para retener los 5kg de heces. De acuerdo con el protocolo descrito por **Cevallos et al., (2021)** se llenó el recipiente con 10L de agua y se dejó reposar por 24 horas; este proceso se repitió tres veces con la finalidad de precipitar partículas adheridas al estiércol.

### **Esterilización primaria de materia prima**

Debido a la presencia de poblaciones de microorganismos en el excremento de los animales se lo esterilizó a 100°C durante 4h, para lo cual, se añadieron un litro de agua por cada 1kg estiércol, de acuerdo con lo mencionado por de **Chuiza et al., (2022)**.

### **Movilización de materia prima**

Se trasladó los desperdicios orgánicos siguiendo las medidas de bioseguridad de **Soyer & Yilmaz, (2020)**, el estiércol se colocó en fundas de auto clavado las mismas que se introdujeron en un cooler el cual fue introducido dentro de una funda plástica con el fin de evitar algún tipo de contaminación cruzada.

### **Esterilización secundaria**

Se envió al autoclave las fundas que contiene cada uno de los estiércoles para ser sometidas a un segundo proceso de esterilización bajo las siguientes condiciones 121°C y 15psi durante 15 minutos.

### **Secado de materia prima**

El proceso de secado se realizó en base a lo propuesto por **Jha & Kumar, (2019)**, se envió el estiércol esterilizado a la estufa de secado a una temperatura de 105°C por un tiempo de 7h, con la finalidad de eliminar el exceso de agua.

### **Trituración mecánica**

Se degradó las fibras en una licuadora comercial para obtener la pulpa, se empleó 500 mL de agua por cada 100 g materia prima, según **Amirah et al., (2022)**, se procesó por intervalos de 2 minutos hasta obtener una pasta de celulosa homogénea.

### **Empleo de sosa caustica Na(OH) para el despulpado**

Para el proceso de des lignificación se diluyó NaOH al 10% en 1 L de agua. A continuación, se incorporó la pulpa dentro del tanque de despulpado y se llevó a cocción en una plancha de calentamiento por 4 horas a 150°C para obtener el licor negro. Una vez transcurrido el tiempo necesario se dejó reposar la mezcla durante 24 h.

### **Extracción de licor negro**

Cumplidas las 24 h se procedió a separar los residuos de ligninocelulosa contenidos en el licor negro de la pulpa procesada, para ello se empleó una tela de lienzo. Se midió el pH del licor obtenido, posteriormente se lavó la pulpa se con 10L de agua hasta que se obtuvo un pH igual a cercano a 7

## **Blanqueamiento de fibra**

Se colocó la pulpa lavada en un vaso de precipitación, posteriormente se incorporó 400 mL de agua y 800 mL de hipoclorito de sodio para obtener la relación 2:1; las condiciones de trabajo fueron de 65°C durante 45 minutos, finalizado este tiempo se lavó la pulpa con aproximadamente 5 L de agua hasta obtener un pH cercano a 7.

## **Secado de la pulpa de celulosa**

Se envió la pulpa blanqueada a la estufa durante 24 h a 70°C con el fin de eliminar el exceso de agua, transcurrido el tiempo mencionado se dejó enfriar la pulpa bajo condiciones ambientales. Una vez enfriada se almacenó dentro de fundas ziploc. Al finalizar la etapa experimental I, se determinó el porcentaje de humedad reducida, mediante la ecuación 1.

$$\% \text{ Humedad} = \left( \frac{P_{MH} - P_{MS}}{P_{MS}} \right) * 100 \quad [Eq. 1]$$

Donde,

$P_{MH}$  = Peso de la muestra húmeda

$P_{MS}$  = Peso de la muestra seca

Mientras que para la determinación de la eficiencia del proceso de secado se empleó la ecuación 2

$$\text{Eficiencia de secado}(\%) = \frac{M_f}{M_o} * 100 \quad [Eq. 2]$$

Donde,

$M_f$  = Masa final

$M_o$  = Masa inicial

### **2.2.2 Elaboración de filtros**

A partir de las pulpas obtenidas se realizaron tres filtros diferentes, uno utilizando la pulpa de celulosa extraída de estiércol de conejo, otro empleando la pulpa de celulosa extraída del estiércol de vaca y finalmente, un tercer filtro proveniente de una mezcla de ambos estiércoles.

#### **Preparación de la mezcla**

Se tomó 10 g de pulpa de celulosa seca y se la mezcló con 250 mL de agua destilada, posteriormente se procesó la muestra en una licuadora comercial hasta obtener una pasta acuosa.

#### **Prensado de filtro**

Se colocaron 25 mL de la solución preparada en el molde de la prensa y se aplicó fuego bajo a través de una cocina industrial durante 25 minutos para evaporar el agua sin alcanzar su punto de ebullición. Luego, se incrementó la intensidad de la llama durante 20 minutos, evitando aplicar excesiva presión para evitar la formación de orificios en la superficie del filtro.

Una vez que toda el agua se había evaporado, se retiró el filtro del molde, previamente se creó una zona estéril utilizando dos mecheros de alcohol. El filtro se mantuvo en el área estéril durante 3 minutos para permitir que se enfriara, y finalmente se guardó en una bolsa ziploc estéril. El manejo del filtro se llevó a cabo utilizando guantes y pinzas estériles con el fin de evitar cualquier contaminación posible.

### 2.2.3 Aplicación de pruebas de integridad para la evaluación de la funcionalidad de los filtros

#### Análisis bromatológico de los filtros

##### Determinación de pH

Se colocó 25 mL de pulpa de celulosa hidratada en un matraz Erlenmeyer de 100 mL, posteriormente, se colocó 50 mL de agua destilada y se homogenizó la muestra. A continuación, se procedió con la calibración del pH – metro, a continuación, se introdujo el electrodo en la solución y se anotó el valor.

##### Determinación de humedad

Se inició registrando el peso de cada filtro y se lo colocó en un crisol libre de humedad el mismo que fue pesado con y sin la muestra. A continuación, se dejó el crisol en la estufa bajo condiciones controladas ( $105 \pm 3^\circ\text{C}$  durante 24 horas), pasado el tiempo se dejó enfriar la muestra a temperatura ambiente en un desecador. Finalmente, tras enfriar, se procedió a pesar el recipiente. Para el cálculo de humedad en los filtros se empleó la Eq. 1.

##### Determinación de cenizas

Se comenzó pesando los filtros y se lo colocó en un crisol de peso conocido. A continuación, se los sometió a calcinación en mufla a  $525^\circ\text{C}$  durante 3 horas. Para finalizar, se dejó enfriar la muestra en un desecador y se anotó el peso. La determinación del contenido de cenizas se realizó a través de la ecuación 3.

$$\% \text{ Cenizas} = \left( \frac{P_{CMC} - P_C}{P_{CM} - P_C} \right) * 100 \quad [Eq. 3]$$

Donde,

$P_{CMC}$  = Peso del crisol + muestra calcinada

$P_C$  = Peso del crisol

$P_{CM}$  = Peso del crisol + muestra

## **Análisis microbiológico**

### **Prueba de *E. coli* y coliformes**

Para la determinación de *E. coli* y coliformes se empleó MC – Media Pad *E. coli* & Coliformes como medio de cultivo. Se comenzó tomando un gramo de un filtro estéril y se lo colocó en 9 mL de solución salina, posteriormente se homogenizó la muestra con ayuda de un vortex. Una vez diluida la celulosa, se retiró parcialmente la película protectora y se pipeteó 500 µL de solución sobre la almohadilla, finalizado este paso se procedió a sellar la película aplicando una ligera presión. Las placas fueron enviadas a incubación durante un período de  $24 \pm 2$  horas bajo condiciones controladas de temperatura de  $35^\circ \pm 1^\circ\text{C}$ . Para la interpretación se tuvo presente dos criterios: Se contaron todas las colonias de colores azul-verde/azul como coliformes y para el recuento de *E. coli*, solo se contó las colonias de color rojo-púrpura/azul marino.

### **Prueba de aerobios totales**

Se emplearon las 3M™ Placas Petrifilm™ para el Recuento de Aerobios AC. Se comenzó tomando 1 g de un filtro estéril y se lo colocó en 9 mL de solución salina, posteriormente se homogenizó la muestra con ayuda de un vortex. Una vez diluida la celulosa, se retiró parcialmente la película protectora y se pipeteó 500 µL de solución sobre la almohadilla, finalizado este paso se procedió a sellar la película aplicando una ligera presión. Las placas fueron enviadas a incubación durante un período de  $24 \pm 2$  horas bajo condiciones controladas de temperatura de  $35^\circ \pm 1^\circ\text{C}$ . Para la interpretación se tuvo presente el siguiente criterio: Se contaron todas las colonias de color anaranjado/rojizo.

### **Prueba de mohos y levaduras**

Se emplearon las 3M™ Placas Petrifilm™ para el Recuento de Mohos y Levaduras. Se comenzó tomando 1 g de un filtro estéril y se lo colocó en 9 mL de solución salina, posteriormente se homogenizó la muestra con ayuda de un vortex. Una vez

diluida la celulosa, se retiró parcialmente la película protectora y se pipeteó 500  $\mu\text{L}$  de solución sobre la almohadilla, finalizado este paso se procedió a sellar la película aplicando una ligera presión. Las placas fueron enviadas a incubación durante un período de 48 – 72 horas bajo condiciones controladas de temperatura de  $25^\circ \pm 1^\circ\text{C}$ . Para la interpretación se tuvo presente el siguiente criterio: Se contaron todas las colonias de color rojizo.

## **Determinación de componentes químicos**

### **Preparación de la muestra para la caracterización**

Para la determinación de celulosa, se empleó la metodología de **Prado et al., (2012)**. Se inició tomando una muestra seca de 10 g de celulosa y se trituró. Luego, se colocó la muestra en un matraz Erlenmeyer de 500 mL y se añadieron 200 mL de una mezcla de solventes etanol-tolueno en proporción 1:2 en volumen. La muestra se dejó en reposo durante 6 horas. Posteriormente, se realizó un lavado con etanol de alta pureza (95%) y se procedió a una segunda extracción con el mismo compuesto durante 4 horas. Finalmente, se llevó a cabo un lavado de la muestra con 500 mL de agua destilada a temperatura ambiente.

### **Obtención de halocelulosa**

Se tomaron 2.5 gramos de la muestra libre de extraíbles y se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 300 mL. A continuación, se añadieron 80 mL de agua destilada caliente ( $\approx 80^\circ\text{C}$ ) y se colocó el matraz en un baño termostático a  $70^\circ\text{C}$  con agitación periódica para homogeneizar. Luego, se procedió a agregar 0.5 mL de ácido acético glacial ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) y 2.6 mL de clorito de sodio ( $\text{NaClO}_2$ ) al 25% cada 60 minutos, hasta completar un período de 6 horas. Después de las 6 horas, se mantuvo la muestra en un baño termostático a  $10^\circ\text{C}$  sin agregar ningún compuesto durante 12 horas. Luego, la mezcla se filtró utilizando un filtro Gooch de porosidad fina, y el filtrado se dejó secar durante 24 horas a  $105^\circ\text{C}$  en una estufa. Finalmente, se enfrió y se pesó.

## Determinación de alfa – celulosa

Se comenzó pesando 2 gramos de muestra de halocelulosa seca y se colocó en un vaso de precipitado de 300 mL. Luego, se añadieron 35 mL de hidróxido de sodio (NaOH) al 17% y se mezclaron con una varilla de vidrio. Se continuó agregando cada 5 minutos 2.5 mL de la misma solución (NaOH) hasta completar un volumen de 100 mL. Después de completar este proceso, se añadieron 100 mL de agua destilada y se mantuvo la muestra a 20°C durante una hora, luego se procedió a filtrar.

A continuación, se colocaron 10 mL de la solución filtrada en un matraz de 250 mL, y se agregaron 20 mL de  $K_2Cr_2O_7$  0.5N y 30 mL de  $H_2SO_4$  concentrado, manteniendo la muestra caliente durante 15 minutos. Luego, se incorporaron 50 mL de agua para dejar enfriar el analito a temperatura ambiente. Finalmente, se agregaron de 2 a 4 gotas de ferroin (indicador) y se tituló con 0.1N de solución  $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$  hasta que se produjo el viraje a coloración.

Para la titulación del blanco, se agregaron 10 mL de la pulpa con 12.5 mL de NaOH al 17.5% y 12.5 mL de agua, lo que resultó en un viraje de color de naranja/verde a púrpura.

El contenido de  $\alpha$  – celulosa se calculó con la siguiente fórmula:

$$alfa - celulosa, \% = \frac{6.85 (V_2 - V_1) \times N \times 20}{A \times W} \quad [Eq. 4]$$

Donde,

$V_1$ : Titulación del filtrado de la pulpa, mL

$V_2$ : Titulación en blanco, ml

$N$ : Normalidad exacta de la solución de sulfato de amonio y hierro (II)

$A$ : Volumen del filtrado de la pulpa usado en la oxidación, mL

$W$ : Peso del espécimen de la pulpa secada en la estufa, g

## Determinación de gama y beta celulosa

Se determinó la beta y gamma celulosa de la siguiente manera: se comenzó pipeteando 50 mL del filtrado de pulpa en una probeta graduada de 100 mL con un tapón de vidrio esmerilado. Luego, se agregaron 50 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 3N y se mezcló por inmersión. A continuación, el cilindro se calentó sumergiéndolo en un baño de agua caliente a una temperatura de unos 70 a 90°C durante varios minutos para coagular la beta-celulosa. Se permitió que el contenido reposara durante varias horas para que el precipitado se asentara. Luego, se decantó o filtró si fue necesario para obtener una solución transparente.

Por otro lado, se pipetearon 50 mL de la solución transparente y 10.0 mL de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 0.5 N en un matraz de 300 mL. Luego, se agregaron 90 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado y se calentó la solución durante 15 minutos. Para finalizar, se añadieron de 2 a 4 gotas de ferroin (indicador) y se tituló con 0.1 N de solución Fe (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> hasta que se produjo el viraje a una coloración.

Para la titulación del blanco, se llevó a cabo una titulación en blanco sustituyendo la solución con 12.5 mL de NaOH al 17.5%, 12.5 mL de agua y 25 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 3N.

El contenido de  $\gamma$  – celulosa se calculó con la siguiente fórmula:

$$\text{gamma celulosa, \%} = \frac{[6.85 (V_2 - V_1) \times N \times 20]}{25 \times W} \quad [Eq. 5]$$

Donde,

$V_3$ : Titulación de la solución después de la precipitación de la beta-celulosa, mL

$V_4$ : Titulación del blanco, mL

El contenido de  $\beta$ – celulosa se calculó con la siguiente fórmula:

$$\text{Beta – celulosa, \%} = 100 - (\alpha - \text{celulosa \%} + \gamma - \text{celulosa \%}) \quad [Eq. 6]$$

## Prueba de espectroscopia de transición infrarrojo

La caracterización se llevó a cabo utilizando el espectrofotómetro Infrarrojo por Transformada de Fourier (FT-IR) situado en el laboratorio de Canje de deuda –

España perteneciente a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato. Se comenzó tomando 1 g del filtro y se colocó la muestra en el compartimiento de medición del espectrofotómetro. Para el análisis de las muestras se empleó el programa Spectra Analysis en un rango de 4000 cm<sup>-1</sup> a 500 cm<sup>-1</sup> empleando una resolución de 4 cm<sup>-1</sup>.

### **Determinación de la eficiencia de filtrado**

Se llevaron a cabo tres diluciones McFarland con *E. coli*, *Bacillus subtilis* y *Saccharomyces cerevisiae*, utilizando un estándar de 0.5 en 100 mL. Además, se preparó una solución que constaba de 50 g de arena disueltos en 100 mL de agua. Las cuatro soluciones se sometieron a filtración al vacío utilizando los tres tipos de filtros diseñados. En el caso de las soluciones con microorganismos, tras el filtrado se incubó el filtro y se contaron las colonias, las cuales se multiplicaron por el factor de dilución correspondiente.

Respecto a las filtraciones con arena, una vez la solución pasó a través de la membrana, se colocó el filtro en una estufa de secado durante 24 h a 105°C ±3 °C y se registró el peso de la cantidad retenida al final del proceso. Previamente se registró el peso del filtro y se le restó a la masa total después del proceso de secado. Mediante la ecuación 7, se determinó el número de partículas retenidas en el filtro.

$$N_r = C_i - C_f \quad [Eq. 7]$$

Donde,

$N_r$  = Número de partículas

$C_i$  = Concentración inicial de partículas

$C_f$  = Concentración final de partículas retenidas

A continuación, se aplicó la ecuación 8 para determinar el porcentaje de la eficiencia de filtrado.

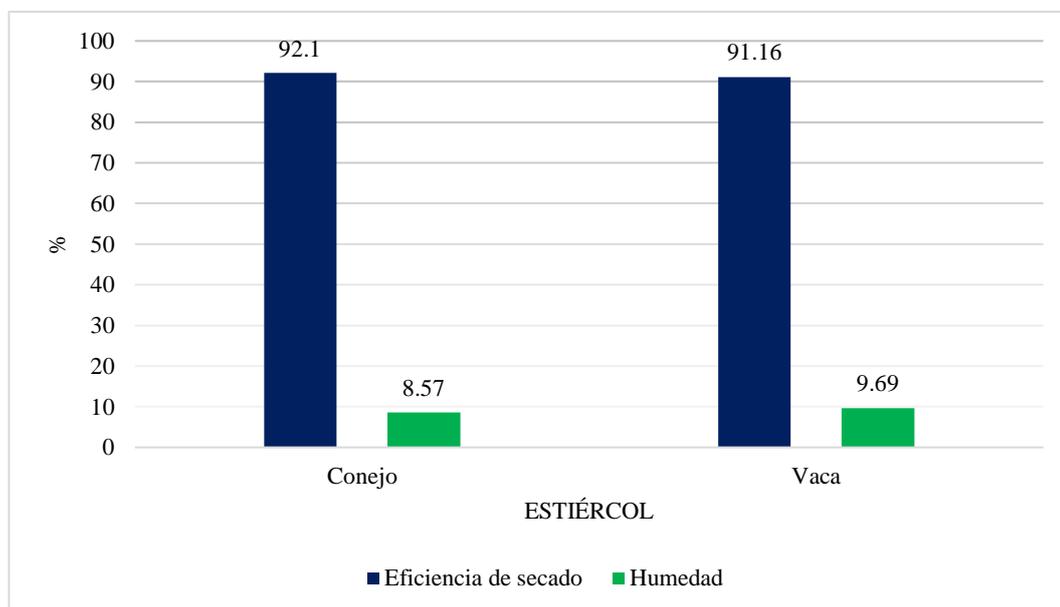
$$\%E_f = \left[ 1 - \left( \frac{N_r}{C_i} \right) \right] * 100 \quad [Eq. 8]$$

## CAPÍTULO III RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 Eficiencia de secado de materia prima esterilizada

El estiércol presenta una composición diversa que incluye tanto materia orgánica como inorgánica, restos fibrosos no descompuestos, niveles variables de humedad y microorganismos procedentes de la microbiota del animal (Wu & Bao, 2023). De acuerdo con la literatura, de la masa total del estiércol de conejo aproximadamente el porcentaje de agua presente es de 65 a 85 %, mientras que el porcentaje de humedad en muestras heces de ganado es de 35 a 65 % (R. Li et al., 2022; Moussa Baldé et al., 2019). El Gráfico 1 muestra una reducción el contenido de humedad en el estiércol de conejo (8.57 %) y vaca (9.69 %) esterilizado y secado.

**Gráfico 1** Eficiencia de secado y humedad residual



La reducción de la masa del estiércol es proporcional a la disminución del contenido de humedad, debido a que a través del proceso de secado la masa de agua se evapora. No obstante, eliminar el agua evita la proliferación microbiana y pudrición alargando la vida útil de la materia prima (de Holanda Pasolini et al., 2023). La eficiencia de secado del estiércol de conejo y vaca mostró valores de 92.10% y 91.16% respectivamente. La diferencia entre estos valores se ve influenciado por

las propiedades físicas de cada estiércol como su textura, porosidad y granulometría (Feng et al., 2019).

### 3.2 Rendimiento del proceso de extracción

Existen diversos métodos de extracción de celulosa, la elección de este debe evitar hacer cambios radicales en la estructura del polímero, así como también, dependerá del origen de la materia prima y la aplicación que se le quiera dar a la celulosa (Lin et al., 2021). El método de mercerización con sosa caustica a una concentración del 10% en conjunto con condiciones elevadas de temperatura, permite generar cambios físicos y químicos a nivel estructural, asimismo permiten la eliminación de sustancias no deseadas como la lignina y hemicelulosa (Ferro et al., 2020; Kumar et al., 2021).

En lo que respecta a cambios físicos un medio alcalino penetra las fibras ocasionando un hinchamiento lateral y un encogimiento longitudinal mejorando así su brillo, resistencia y capacidad de absorción (Sawada et al., 2022). A nivel químico se genera el rompimiento de los enlaces de hidrogeno permitiendo la inserción del NaOH obteniendo como producto la álcali celulosa la misma que al ser lavada con agua elimina el exceso de NaOH y mantiene las propiedades adquiridas (Marzouki et al., 2019).

**Tabla 3** *Cálculo de rendimiento de celulosa obtenida*

<b>Fuente de origen</b>	<b>Cantidad inicial empleada (g)</b>	<b>Cantidad final recuperada (g)</b>	<b>Rendimiento de celulosa cruda (%)</b>
Conejo	100.00	45.07	45.07
Vaca	100.00	32.18	32.18
Mezcla*	200.00	80.00	40.00

Nota: \* Elaborada con 100 g de cada tipo de estiércol

Después del tratamiento alcalino y secado del estiércol de vaca en la Tabla 3 se muestra el rendimiento obtenido (32.18 %), el ensayo de Mora (2021), muestra un rendimiento del 69.82% debido a una reducción en la concentración del NaOH y

duración del despulpado. De acuerdo con **Amirah et al., (2022)**, el rendimiento de la pulpa se ve influenciado por la concentración de hidróxido de sodio, el tiempo de cocción y la temperatura aplicada. No obstante, para **He et al., (2021)** una solución alcalina concentrada (18 %) a alta temperatura ( $>90$ ;  $\leq 150$ ) remueve mayor cantidad de lignina, además, genera tamaños de partícula más pequeños así como una mayor estabilidad térmica y una superficie más densa en la celulosa sin afectar su estabilidad.

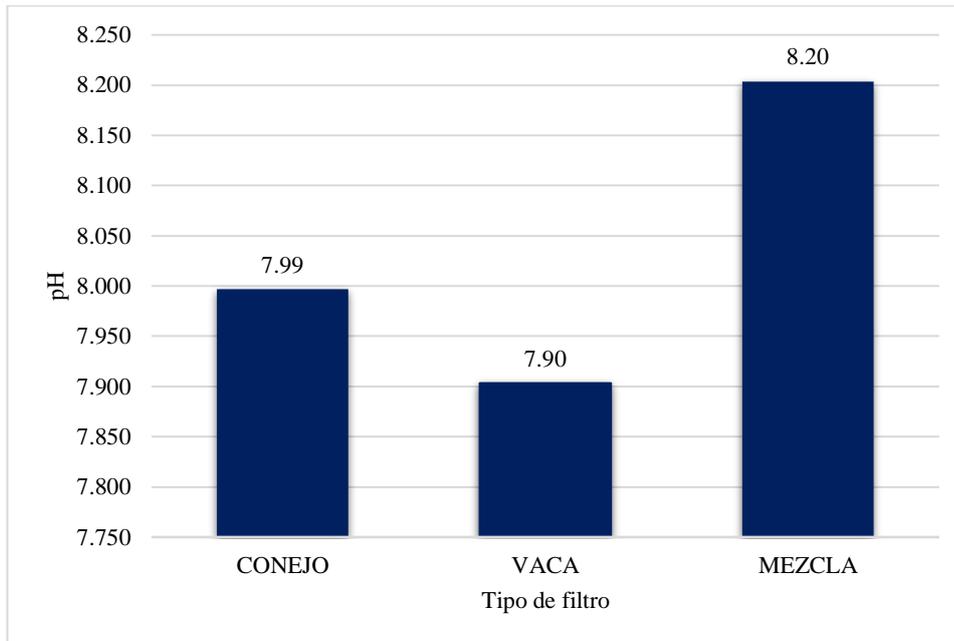
Aunque no se disponga de datos específicos sobre el rendimiento de extracción de celulosa a partir del estiércol de conejo o de una combinación de estiércol de vaca y conejo, investigaciones como las de **Chaparro et al., (2021)** y **Guerrero, (2021)** revelan valores de celulosa cruda comprendidos entre 21.8 % y 36.5 % representando un rendimiento bajo teniendo en consideración que la materia prima son residuos orgánicos y pastos, cuyos contenidos de lignina son bajos, por consiguiente, el proceso de mercerización contempla condiciones mínimas de NaOH, tiempo y temperatura.

### **3.3 Análisis bromatológico**

Mediante la caracterización bromatológica de la pulpa de celulosa extraída a partir del estiércol de conejo y vaca se puede corroborar la incidencia del pH sobre las fibras de los filtros. El Gráfico 2 denota el pH presente en las tres pulpas después del tratamiento alcalino y blanqueamiento.

De acuerdo con el análisis ANOVA y prueba TUKEY (ANEXO 4) se evidencia que existe una diferencia significativa entre la media de los valores de pH de la pulpa de conejo ( $7.99 \pm 0.208$ ), vaca ( $7.90 \pm 0.152$ ) y la mezcla ( $8.20 \pm 0.305$ ). Estas variaciones serían influenciadas por factores como la alimentación de los animales, el tipo de celulosa y las concentraciones de NaOH (10 %) e hipoclorito de sodio (5%)

**Gráfico 2** Comparación de medias del pH de las pulpas



De acuerdo con el estudio de **Kaur et al., (2018)** un pH más alcalino genera una disminución de la permeabilidad de la membrana debido a que se da un aumento en el tamaño del poro. Este fenómeno tiene lugar durante el proceso de despulpado de la celulosa, cuando el valor del pH del medio alcanza un valor cercano a 13. Como se mencionó anteriormente esto genera un hinchamiento de las fibras mejorando sus propiedades (**Sawada et al., 2022**).

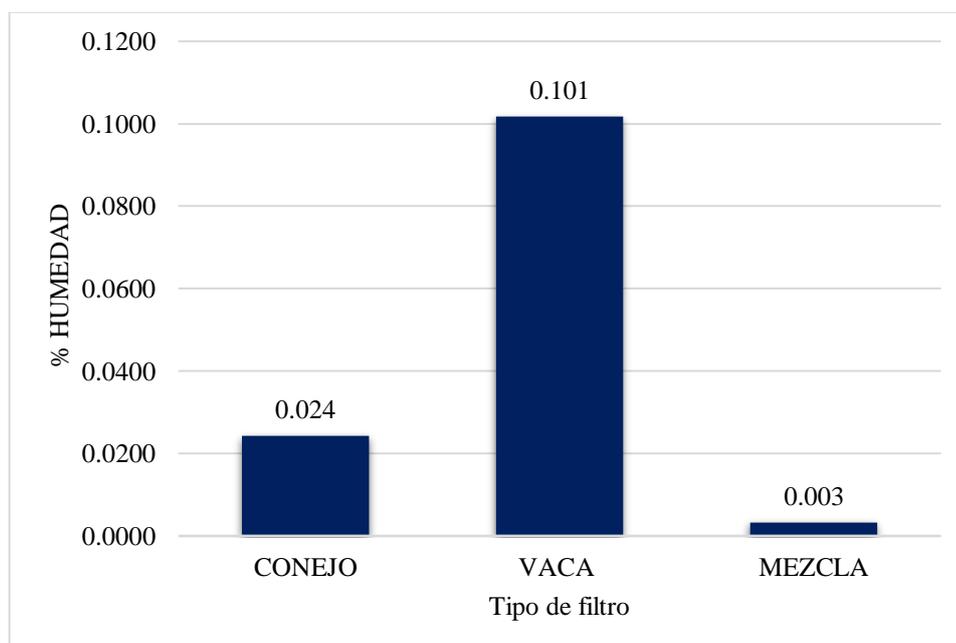
Aunque un entorno alcalino mejora las propiedades de las fibras, su exposición prolongada puede impactar la estructura de la celulosa. Este efecto conlleva la ruptura de los enlaces glucosídicos, lo que deteriora las propiedades mecánicas y, en consecuencia, la porosidad del filtro. Esto puede reducir la eficiencia de filtrado. Por lo tanto, es crucial lavar la pulpa hasta alcanzar un pH cercano a 7 para prevenir su degradación y así prolongar la vida útil del filtro (**Lam et al., 2018; Mattsson et al., 2012**).

La humedad se define como el contenido de agua presente en un material, representado como un porcentaje de su peso total (**Muñoz, 2017**). La absorción de humedad está relacionada con la porosidad del material, y un exceso de esta puede ocasionar cambios dimensionales, disminuir la resistencia mecánica y crear un

ambiente propicio para el crecimiento de microorganismos (Cichosz & Masek, 2020).

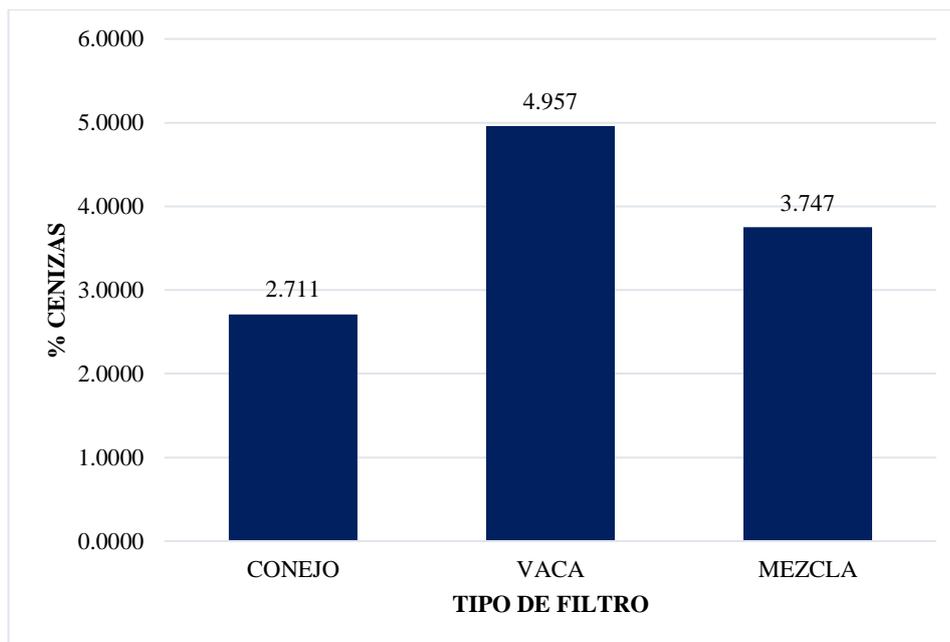
El Gráfico 3 evidencia los valores de las medias del porcentaje de humedad presente en los filtros elaborados, filtro de conejo (0.024 + 0.0020) filtro de vaca (0.101 + 0.0010), filtro de la mezcla (0.003 + 0.0001), según el análisis estadístico ANOVA y TUKEY (ANEXO 5) con un nivel de confianza del 95 % existe una diferencia significativa entre los contenidos de humedad.

**Gráfico 3** Comparación de medias del contenido de humedad presente en los filtros



La capacidad higroscópica de la celulosa posibilita la absorción de hasta un 25 % del peso del filtro en agua, principalmente a través de mecanismos capilares. Sin embargo, tras el tratamiento alcalino de la pulpa de celulosa, la predominancia de la alfa celulosa y la presión ejercida durante el prensado del filtro redujo la porosidad del material (Yuan et al., 2021). En el ámbito comercial, ciertas membranas filtrantes son recubiertas con resina brindando resistencia a la humedad, manteniendo su contenido de agua por debajo de 10  $\mu$ l (<0.01 %) (Solanas, 2008).

**Gráfico 4** Comparación de medias del contenido de cenizas presente en los filtros



El Gráfico 4 exhibe los promedios porcentuales del contenido de cenizas para los filtros de conejo, vaca y la mezcla, con valores de  $(2.711 \pm 0.1018)$ ,  $(4.957 \pm 0.2899)$  y  $(3.747 \pm 0.3458)$ , respectivamente. Según el análisis estadístico ANOVA y TUKEY (ANEXO 6), con un nivel de confianza del 95 %, se evidencian diferencias significativas entre los contenidos de cenizas en cada filtro. Estas variaciones se atribuyen principalmente a las diferencias en la dieta de cada animal, así como a la influencia de los reactivos químicos utilizados durante los procesos de extracción de celulosa (He et al., 2021; F. Li et al., 2020).

El porcentaje de cenizas en los filtros juega un papel crucial y su impacto depende de la aplicación específica. En campos donde es imprescindible una pureza excepcional, como en la industria farmacéutica o alimentaria, los porcentajes de cenizas presentados en el Diagrama 3 serían considerados relativamente altos, lo que podría afectar la idoneidad de los filtros para estas aplicaciones sensibles (J. Wang et al., 2020). Sin embargo, en aplicaciones menos rígidas en términos de pureza, como filtraciones generales o industriales, el porcentaje de cenizas sería aceptable y no afectaría significativamente la funcionalidad del filtro (Reig et al., 2021).

### 3.4 Análisis microbiológico

Consortios microbianos en el rumen del ganado y el ciego de conejos desempeñan un rol fundamental en procesos como la hidrólisis de celulosa y otros tipos de fibras. Se han detectado géneros ubicuos en el rumen del ganado como son *Bacteroides*, *Succinivibrio*, *Clostridium*, *Fibrobacter*, *Prevotella*, y *Ruminococcus*. (Sun et al., 2015). Así mismo, análisis de la microbiota de los conejos han revelado la presencia de bacterias degradadoras de lignina (hemicelulísticos) de las clases Bacteroidia, Bacilli y Clostridia, así como también se encuentran presentes arqueas hidrogenotróficas (*Methanobacterium*, *Methanolinea*, y *Methanovebribacter*) y acetoclásticas clave (*Matheanosarcina* y *Methanosaeta*) (Zapata Martínez et al., 2019).

A través, de los procesos catabólicos y la intervención de consorcios microbianos que ocurren en el rumen de vacas y el ciego de conejos, se da lugar a la degradación del material vegetal en compuestos más simples (Xu et al., 2021). No obstante, polímeros como la celulosa no es degradada en su totalidad, es por ello que la fracción no asimilada es expulsada en forma de desecho (Saliu et al., 2022). El presente trabajo a provechó la celulosa contenida en el estiércol de ganado y leporinos para la elaboración de filtros.

Debido a la naturaleza del estiércol, es necesario aplicar procesos de esterilización que eliminen la carga microbiana. Dupont et al., (2009); Ezugworie et al., (2021); Kc et al., (2020); y R. et al., 2021) comunican que el contacto con estiércol de ganado puede transmitir patologías tales como infecciones gastrointestinales, hemorragias internas, así como causar irritación en nariz y ojos. A su vez el excremento puede ser un vector de enfermedades como la leptospirosis y la criptosporidiosis (Carolina R et al., 2020; Innes et al., 2020). Mientras que el contacto de heridas o membranas mucosas con estiércol de conejo pueden ser una vía de entrada para *Francisella tularensis* agente causal de la enfermedad de tularemia (Maurin, 2020).

**Tabla 4 Resultado del análisis de esterilidad de los filtros**

Microorganismo	Tiempo de incubación (h)	Tipo de filtro									
		Conejo			Vaca			Mezcla			
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	
Aerobios totales	24	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	48	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>E. coli</i> y coliformes	24	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	48	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Mohos y levaduras	24	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	48	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	72	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x

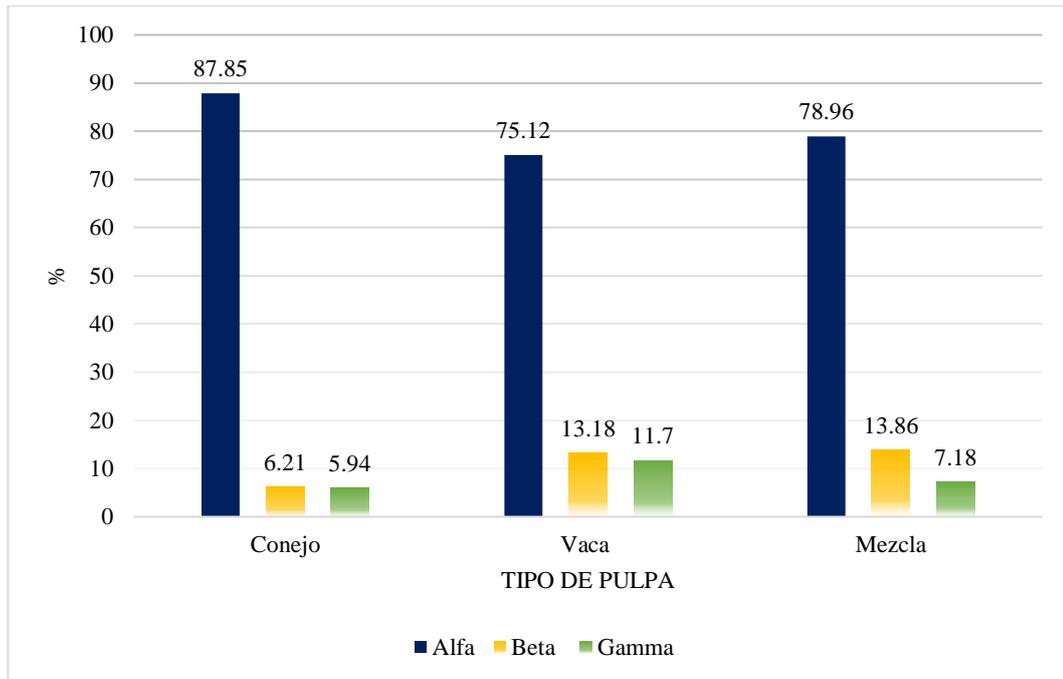
Nota: x= Ausencia del microorganismo

Por lo tanto, la evaluación rigurosa y el cumplimiento de estándares sanitarios son esenciales para asegurar la funcionalidad y la inocuidad de los filtros derivados del estiércol animal (Riley, 2020). Como se evidencia en la Tabla 4, después de períodos de incubación, no se observó crecimiento de bacterias, mohos o levaduras en los filtros. Esto demuestra que se ha mantenido la esterilidad a lo largo del tiempo. De acuerdo con estos resultados, se puede concluir que el uso y manipulación de los filtros no representan riesgos para la salud, ya que no se detectó presencia microbiana.

### 3.5 Determinación de componentes químicos de las pulpas de celulosa

La composición de la biomasa lignocelulósica está integrada principalmente por celulosa, hemicelulosa, lignina y cantidades menores pectinas, ceras y minerales orgánicos. La porción de celulosa y hemicelulosa presentes en esta biomasa se conoce como halocelulosa, la cual se subdivide en alfa, beta y gamma celulosa, compuestos de gran interés debido a su valor biológico. La obtención de celulosa de alta pureza depende en gran medida de procesos de pretratamiento que eliminen componentes como hemicelulosa, lignina y demás extractos de la biomasa recalcitrante (Shaikh et al., 2021).

**Gráfico 5** Componentes de la pulpa de celulosa



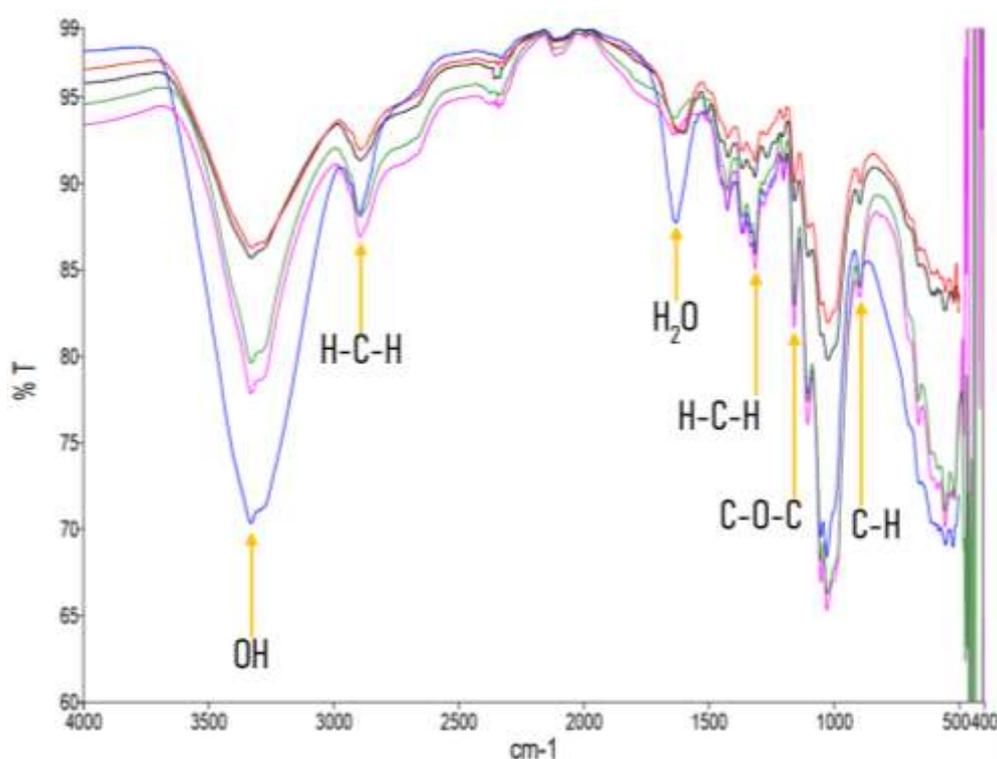
Con respecto al contenido de alfa celulosa presentado en el Gráfico 5, se evidencia que las tres pulpas mostraron resistencia al tratamiento alcalino, esto se debe a que la alfa celulosa representa una fracción de alto peso molecular de la celulosa de alta pureza que no se degrada durante el proceso de deslignificación (**Singh & Dhepe, 2022**). Esta resistencia se debe a que la alfa celulosa es una estructura altamente ordenada y cristalina en donde las cadenas de glucosa se disponen de forma paralela. Esta distribución confiere a la alfa celulosa buenas propiedades mecánicas como resistencia y rigidez (**Ververis et al., 2004**).

Los porcentajes de alfa-celulosa hallados en las pulpas de conejo (87.85 %), vaca (75.12 %) y la mezcla (79.86 %) se encuentran dentro de la clasificación de fibras vegetales de **Nieschlag et al., (1960)** empleadas para la elaboración de papel y derivados ya que superan el umbral del 34 % en contenido de celulosa de alta pureza. Esta concentración elevada de alfa-celulosa contribuye significativamente a mejorar tanto las propiedades químicas como físicas de las fibras utilizadas en la fabricación de papel (**Muñoz, 2017**).

En lo que respecta del contenido de  $\beta$  y  $\gamma$  celulosa son fracciones solubles al NaOH por lo que pueden ser eliminadas; la beta celulosa presenta una estructura menos cristalina que la alfa celulosa además de que presenta una estructura amorfa (Singh et al., 2021). En la celulosa beta las cadenas de glucosa se encuentran dispuestas de manera antiparalela, otorgando flexibilidad a las fibras. La gamma celulosa es la menos cristalina y presenta un mayor desordenamiento en comparación con la estructura de la  $\alpha$  y  $\beta$  celulosa (Singh et al., 2022).

### 3.6 Prueba de espectroscopia de infrarrojo por Transformada de Fourier (FTIR)

**Figura 1** Comparación de las muestras de celulosa obtenidas con dos muestras comerciales



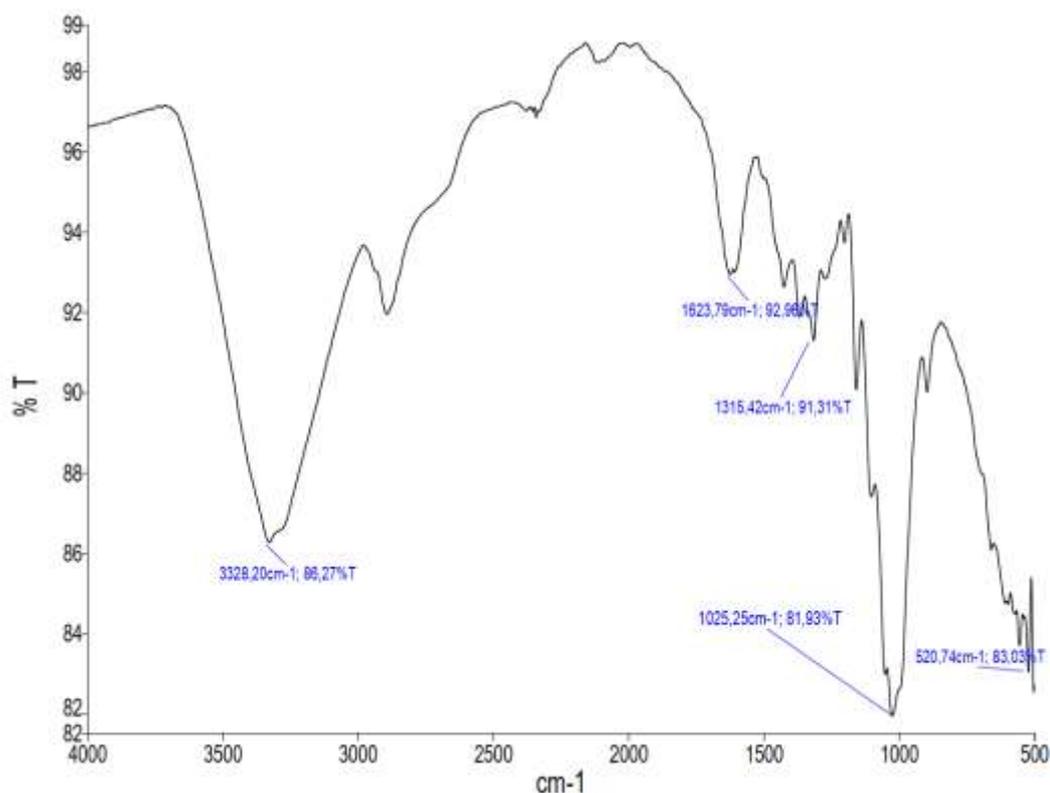
Nota: — Celulosa de conejo, — Celulosa comercial 1, — Celulosa comercial 2, — Celulosa de vaca, — Celulosa mezcla (conejo y vaca).

A través del análisis de espectroscopia infrarroja de transmisión, se puede revelar grupos funcionales distintivos en el espectro de la celulosa. En la figura 1, se muestra los espectros de 5 muestras de celulosa. En cada uno de los espectros se aprecia estiramiento del grupo OH, unido por enlaces de hidrógeno en el rango de  $3600 - 3200 \text{ cm}^{-1}$ . Por otro lado, las vibraciones de flexión del grupo H-C-H se

detectan a 2900 y 1430  $\text{cm}^{-1}$ . Asimismo, la flexión del OH de las moléculas de agua se registra entre 1635 – 1638  $\text{cm}^{-1}$ . Las bandas de vibración correspondientes a los enlaces C-O-C y C-H se posicionan a 1660  $\text{cm}^{-1}$  y 1360 – 1280  $\text{cm}^{-1}$  respectivamente. (Contreras Q et al., 2010; Kruer-Zerhusen et al., 2018; Oh et al., 2005).

A pesar de que los espectros de las muestras de celulosa (Figura 1) extraídas de estiércol de conejo y vaca, así como la mezcla de ambos exhiben una semejanza notable con los patrones de absorción de espectros de las muestras comerciales (celulosa de alta pureza), existen ciertas variaciones discernibles en la intensidad y ubicación de ciertos estiramientos en el plano de los grupos funcionales presentes en la celulosa. Estas diferencias sugieren posibles discrepancias del polímero a nivel molecular debido a posibles cambios estructurales o por la interacción de la celulosa con otros grupos funcionales (Fei et al., 2017).

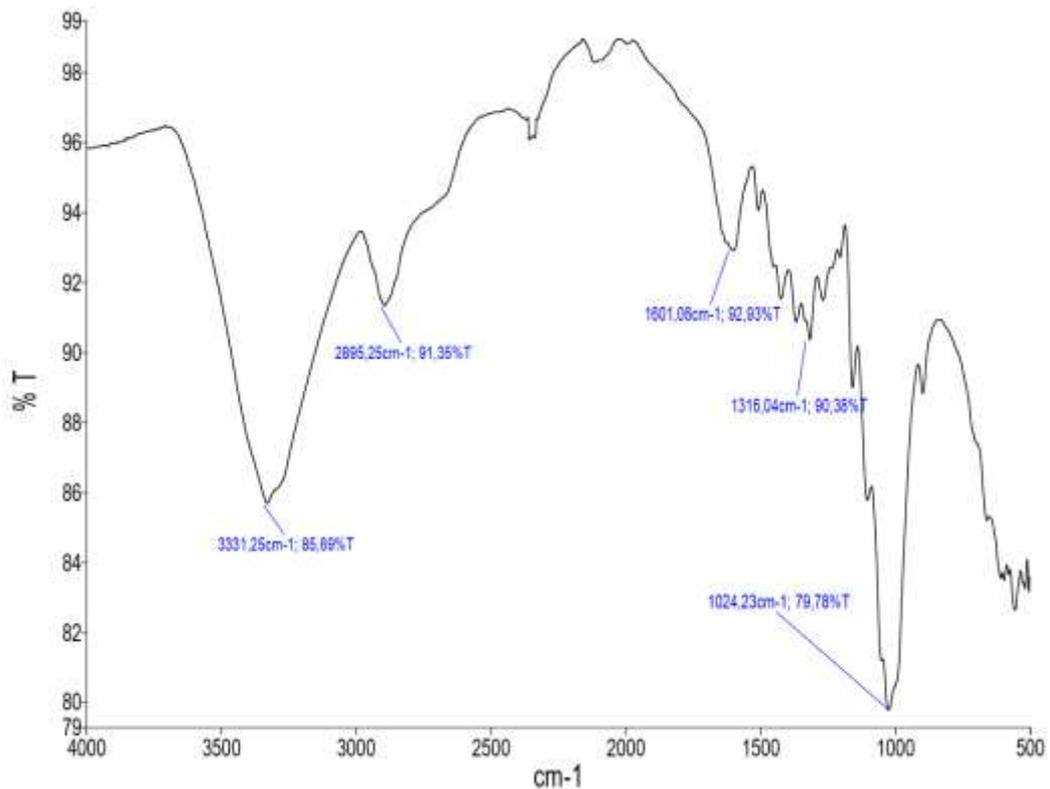
**Figura 2** FTIR de la celulosa extraídas de estiércol de conejo



La comparación entre los espectros de las celulosas comerciales y el presentado en la Figura 2 revela una omisión por parte del equipo al no mostrar la señal característica a  $\approx 1105.11 \text{ cm}^{-1}$ , la cual corresponde a la vibración del grupo funcional C – O (X. Guo et al., 2018). Esta omisión se repite tanto en el espectro de celulosa extraída del estiércol de vaca, mostrado en la Figura 3, como en el espectro de celulosa derivada de la mezcla, representado en la Figura 4. No obstante, un análisis minucioso de las Figuras 2, 3 y 4 revela la presencia de la vibración del grupo funcional en cuestión.

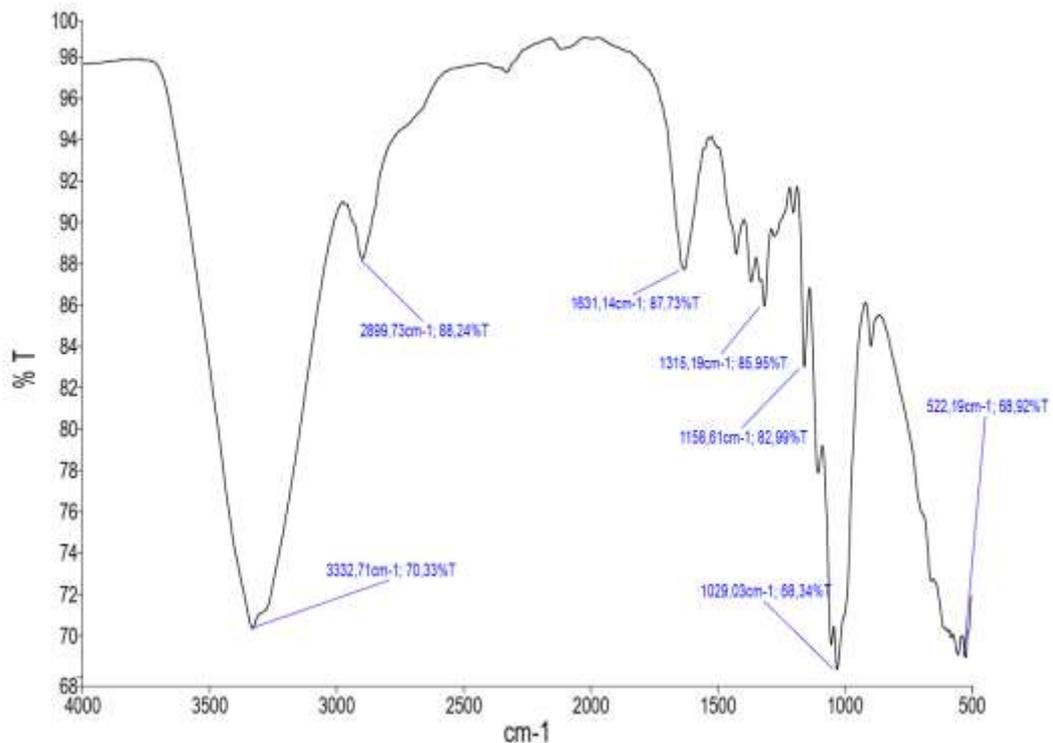
Una baja concentración del grupo funcional C – O se refleja en la disminución del tamaño del pico en el espectro FTIR. Esta disminución de concentración del grupo funcional conlleva a una absorción de energía infrarroja más limitada en esa región específica del espectro. Además, la posible existencia de contaminantes que interactúan con dicho grupo funcional, junto con la sensibilidad inherente del equipo utilizado, son elementos que entorpecen la identificación precisa de esta señal característica (Mondal et al., 2017).

**Figura 3** FTIR de la celulosa extraídas de estiércol de vaca



La Figura 3 exhibe una marcada variación en el espectro de la celulosa entre 2300 y 2450  $\text{cm}^{-1}$ . Cuando la celulosa se encuentra en presencia de compuestos nitrogenados y en presencia de agentes oxidantes como el NaOH y NaClO se puede dar lugar a la formación de grupos Ciano ( $\text{C} \equiv \text{N}$ ) (He et al., 2021). Sin embargo, al comparar los espectros de las Figuras 2 y 4 a las que se les aplicó el mismo tratamiento, estas no presentan la variación en el rango de frecuencia mencionado.

**Figura 4** FTIR de la mezcla de celulosas extraídas de estiércol de conejo y vaca



Las diferencias en las dietas de vacunos, centradas en pastos y forrajes de residuos agrícolas, y la dieta de conejos, principalmente basada en alfalfa, podrían tener un impacto significativo en las poblaciones microbianas que participan en la degradación de la celulosa (Mattioli et al., 2019). Esta variación en la alimentación podría explicar la diferencia observada en la vibración de la frecuencia mencionada en el espectro de la celulosa de la Figura 3.

La alfalfa posee un alto contenido de pectina lo cual resulta beneficioso para una proliferación más rápida de bacterias lignocelulosas como *Syntrophococcus* sp., capaz de la desmetilación de derivados monoaromáticos de lignina metoxilada (Wei et al., 2021). Esta ruptura de enlaces permite la liberación de celulosa en un estado

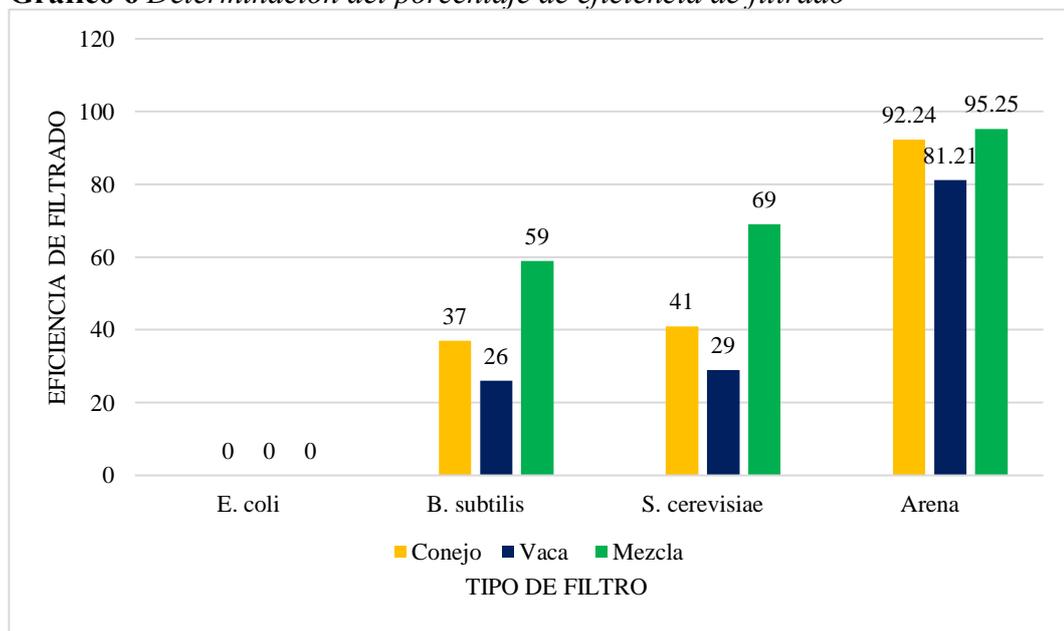
más puro. A diferencia de los conejos las vacas presentan una mayor cantidad de bacterias amilolíticas que degradan excesivamente almidones provocando una reducción de pH en el rumen, afectando a la capacidad fibrolítica lo que ocasiona una disminución en la digestibilidad de lignina (W. Guo et al., 2022).

Este contraste en la composición microbiana entre la dieta de conejos y vacas podría ser la razón detrás de la variación observada en el espectro de la celulosa extraída del estiércol de vaca. La presencia de bacterias amilolíticas y su impacto en la capacidad fibrolítica podrían influir en la degradación de la celulosa, lo que se reflejaría en cambios detectables en el espectro, evidenciando la interacción compleja entre la dieta, la microbiota ruminal y la estructura de la celulosa.

### 3.7 Determinación de la eficiencia de filtrado

La eficiencia de filtrado es un valor porcentual que representa la cantidad de partículas o contaminantes capturados en la superficie del filtro (Vieira et al., 2020). En términos simples, cuanto más alto sea el nivel de retención de partículas, mayor será la eficacia del proceso de filtración. Este grado de retención está directamente vinculado al tamaño de los poros, tanto en el filtro mismo como de las partículas (Hube et al., 2020).

**Gráfico 6** Determinación del porcentaje de eficiencia de filtrado



Los datos del Gráfico 6, reflejan el porcentaje de retención de diferentes partículas contenidas en una solución de 100 mL. Como se evidencia en el gráfico la eficiencia de filtrado para la bacteria *E. coli*, es de  $\approx 0\%$ , esto se debería a que el tamaño del poro del filtro es mayor las dimensiones del microorganismo (1  $\mu\text{m}$  de largo y 0.35  $\mu\text{m}$  de ancho) (Rojas-Torres et al., 2022). Los resultados muestran un aumento en la eficiencia de filtrado para *B. subtilis*, *S. cerevisiae* y arena en consonancia con un aumento en el tamaño de las partículas filtradas (0.5 – 2.5  $\mu\text{m}$  x 1.2 - 10  $\mu\text{m}$ ), (3 – 5  $\mu\text{m}$ ) y (0.0625 – 2mm) respectivamente (Calvo & Zúñiga, 2010; Chen et al., 2020; P. Liu et al., 2021).

Entre los tres tipos de filtros comparados, aquel elaborado a partir de una mezcla de celulosas demuestra una eficiencia superior en la retención de partículas. La combinación de celulosas provenientes de diversas fuentes contribuye a la formación de una estructura menos porosa y de tamaño reducido. Esta configuración, más adaptable y diversa, tiene la capacidad de retener una amplia gama de partículas. Esta afirmación encuentra respaldo en los valores correspondientes al contenido de humedad, como se evidencia en el gráfico 3, donde el filtro elaborado con la mezcla de celulosas muestra una mayor resistencia a la absorción de la humedad.

Asimismo, la variabilidad en las propiedades físicas y químicas de las celulosas individuales pudieron haber contribuido a la eficiencia diferencial, al igual que las interacciones intermoleculares entre las fibras. El grado de compactación durante la fabricación de los filtros y la presencia de impurezas en las muestras de celulosa podrían haber influido en estos resultados. Estas observaciones señalan la importancia de considerar una amplia gama de variables en la fabricación de filtros para maximizar su eficacia en la retención de partículas.

## CAPÍTULO IV CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 4.1 Conclusiones

- La extracción de celulosa a partir del estiércol de vaca y conejo a través del pulpeo alcalino con NaOH presenta rendimientos de 45.07 % (conejo), 32.18 % (vaca) y 40 % (mezcla). A pesar de que el proceso de extracción de celulosa a partir del estiércol de vaca y conejo con el método es más desafiante en comparación con la extracción de residuos de paja, los valores de rendimiento de celulosa obtenidos son superiores a los reportados en bibliografía. Esto sugiere que, a pesar de la complejidad del proceso, la obtención de celulosa a partir de estiércol demuestra resultados más favorables, lo que resalta su potencial incluso en condiciones de extracción más exigentes.
- La proporción entre el contenido de agua y pulpa utilizada en la mezcla tiene un impacto notable en la flexibilidad y dureza de los filtros. A pesar de ser necesaria la aplicación de presión para reducir el tamaño del poro, un exceso de presión puede generar perforaciones en su superficie. De manera similar, cambios repentinos en la temperatura durante el prensado de la pulpa de celulosa conllevan alteraciones físicas que afectan la blancura del filtro.
- El análisis bromatológico revela que los filtros elaborados presentan niveles de pH y humedad similares a los filtros comerciales. Sin embargo, el contenido de cenizas podría ser limitante en ciertas aplicaciones. La caracterización microbiológica confirma la esterilidad de los filtros, certificando que la manipulación y uso de los mismos no representa riesgos a la salud. Las fibras de  $\alpha$ -celulosa presentes en el estiércol de vaca y conejo mantuvieron su integridad después del tratamiento con NaOH y NaClO, conservando un rendimiento del superior 75%. Además, la caracterización IR mostró espectros similares a celulosas comerciales de alta pureza, aunque con variaciones atribuibles a la alimentación, sistema digestivo y la microbiota de cada animal. Finalmente, las pruebas de eficiencia de filtrado demuestran que los filtros son

eficaces para retener partículas de tamaño mayor a 0.0625 a 0.25 milímetros, consolidando su utilidad en procesos de filtración.

#### **4.2 Recomendaciones**

- Realizar la caracterización morfológica de las fibras de celulosa extraídas a partir de estiércol de vaca y conejo mediante microscopía de barrido electrónico.
- Evaluar el rendimiento de celulosa que se puede obtener con métodos como el de Kraft y sulfito.
- Analizar la incidencia de diferentes niveles de presión durante el proceso de prensado y su relación con el aumento o disminución del tamaño del poro del filtro.
- Aplicar pruebas de biodegradabilidad a los filtros.
- Usar celulosa extraída a partir de estiércol de vaca y conejo en aplicaciones biomédicas y evaluar su factibilidad y funcionalidad.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdelhamid, H. N., & Mathew, A. P. (2022). Cellulose–metal organic frameworks (CelloMOFs) hybrid materials and their multifaceted Applications: A review. *Coordination Chemistry Reviews*, *451*, 214263. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2021.214263>
- Abouzeid, R. E., Khiari, R., El-Wakil, N., & Dufresne, A. (2019). Current State and New Trends in the Use of Cellulose Nanomaterials for Wastewater Treatment. *Biomacromolecules*, *20*(2), 573–597. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.8b00839>
- Amirah, N., Razali, M., Sohaimi, R. M., Nor, R., Raja, I., Abdullah, N., Zulaikha, S., Demon, N., Jasmani, L., Mohd, W., Wan, Z., Mohd, W., & Wan, H. (2022). Comparative study on extraction of cellulose fiber from rice Straw waste from chemo-mechanical and pulping method. *Polymers*, *14*(3), 387.
- Azimi, B., Sepahvand, S., Ismaeilimoghadam, S., Kargarzadeh, H., Ashori, A., Jonoobi, M., & Danti, S. (2023). Application of Cellulose-Based Materials as Water Purification Filters; A State-of-the-Art Review. *Journal of Polymers and the Environment*, *0123456789*. <https://doi.org/10.1007/s10924-023-02989-6>
- Blanco Parte, F. G., Santoso, S. P., Chou, C. C., Verma, V., Wang, H. T., Ismadji, S., & Cheng, K. C. (2020). Current progress on the production, modification, and applications of bacterial cellulose. *Critical Reviews in Biotechnology*, *40*(3), 397–414. <https://doi.org/10.1080/07388551.2020.1713721>
- Calvo, P., & Zúñiga, D. (2010). Caracterización fisiológica de cepas de *Bacillus* spp. aisladas de la rizósfera de papa (*Solanum tuberosum*). *Ecología Aplicada*, *9*(1–2), 31. <https://doi.org/10.21704/rea.v9i1-2.393>
- Carolina R, F., Bianca S., S., Liana N., B., Gabriela R., Timm Johnjoe, M., & Alan J. A., M. (2020). An overview of human leptospirosis vaccine design and future perspectives. *Expert Opinion on Drug Discovery*, *15*(2), 179–188.

<https://doi.org/10.1080/17460441.2020.1694508>

- Carvalho, R., de Aguiar, A. P. D., & Amaral, S. (2020). Diversity of cattle raising systems and its effects over forest regrowth in a core region of cattle production in the Brazilian Amazon. *Regional Environmental Change*, 20(2). <https://doi.org/10.1007/s10113-020-01626-5>
- Cevallos, A., Hedoíza, V., Yagual, M., Zambrano, V., Llive, P., & Carvajal, F. (2021). Utilización de la fibra de banana (*musa sapientum*) proveniente de los pseudotallos para la elaboración de papel y el aprovechamiento de residuos agrícolas. *ACI Avances En Ciencias e Ingenierías*, 13(1), 7. <https://doi.org/10.18272/aci.v13i1.1772>
- Chaparro Montoya, E., Mayta Huiza, D., Llamoca Dominguez, E., Choquecagua Mamani, D., & Otero Nole, K. (2021). Extracción De Celulosa a Partir De Cáscara De Tuna Y Corona De Piña. *REVISTA CIENCIA Y TECNOLOGÍA - Para El Desarrollo - UJCM*, 6(11), 25–31.
- Chen, X., Miller, A., Cao, S., Gan, Y., Zhang, J., He, Q., Wang, R. Q., Yong, X., Qin, P., Lapizco-Encinas, B. H., & Du, K. (2020). Rapid *Escherichia coli* Trapping and Retrieval from Bodily Fluids via a Three-Dimensional Bead-Stacked Nanodevice. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 12(7), 7888–7896. <https://doi.org/10.1021/acsami.9b19311>
- Chew, K. W., Chia, S. R., Yen, H. W., Nomanbhay, S., Ho, Y. C., & Show, P. L. (2019). Transformation of biomass waste into sustainable organic fertilizers. *Sustainability (Switzerland)*, 11(8). <https://doi.org/10.3390/su11082266>
- Chuiza, M., García, J., Caluña, R., & Mora, Lady. (2022). Diseño de un proceso industrial para la obtención de papel ecológico a partir del estiércol de ganado vacuno en la parroquia Dureno del cantón Lago Agrio. *AlfaPublicaciones*, 4(2.2), 6–25. <https://doi.org/10.33262/ap.v4i2.2.211>
- Cichosz, S., & Masek, A. (2020). IR study on cellulose with the varied moisture contents: Insight into the supramolecular structure. *Materials*, 13(20), 1–22.

<https://doi.org/10.3390/ma13204573>

Contreras Q, H. J., Trujillo P, H. A., Arias O, G., Pérez C, J. L., & Delgado F, E. (2010). Espectroscopía ATR-FTIR de celulosa: aspecto instrumental y tratamiento matemático de espectros. *E-Gnosis*, 8, 1–13. [www.e-gnosis.udg.mx/vol8/art9](http://www.e-gnosis.udg.mx/vol8/art9)

Corporación Financiera Nacional. (2022). *Cría y reproducción de ganado*. <https://www.cfn.fin.ec/wp-content/uploads/downloads/biblioteca/2022/fichas-sectoriales-3-trimestre/Ficha-Sectorial-Ganaderia.pdf>

Corporación Financiera Nacional. (2023). Ficha Sectorial Silvicultura y extracción de madera. In *Subgerencia de análisis de productos y servicios* (Vol. 1, Issue 1). <https://www.cfn.fin.ec/wp-content/uploads/downloads/biblioteca/2023/fichas-sectoriales-1-trimestre/Ficha-Sectorial-Silvicultura-y-extraccion-de-madera.pdf>

Corral Zambrano, C. A., Zambrano Solórzano, L. J., Pincay Vargas, D. M., & Calo Gómez, S. G. (2021). Impactos Ambientales Generados Por La Ganadería En La Provincia De Santo Domingo De Tsáchilas. *UNESUM-Ciencias. Revista Científica Multidisciplinaria*. ISSN 2602-8166, 5(2), 69–78. <https://doi.org/10.47230/unesum-ciencias.v4.n3.2020.255>

Cotozzolo, E., Cremonesi, P., Curone, G., Menchetti, L., Riva, F., Biscarini, F., Marongiu, M. L., Castrica, M., Castiglioni, B., Miraglia, D., Luridiana, S., & Brecchia, G. (2020). Characterization of bacterial microbiota composition along the gastrointestinal tract in rabbits. *Animals*, 11(1), 1–16. <https://doi.org/10.3390/ani11010031>

de Holanda Pasolini, V., Lima, R. M., Costa, A. B. S., & de Sousa, R. C. (2023). Drying of poultry manure for biomass applications in the combustion. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 0123456789. <https://doi.org/10.1007/s13399-023-04001-6>

Dupont, H. L., Estrada-Garcia, M. T., & Jiang, Z. D. (2009). Escherichia coli diarrhea. In *Bacterial Infections of Humans: Epidemiology and Control* (Tenth Edit). Elsevier Inc. [https://doi.org/10.1007/978-0-387-09843-2\\_15](https://doi.org/10.1007/978-0-387-09843-2_15)

- Escamilla, R., Guerrero, D. M., Reyes, C., & Muñoz, J. (2017). Elaboración de papel ecológico empleando estiércol de ganado bovino. *Ingeniantes*, 1(2), 18–23.
- Ezugworie, F. N., Igbokwe, V. C., & Onwosi, C. O. (2021). Proliferation of antibiotic-resistant microorganisms and associated genes during composting: An overview of the potential impacts on public health, management and future. *Science of the Total Environment*, 784, 147191. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147191>
- FAO. (2018). El estado de los recursos de tierras y aguas del mundo para la alimentación y la agricultura. La gestión de los sistemas en situación de riesgo. In *Mundi-Prensa Madrid*. <https://www.fao.org/3/i1688s/i1688s.pdf>
- FAO. (2019). Transformando el sector pecuario a través de los Objetivos de Desarrollo Sostenible. In *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura*. <https://doi.org/CC BY-NC-SA 3.0 IGO>
- Fei, P., Liao, L., Cheng, B., & Song, J. (2017). Quantitative analysis of cellulose acetate with a high degree of substitution by FTIR and its application. *Analytical Methods*, 9(43), 6194–6201. <https://doi.org/10.1039/c7ay02165h>
- Feng, Y., Wang, Q., He, M., Zhang, X., Liu, X., & Zhao, C. (2019). Antibiofouling Zwitterionic Gradational Membranes with Moisture Retention Capability and Sustained Antimicrobial Property for Chronic Wound Infection and Skin Regeneration [Research-article]. *Biomacromolecules*, 20(8), 3057–3069. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.9b00629>
- Ferro, M., Mannu, A., Panzeri, W., Theeuwens, C. H. J., & Mele, A. (2020). An integrated approach to optimizing cellulose mercerization. *Polymers*, 12(7), 1–16. <https://doi.org/10.3390/polym12071559>
- Fiore, V., Scalici, T., Nicoletti, F., Vitale, G., Prestipino, M., & Valenza, A. (2016). A new eco-friendly chemical treatment of natural fibres: Effect of sodium bicarbonate on properties of sisal fibre and its epoxy composites. *Composites Part B: Engineering*, 85, 150–160. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2015.09.028>

- Gomez, D. E., Galvão, K. N., Rodriguez-Lecompte, J. C., & Costa, M. C. (2019). The cattle microbiota and the immune system: An evolving field. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 35(3), 485–505. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.08.002>
- Grossi, G., Goglio, P., Vitali, A., & Williams, A. G. (2019). Livestock and climate change: Impact of livestock on climate and mitigation strategies. *Animal Frontiers*, 9(1), 69–76. <https://doi.org/10.1093/af/vfy034>
- Gschwandtner, C. (2022). Outlook on Global Fiber Demand and Supply 2030. *Lenzing*, 97, 11–19.
- Guerrero, Y. (2021). *Extracción de la celulosa a partir de los residuos de pasto común (Festuca arundinacea) para la elaboración de acetato de celulosa*. Universidad Politécnica Salesiana. <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/21590>
- Guo, W., Guo, X. J., Xu, L. N., Shao, L. W., Zhu, B. C., Liu, H., Wang, Y. J., & Gao, K. Y. (2022). Effect of whole-plant corn silage treated with lignocellulose-degrading bacteria on growth performance, rumen fermentation, and rumen microflora in sheep. *Animal*, 16(7). <https://doi.org/10.1016/j.animal.2022.100576>
- Guo, X., Liu, L., Wu, J., Fan, J., & Wu, Y. (2018). Qualitatively and quantitatively characterizing water adsorption of a cellulose nanofiber film using micro-FTIR spectroscopy. *RSC Advances*, 8(8), 4214–4220. <https://doi.org/10.1039/c7ra09894d>
- He, H., An, F., Wang, Y., Wu, W., Huang, Z., & Song, H. (2021). Effects of pretreatment, NaOH concentration, and extraction temperature on the cellulose from *Lophatherum gracile* Brongn. *International Journal of Biological Macromolecules*, 190, 810–818. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.09.041>
- Hernández-Martínez, C. A., Levin, L., Treviño-Cabrera, G., Hernández-Luna, C. E., Bernal-Barragán, H., Castillo-Velázquez, U., Rodríguez-Tovar, L. E., Dávila-Martínez, C., Trejo-Chávez, A., Méndez-Zamora, G., & Gutiérrez-Soto, G.

- (2022). Effect of a Diet Based on Biotransformed Sorghum on Rabbit Intestinal Morphology and Fecal Fiber Composition. *Microbiology Research*, 13(4), 1018–1026. <https://doi.org/10.3390/microbiolres13040074>
- Hu, X., Wang, F., Yang, S., Yuan, X., Yang, T., Zhou, Y., & Li, Y. (2021). Rabbit microbiota across the whole body revealed by 16S rRNA gene amplicon sequencing. *BMC Microbiology*, 21(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/s12866-021-02377-x>
- Hube, S., Eskafi, M., Hrafnkelsdóttir, K. F., Bjarnadóttir, B., Bjarnadóttir, M. Á., Axelsdóttir, S., & Wu, B. (2020). Direct membrane filtration for wastewater treatment and resource recovery: A review. *Science of the Total Environment*, 710. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136375>
- INEC. (2021). Boletín Técnico “Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua, 2020.” *Boletin Tecnico*, 1–15.
- Innes, E. A., Chalmers, R. M., Wells, B., & Pawlowic, M. C. (2020). A One Health Approach to Tackle Cryptosporidiosis. *Trends in Parasitology*, 36(3), 290–303. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2019.12.016>
- Jeswani, H. K., Chilvers, A., & Azapagic, A. (2020). Environmental sustainability of biofuels: A review: Environmental sustainability of biofuels. *Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 476(2243). <https://doi.org/10.1098/rspa.2020.0351>
- Jha, A., & Kumar, A. (2019). Biobased technologies for the efficient extraction of biopolymers from waste biomass. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 42(12), 1893–1901. <https://doi.org/10.1007/s00449-019-02199-2>
- Junter, G. A., & Lebrun, L. (2017). Cellulose-based virus-retentive filters: a review. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 16(3), 455–489. <https://doi.org/10.1007/s11157-017-9434-1>
- Kaur, H., Bulasara, V. K., & Gupta, R. K. (2018). Influence of pH and temperature of

- dip-coating solution on the properties of cellulose acetate-ceramic composite membrane for ultrafiltration. *Carbohydrate Polymers*, 195, 613–621. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.04.121>
- Kc, R., Hyland, I. K., Smith, J. A., Shukla, S. D., Hansbro, P. M., Zosky, G. R., Karupiah, G., & O’Toole, R. F. (2020). Cow Dung Biomass Smoke Exposure Increases Adherence of Respiratory Pathogen Nontypeable *Haemophilus influenzae* to Human Bronchial Epithelial Cells. *Exposure and Health*, 12(4), 883–895. <https://doi.org/10.1007/s12403-020-00351-y>
- Kirikkaleli, D., & Adebayo, T. S. (2021). Do renewable energy consumption and financial development matter for environmental sustainability? New global evidence. *Sustainable Development*, 29(4), 583–594. <https://doi.org/10.1002/sd.2159>
- Kılınc, A. Ç., Köktaş, S., Seki, Y., Atagür, M., Dalmış, R., Erdoğan, Ü. H., Göktaş, A. A., & Seydibeyoğlu, M. Ö. (2018). Extraction and investigation of lightweight and porous natural fiber from *Conium maculatum* as a potential reinforcement for composite materials in transportation. *Composites Part B: Engineering*, 140(2018), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2017.11.059>
- Kruer-Zerhusen, N., Cantero-Tubilla, B., & Wilson, D. B. (2018). Characterization of cellulose crystallinity after enzymatic treatment using Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). *Cellulose*, 25(1), 37–48. <https://doi.org/10.1007/s10570-017-1542-0>
- Kumar, A., Biswas, B., Kaur, R., Krishna, B. B., & Bhaskar, T. (2021). Hydrothermal oxidative valorisation of lignin into functional chemicals: A review. *Bioresource Technology*, 342, 126016. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2021.126016>
- Lam, B., Déon, S., Morin-Crini, N., Crini, G., & Fievet, P. (2018). Polymer-enhanced ultrafiltration for heavy metal removal: Influence of chitosan and carboxymethyl cellulose on filtration performances. *Journal of Cleaner Production*, 171, 927–933. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.10.090>

- Lawrence, D., Coe, M., Walker, W., Verchot, L., & Vandecar, K. (2022). The Unseen Effects of Deforestation: Biophysical Effects on Climate. *Frontiers in Forests and Global Change*, 5(March), 1–13. <https://doi.org/10.3389/ffgc.2022.756115>
- Leong, H. Y., Chang, C. K., Khoo, K. S., Chew, K. W., Chia, S. R., Lim, J. W., Chang, J. S., & Show, P. L. (2021). Waste biorefinery towards a sustainable circular bioeconomy: a solution to global issues. *Biotechnology for Biofuels*, 14(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/s13068-021-01939-5>
- Li, F., Li, F., Li, F., Li, Y., Zhao, C., Fan, H., Xu, M., Guo, Q., Guo, M., Wang, Z., Huang, J., & Fang, Y. (2020). Investigation on Ash-Fusion Characteristics of Livestock Manure and Low-Rank Coals. *Energy and Fuels*, 34(5), 5804–5812. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.0c00587>
- Li, R., Hao, H., Sun, H., Wang, L., & Wang, H. (2022). Composted Rabbit Manure as Organic Matrix for Manufacturing Horticultural Growing Media: Composting Process and Seedling Effects. *Sustainability (Switzerland)*, 14(9). <https://doi.org/10.3390/su14095146>
- Li, T., Chen, C., Brozena, A. H., Zhu, J. Y., Xu, L., Driemeier, C., Dai, J., Rojas, O. J., Isogai, A., Wågberg, L., & Hu, L. (2021). Developing fibrillated cellulose as a sustainable technological material. *Nature*, 590(7844), 47–56. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-03167-7>
- Lin, Q., Huang, Y., & Yu, W. (2021). Effects of extraction methods on morphology, structure and properties of bamboo cellulose. *Industrial Crops and Products*, 169(February), 113640. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113640>
- Liu, K., Du, H., Zheng, T., Liu, H., Zhang, M., Zhang, R., Li, H., Xie, H., Zhang, X., Ma, M., & Si, C. (2021). Recent advances in cellulose and its derivatives for oilfield applications. *Carbohydrate Polymers*, 259(January), 117740. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.117740>
- Liu, P., Liu, H., Yuan, D., Jang, D., Yan, S., & Li, M. (2021). Separation and enrichment of yeast *Saccharomyces cerevisiae* by shape using viscoelastic

- microfluidics. *Analytical Chemistry*, 93(3), 1586–1595.  
<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c03990>
- López, A. (2022). El Sector agropecuario y el desarrollo rural. Análisis de los tributos que afectan al pequeño y mediano productor agropecuario en Morona Santiago. *Polo Del Conocimiento: Revista Científico - Profesional*, 7(3), 9.  
<https://doi.org/10.23857/pc.v7i3.3714>
- Ma, S., Zhang, M., Nie, J., Yang, B., Song, S., & Lu, P. (2018). Multifunctional cellulose-based air filters with high loadings of metal–organic frameworks prepared by in situ growth method for gas adsorption and antibacterial applications. *Cellulose*, 25(10), 5999–6010. <https://doi.org/10.1007/s10570-018-1982-1>
- Mancini, S., & Paci, G. (2021). Probiotics in rabbit farming: Growth performance, health status, and meat quality. *Animals*, 11(12), 3388.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.3390/ani11123388>
- Mao, S., Zhang, M., Liu, J., & Zhu, W. (2015). Characterising the bacterial microbiota across the gastrointestinal tracts of dairy cattle: Membership and potential function. *Scientific Reports*, 5(April), 1–14. <https://doi.org/10.1038/srep16116>
- Marzouki, R., Brahmia, A., Bondock, S., Keshk, S. M. A. S., Zid, M. F., Al-Sehemi, A. G., Koschella, A., & Heinze, T. (2019). Mercerization effect on structure and electrical properties of cellulose: Development of a novel fast Na-ionic conductor. *Carbohydrate Polymers*, 221(May), 29–36.  
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.05.083>
- Mattioli, S., Dal Bosco, A., Combes, S., Moscati, L., Crotti, S., Mancinelli, A. C., Cotozzolo, E., & Castellini, C. (2019). Dehydrated alfalfa and fresh grass supply in young rabbits: Effect on performance and caecal microbiota biodiversity. *Animals*, 9(6), 1–16. <https://doi.org/10.3390/ani9060341>
- Mattsson, T., Sedin, M., & Theliander, H. (2012). Filtration properties and skin formation of micro-crystalline cellulose. *Separation and Purification Technology*,

96, 139–146. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2012.05.029>

Maurin, M. (2020). *Francisella tularensis*, Tularemia and Serological Diagnosis. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10(October), 1–20. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.512090>

Merizalde, D., Vera, N., Cobo, E., Maldonado, Á., & Mata, D. (2023). La silvicultura y su aporte al crecimiento económico del Ecuador en el periodo 2007-2021. *Polo Del Conocimiento*, 8(6), 147–169. <https://doi.org/10.23857/pc.v8i6>

Ministerio de Comercio Exterior. (2022). Papel, cartón y sus manufacturas. *Acuerdo de Asociación Entre Centroamérica y La Unión Europea*, 4. [http://www.aacue.go.cr/comercio/sectoriales/documentos/54\\_Papel\\_carton\\_y\\_sus\\_manufacturas\\_REV1.pdf](http://www.aacue.go.cr/comercio/sectoriales/documentos/54_Papel_carton_y_sus_manufacturas_REV1.pdf)

Mohanty, A. K., Misra, M., & Drzal, L. T. (2002). Sustainable Bio-Composites from renewable resources: Opportunities and challenges in the green materials world. *Journal of Polymers and the Environment*, 10(1–2), 19–26. <https://doi.org/10.1023/A:1021013921916>

Mondal, S., Ganguly, S., Das, P., Bhawal, P., Das, T. K., Nayak, L., Khastgir, D., & Das, N. C. (2017). High-performance carbon nanofiber coated cellulose filter paper for electromagnetic interference shielding. *Cellulose*, 24(11), 5117–5131. <https://doi.org/10.1007/s10570-017-1441-4>

Mora, Lady. (2021). *Diseño de un proceso industrial para la obtención de papel ecológico a partir del estiércol de ganado vacuno en la parroquia dureno del cantón Lago Agrio* [Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/16754/1/96T00679.pdf>

Moussa Baldé, Y., Kanté, C., Diop, S., & Tebbani, S. (2019). An Experimental Study for the Characterization of Biogas Production From Cow Dung and Droppings. *Ecological Engineering and Environment Protection*, 1, 54–61. <https://doi.org/10.32006/eeep.2019.1.5462>

- Muñoz, E. (2017). Obtención de la pulpa de celulosa a partir de residuos de agavaceas: potencial elaboración de papel tipo artesanal. In *Repositorio de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo*. [https://www.uaeh.edu.mx/docencia/Tesis/icbi/doctorado/documentos/tesis\\_edith.pdf](https://www.uaeh.edu.mx/docencia/Tesis/icbi/doctorado/documentos/tesis_edith.pdf)
- Mutsami, C., & Karl, S. (2020). Commercial Rabbit Farming and Poverty in Urban and Peri-Urban Kenya. *Frontiers in Veterinary Science*, 7(June), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00353>
- Nieschlag, H. ., Nelson, G. ., Wolff, J. ., & Perdue, R. . (1960). A search for new fiber crops. *Tappi*, 43(3), 193. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19600605105>
- Norrrahim, M. N. F., Nurazzi, N. M., Jenol, M. A., Farid, M. A. A., Janudin, N., Ujang, F. A., Yasim-Anuar, T. A. T., Syed Najmuddin, S. U. F., & Ilyas, R. A. (2021). Emerging development of nanocellulose as an antimicrobial material: An overview. *Materials Advances*, 2(11), 3538–3551. <https://doi.org/10.1039/d1ma00116g>
- Oh, S. Y., Yoo, D. Il, Shin, Y., & Seo, G. (2005). FTIR analysis of cellulose treated with sodium hydroxide and carbon dioxide. *Carbohydrate Research*, 340(3), 417–428. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2004.11.027>
- Oláh, J., Aburumman, N., Popp, J., Khan, M. A., Haddad, H., & Kitukutha, N. (2020). Impact of industry 4.0 on environmental sustainability. *Sustainability (Switzerland)*, 12(11), 1–21. <https://doi.org/10.3390/su12114674>
- Pomboza, P., & Parco, A. (2022). Efectos socio-ambientales de la intensificación de la ganadería en ecosistemas de altura (paramos) del sur-oeste de Tungurahua. *Ecosistemas*, 31(1), 1–8. <https://doi.org/https://doi.org/10.7818/ECOS.2296>
- R., C., S., B., & P., D. (2021). Pathogenic bacteria and parasites of human importance from cow dung. *MOJ Biology and Medicine*, 6(1), 37–38. <https://doi.org/10.15406/mojbm.2021.06.00127>

- Rakatama, A., & Pandit, R. (2020). Reviewing social forestry schemes in Indonesia: Opportunities and challenges. *Forest Policy and Economics*, *111*(1), 102052. <https://doi.org/10.1016/j.forpol.2019.102052>
- Reichert, C. L., Bugnicourt, E., Coltelli, M. B., Cinelli, P., Lazzeri, A., Canesi, I., Braca, F., Martínez, B. M., Alonso, R., Agostinis, L., Verstichel, S., Six, L., De Mets, S., Gómez, E. C., Ißbrücker, C., Geerinck, R., Nettleton, D. F., Campos, I., Sauter, E., ... Schmid, M. (2020). Bio-based packaging: Materials, modifications, industrial applications and sustainability. In *Polymers* (Vol. 12, Issue 7). <https://doi.org/10.3390/polym12071558>
- Reig, M., Vecino, X., & Cortina, J. L. (2021). Use of membrane technologies in dairy industry: An overview. *Foods*, *10*(11), 1–29. <https://doi.org/10.3390/foods10112768>
- Riley, L. W. (2020). Distinguishing Pathovars from Nonpathovars: Escherichia coli. *Microbiology Spectrum*, *8*(4). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ame-0014-2020>
- Rödel, H. G. (2022). Aspects of Social Behaviour and Reproduction in the Wild Rabbit - Implications for Rabbit Breeding? *World Rabbit Science*, *30*(1), 47–59. <https://doi.org/10.4995/WRS.2022.15954>
- Rojas-Torres, L.-Y., Cifuentes-Osorio, G.-R., Jiménez-Daza, X.-R., & Prado-García, J.-D. (2022). Evaluación de la eficiencia de dos modelos de filtración de tratamiento doméstico del agua. *Pensamiento y Acción*, *32*, 20–32. <https://doi.org/10.19053/01201190.n32.2022.13532>
- Roman, L. A., Conway, T. M., Eisenman, T. S., Koeser, A. K., Ordóñez Barona, C., Locke, D. H., Jenerette, G. D., Östberg, J., & Vogt, J. (2021). Beyond ‘trees are good’: Disservices, management costs, and tradeoffs in urban forestry. *Ambio*, *50*(3), 615–630. <https://doi.org/10.1007/s13280-020-01396-8>
- Sabaruddin, F. A., Tahir, P. M., Sapuan, S. M., Ilyas, R. A., Lee, S. H., Abdan, K., Mazlan, N., Roseley, A. S. M., & Khalil Hps, A. (2021). The effects of unbleached

and bleached nanocellulose on the thermal and flammability of polypropylene-reinforced kenaf core hybrid polymer bionanocomposites. *Polymers*, *13*(1), 1–19. <https://doi.org/10.3390/polym13010116>

Saliu, E.-M., Ronald, K., Beatriz, Martínez-Vallespín Annette, S., & Jürgen, Z. (2022). Performance, health, bacterial metabolites and intestinal histomorphology in does and growing rabbits fed diets with increasing lignocellulose-to-cellulose proportions. *Archives of Animal Nutrition*, *76*(2), 125–144. <https://doi.org/10.1080/1745039X.2022.2074204>

Sawada, D., Nishiyama, Y., Shah, R., Forsyth, V. T., Mossou, E., O’Neill, H. M., Wada, M., & Langan, P. (2022). Untangling the threads of cellulose mercerization. *Nature Communications*, *13*(1), 1–6. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-33812-w>

Shaikh, H. M., Anis, A., Poulouse, A. M., Al-Zahrani, S. M., Madhar, N. A., Alhamidi, A., & Alam, M. A. (2021). Isolation and characterization of alpha and nanocrystalline cellulose from date palm (*Phoenix dactylifera* L.) trunk mesh. *Polymers*, *13*(11). <https://doi.org/10.3390/polym13111893>

Singh, S. K., & Dhepe, P. L. (2022). Alpha-, Beta- and Gamma-Cellulose Quantification and Two-Stage Concentrated-Dilute Acid Lignin Recovery from Three Rice Husks: Lignin Characterization and Depolymerization. *Waste and Biomass Valorization*, *13*(6), 2963–2977. <https://doi.org/10.1007/s12649-022-01704-1>

Singh, S. K., Matsagar, B. M., & Dhepe, P. L. (2021). Determination of Alpha-, Beta- and Gamma-Cellulose in Bagasse and Wheat Straw: Lignin Recovery, Characterization and Depolymerization. *Clean Technologies and Environmental Policy*, *19*, 23–29.

Singh, S. K., Matsagar, B. M., & Dhepe, P. L. (2022). Lignocellulosic biomass analysis: acidic lignin recovery, characterisation, and depolymerisation. *Biomass Conversion and Biorefinery*, *0123456789*. <https://doi.org/10.1007/s13399-022->

02705-9

- Soares, T., & Santos, S. F. . (2019). Celulosa nanofibrilada y pulpa celulósica usada como refuerzo en materiales. In *Consejo Superior de Investigaciones Científicas*. CSIC, Consejo Superior de Investigaciones Científicas. <http://digital.casalini.it/9788400104870>
- Solanas, J. (2008). Filtros de papel y membranas. *Laboaragón*, 76. [http://www.laboaragon.com/docs/marcas/whatman/Whatman Catalogo General.pdf](http://www.laboaragon.com/docs/marcas/whatman/Whatman_Catalogo_General.pdf)
- Soyer, G., & Yilmaz, E. (2020). Waste management in dairy cattle farms in Aydin Region. Potential of energy application. *Sustainability (Switzerland)*, 12(4), 1–11. <https://doi.org/10.3390/su12041614>
- Sun, L., Pope, P. B., Eijssink, V. G. H., & Schnürer, A. (2015). Characterization of microbial community structure during continuous anaerobic digestion of straw and cow manure. *Microbial Biotechnology*, 8(5), 815–827. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12298>
- Tabassum-Abbasi, T., & Abbasi, S. A. (2016). Reducing the global environmental impact of livestock production: The minilivestock option. *Journal of Cleaner Production*, 112, 1754–1766. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2015.02.094>
- Tullo, E., Finzi, A., & Guarino, M. (2019). Review: Environmental impact of livestock farming and Precision Livestock Farming as a mitigation strategy. *Science of the Total Environment*, 650, 2751–2760. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.018>
- Verkerk, P. J., Costanza, R., Hetemäki, L., Kubiszewski, I., Leskinen, P., Nabuurs, G. J., Potočník, J., & Palahí, M. (2020). Climate-Smart Forestry: the missing link. *Forest Policy and Economics*, 115(April). <https://doi.org/10.1016/j.forpol.2020.102164>

- Ververis, C., Georghiou, K., Christodoulakis, N., Santas, P., & Santas, R. (2004). Fiber dimensions, lignin and cellulose content of various plant materials and their suitability for paper production. *Industrial Crops and Products*, *19*(3), 245–254. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2003.10.006>
- Vieira, W. T., de Farias, M. B., Spaolonzi, M. P., da Silva, M. G. C., & Vieira, M. G. A. (2020). Removal of endocrine disruptors in waters by adsorption, membrane filtration and biodegradation. A review. In *Environmental Chemistry Letters* (Vol. 18, Issue 4). Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01000-1>
- Wang, D., Jiang, P., Zhang, H., & Yuan, W. (2020). Biochar production and applications in agro and forestry systems: A review. *Science of the Total Environment*, *723*, 137775. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137775>
- Wang, J., Cahyadi, A., Wu, B., Pee, W., Fane, A. G., & Chew, J. W. (2020). The roles of particles in enhancing membrane filtration: A review. *Journal of Membrane Science*, *595*, 117570. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2019.117570>
- Wei, Z., Xie, X., Xue, M., Valencak, T. G., Liu, J., & Sun, H. (2021). The effects of non-fiber carbohydrate content and forage type on rumen microbiome of dairy cows. *Animals*, *11*(12), 1–17. <https://doi.org/10.3390/ani11123519>
- Wohlfahrt, J., Ferchaud, F., Gabrielle, B., Godard, C., Kurek, B., Loyce, C., & Therond, O. (2019). Characteristics of bioeconomy systems and sustainability issues at the territorial scale. A review. *Journal of Cleaner Production*, *232*, 898–909. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.05.385>
- Wu, R., & Bao, A. (2023). Preparation of cellulose carbon material from cow dung and its CO<sub>2</sub> adsorption performance. *Journal of CO<sub>2</sub> Utilization*, *68*(December 2022), 102377. <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2022.102377>
- Xu, Q., Qiao, Q., Gao, Y., Hou, J., Hu, M., Du, Y., Zhao, K., & Li, X. (2021). Gut Microbiota and Their Role in Health and Metabolic Disease of Dairy Cow. *Frontiers in Nutrition*, *8*(August), 1–13.

<https://doi.org/10.3389/fnut.2021.701511>

Yadav, N., & Hakkarainen, M. (2021). Degradable or not? Cellulose acetate as a model for complicated interplay between structure, environment and degradation. *Chemosphere*, 265(xxxx), 128731. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128731>

Yuan, Z., Cheng, J., Lan, G., & Lu, F. (2021). A cellulose/Konjac glucomannan-based macroporous antibacterial wound dressing with synergistic and complementary effects for accelerated wound healing. *Cellulose*, 28(9), 5591–5609. <https://doi.org/10.1007/s10570-021-03821-x>

Zapata Martínez, O., Serrano, A., Aguilera Flores, M. M., & Villa-Gómez, D. K. (2019). Rabbit manure as a potential inoculum for anaerobic digestion. *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 54(9), 943–950. <https://doi.org/10.1080/10934529.2019.1610293>

## ANEXOS

### Anexo 1 *Proceso de extracción de celulosa*

**Figura 5** *Recolección de estiércol*



**Figura 6** *Remojo de la materia prima*



**Figura 7** *Esterilización de estiércol*



**Figura 8** *Secado*



**Figura 9** *Trituración mecánica de las fibras*



**Figura 10** *Despulpado con NaOH al 10%*



**Figura 11** *Blanqueamiento con NaClO 5 %*



**Figura 12** *Obtención de celulosa*



**Anexo 2** *Elaboración de filtro*

**Figura 13** *Elaboración de mezcla y prensado*

A



B



Nota: A) Homogenización de la mezcla, B) Prensado

**Figura 14** *Filtros estériles*

A



B



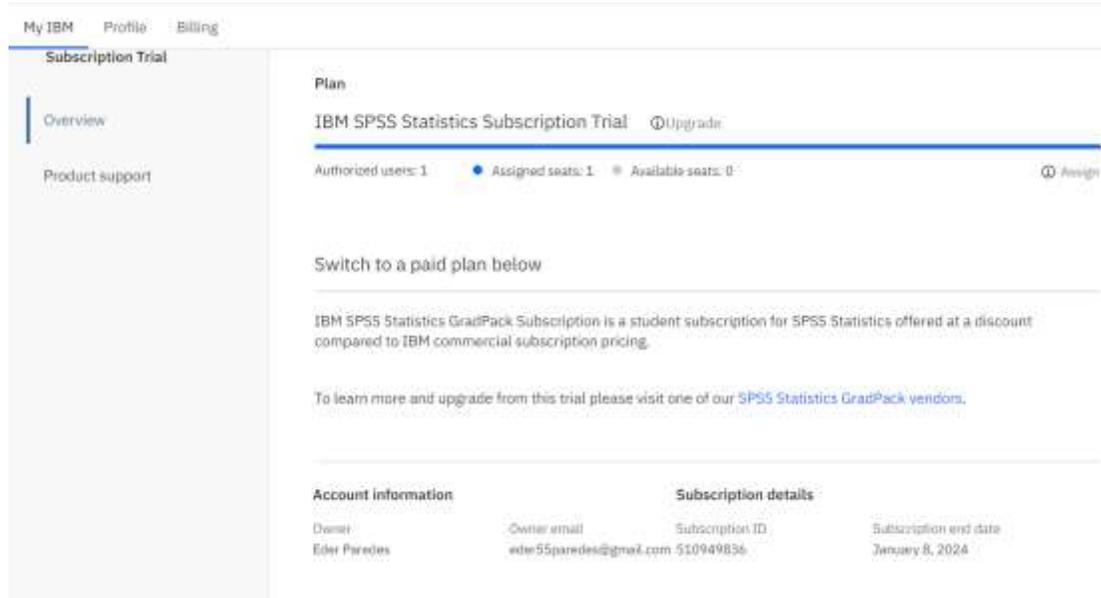
C



Nota: A) Filtro de conejo, B) Filtro de vaca, C) Filtro de la mezcla

### Anexo 3 Suscripción IBM SPSS STATISTICS

Figura 15 Detalle de la suscripción



Nota: Se realizó el análisis estadístico para el pH, contenido de humedad y cenizas de los filtros con el programa SPSS

### Anexo 4 Análisis estadístico para el ph

Tabla 5 Mediciones de pH de los filtros

Tipo de filtro	pH		
	R1*	R2*	R3*
Conejo	7.92	7.90	7.89
Vaca	8.21	8.23	8.17
Mezcla	7.98	8.02	7.99

Nota: R1, R2, R3, corresponden a el número de replicas empleadas.

**Figura 16** Estadísticos descriptivos, ANOVA y prueba Tukey

### Descriptivos

pH

	N	Media	Desv. estándar	Error estándar	95% de intervalo de confianza para la media	
					Límite inferior	Límite superior
Conejo	3	7,9967	,02082	,01202	7,9450	8,0484
Vaca	3	7,9033	,01528	,00882	7,8654	7,9413
Mezcla	3	8,2033	,03055	,01764	8,1274	8,2792
Total	9	8,0344	,13445	,04482	7,9311	8,1378

### ANOVA

pH

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,141	2	,071	132,583	<.001
Dentro de grupos	,003	6	,001		
Total	,145	8			

### Comparaciones múltiples

Variable dependiente: pH

HSD Tukey

(I) Filtro	(J) Filtro	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Conejo	Vaca	,09333*	,01886	,006	,0355	,1512
	Mezcla	-,20667*	,01886	<.001	-,2645	-,1488
Vaca	Conejo	-,09333*	,01886	,006	-,1512	-,0355
	Mezcla	-,30000*	,01886	<.001	-,3579	-,2421
Mezcla	Conejo	,20667*	,01886	<.001	,1488	,2645
	Vaca	,30000*	,01886	<.001	,2421	,3579

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

## pH

HSD Tukey<sup>a</sup>

Filtro	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Vaca	3	7,9033		
Conejo	3		7,9967	
Mezcla	3			8,2033
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media

### Anexo 5 Análisis estadístico para el contenido de humedad de los filtros

**Tabla 6** Determinación de contenido de humedad de los filtros elaborados

Tipo de filtro	Humedad		
	R1	R2	R3
Conejo	0.0265	0.0225	0.0239
Vaca	0.1035	0.1016	0.1003
Mezcla	0.0032	0.0033	0.0031

**Figura 17** Estadísticos descriptivos, ANOVA y prueba Tukey

Descriptivos						
Humedad						
	N	Media	Desv. estándar	Error estándar	95% de intervalo de confianza para la media	
					Límite inferior	Límite superior
Conejo	3	,024300	,0020298	,0011719	,019258	,029342
Vaca	3	,101800	,0016093	,0009292	,097802	,105798
Mezcla	3	,003200	,0001000	,0000577	,002952	,003448
Total	9	,043100	,0449817	,0149939	,008524	,077676

## ANOVA

Humedad

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,016	2	,008	3610,138	<.001
Dentro de grupos	,000	6	,000		
Total	,016	8			

### Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Humedad

HSD Tukey

(I) Filtro	(J) Filtro	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Conejo	Vaca	-,0775000*	,0012220	<.001	-,081249	-,073751
	Mezcla	,0211000*	,0012220	<.001	,017351	,024849
Vaca	Conejo	,0775000*	,0012220	<.001	,073751	,081249
	Mezcla	,0986000*	,0012220	<.001	,094851	,102349
Mezcla	Conejo	-,0211000*	,0012220	<.001	-,024849	-,017351
	Vaca	-,0986000*	,0012220	<.001	-,102349	-,094851

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

### Humedad

HSD Tukey<sup>a</sup>

Filtro	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Mezcla	3	,003200		
Conejo	3		,024300	
Vaca	3			,101800
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media

**Anexo 6** Análisis estadístico para el contenido de cenizas de los filtros

**Tabla 7** Determinación de contenido de cenizas de los filtros elaborados

Tipo de filtro	Cenizas		
	R1	R2	R3
Conejo	2.7224	2.7087	2.7025
Vaca	4.9853	4.9592	4.9274
Mezcla	3.7462	3.7834	3.7143

**ANOVA**

Cenizas

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	7,582	2	3,791	5313,373	<.001
Dentro de grupos	,004	6	,001		
Total	7,587	8			

**Comparaciones múltiples**

Variable dependiente: Cenizas

HSD Tukey

(I) Filtro	(J) Filtro	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Conejo	Vaca	-2,2461000*	,0218100	<.001	-2,313019	-2,179181
	Mezcla	-1,0367667*	,0218100	<.001	-1,103686	-,969848
Vaca	Conejo	2,2461000*	,0218100	<.001	2,179181	2,313019
	Mezcla	1,2093333*	,0218100	<.001	1,142414	1,276252
Mezcla	Conejo	1,0367667*	,0218100	<.001	,969848	1,103686
	Vaca	-1,2093333*	,0218100	<.001	-1,276252	-1,142414

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

### Cenizas

HSD Tukey<sup>a</sup>

Filtro	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Conejo	3	2,711200		
Mezcla	3		3,747967	
Vaca	3			4,957300
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media

### Anexo 7 Pruebas de integridad

### Figura 18 Pruebas bromatológicas



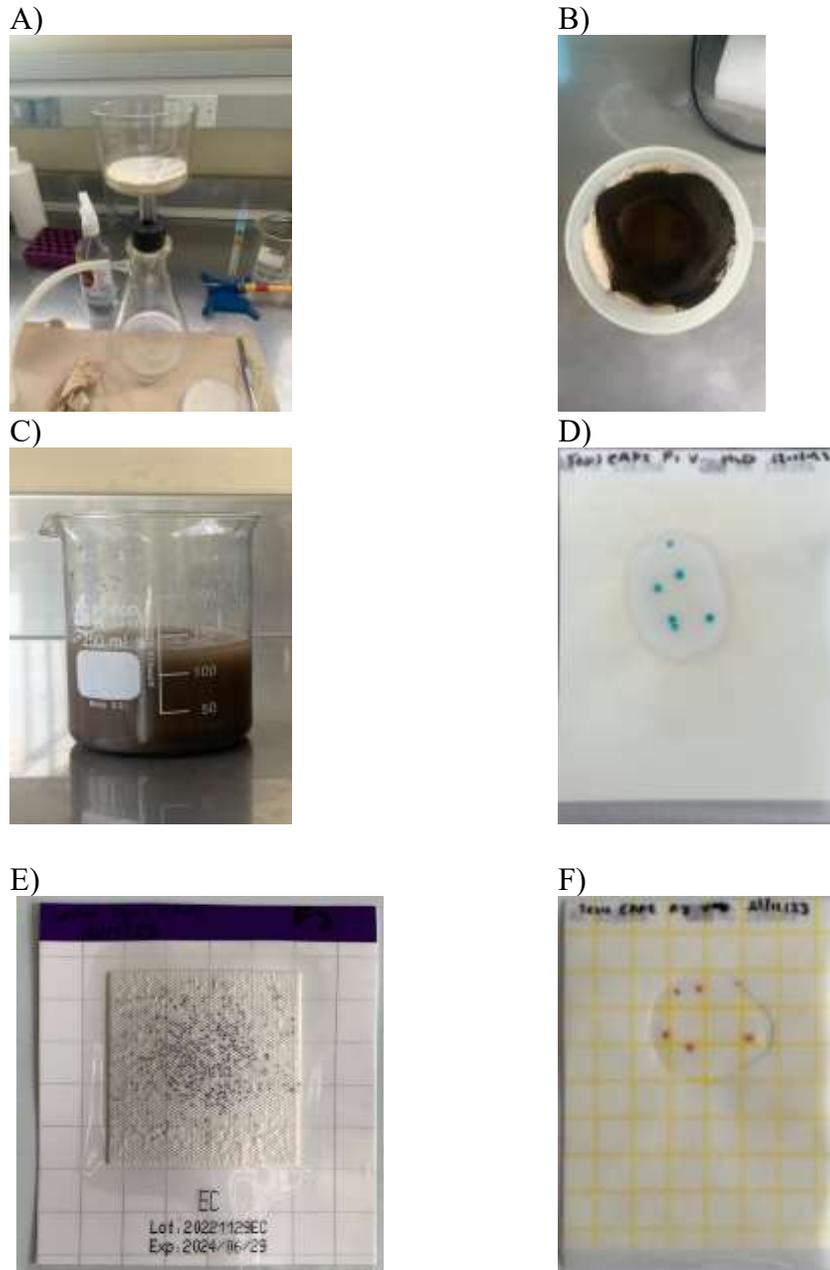
Nota: A) Determinación de pH de las pulpas; B) Determinación del contenido de cenizas de los filtros; C) Determinación del contenido de humedad de los filtros.

**Figura 19** Pruebas microbiológicas



Nota: A) Detección de mohos y levaduras; B) Detección de *E.coli* y coliformes; C) detección de aerobios totales. No se evidencia crecimiento en ninguno de los filtros (conejo, vaca y mezcla); las pruebas son realizadas por triplicado.

**Figura 20** Determinación de la eficiencia de filtrado



Nota: A) Prueba de filtrado con microorganismos; B) Prueba de filtrado con arena; C) solución de agua y arena previo a la filtración; D; Recuento de mohos y levaduras después del proceso de filtración E) Recuento de *E. coli* después del proceso de filtración; F) Recuento de aerobios totales después del proceso de filtración.