

## Obtención de sales de calcio a partir de conchas de ostiones a escala de laboratorio

### *Obtaining calcium salts from oyster shells on a laboratory scale*

CARIDAD CURBELO-HERNÁNDEZ<sup>1</sup>, SUSNELY CRUZ-PONCE<sup>1</sup>, LARITZA ORTEGA-PILOTO<sup>1</sup>, EMILIO A. SOTOLONGO-VALDÉS<sup>1</sup>, BÁRBARA SÁEZ-SIGARROA<sup>1</sup> Y YENISSET FUMERO-ACOSTA<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Ingeniería Química. Universidad Tecnológica de La Habana José Antonio Echeverría (CUJAE). Calle 114 No.11901 entre Rotonda y Ciclovía, Municipio Marianao, CP 19390, La Habana, Cuba, E-mail: cary@quimica.cujae.edu.cu

<sup>2</sup> Centro de Investigaciones Pesqueras. Calle 246 entre 5ta. Avenida y Mar, Reparto Barlovento, Municipio Playa, CP 19100, La Habana, Cuba.

#### RESUMEN ABSTRACT

La acumulación de los descartes o conchas de ostiones tiene un impacto ambiental negativo debido a su lenta degradación, y se ha demostrado la potencialidad de estos residuos para la obtención de sales de calcio. En este trabajo se establecieron las mejores condiciones de operación para obtener lactato y citrato de calcio a escala de laboratorio, a partir de la harina de conchas de ostión de mangle mediante lixiviación con HCl, formación de las sales con ácidos orgánicos (láctico y cítrico), utilizando como agente precipitante NaOH. Se evaluó la influencia de cuatro factores: tipo de ácido (láctico y cítrico), concentración de HCl (3,5 % y 7 % v/v), relación solvente:sólido (7:1 y 10:1 mL/g) y velocidad de agitación (150 y 200 min<sup>-1</sup>) sobre la masa de sal y el rendimiento (referido a la masa de harina, de CaCO<sub>3</sub> y la cantidad de sal teórica a obtener), para un diseño experimental 2<sup>4</sup> con réplica en todos los puntos. El análisis de composición de la harina arrojó el mayor porcentaje para el CaCO<sub>3</sub> (89,60 %). El diseño experimental demostró que las únicas variables estadísticamente significativas con 95 % de confianza fueron la concentración de HCl y la relación solvente:sólido para ambas sales. Las mejores condiciones de operación resultaron la concentración de HCl de 7 %, la relación de 10:1 mL/g a 150 min<sup>-1</sup>.

Palabras clave: conchas de ostiones, lixiviación, precipitación, sales de calcio.

The accumulation of discarded or oyster shells has a negative environmental impact due to its slow degradation, and the potential of these residues to obtain calcium salts has been demonstrated. In this work, the best operating conditions were established to obtain calcium lactate and citrate on a laboratory scale, from mangrove oyster shell meal by leaching with HCl, formation of salts with organic acids (lactic and citric). using NaOH as precipitating agent. The influence of four factors was evaluated: type of acid (lactic and citric), concentration of HCl (3,5 % and 7 % v/v), solvent:solid ratio (7:1 and 10:1 mL/g) and stirring speed (150 and 200 min<sup>-1</sup>) on the mass of salt and the yield (referred to the mass of flour, of CaCO<sub>3</sub> and the amount of theoretical salt to be obtained), for an experimental design 2<sup>4</sup> with replication at all points. The flour composition analysis showed the highest percentage for CaCO<sub>3</sub> (89,60 %). The experimental design showed that the only statistically significant variables with 95 % confidence were the concentration of HCl and the solvent:solid ratio for both salts. The best operating conditions were the HCl concentration of 7 %, the ratio of 10:1 mL/g at 150 min<sup>-1</sup>.

Keywords: oyster shells, leaching, precipitation, calcium salts.

## INTRODUCCIÓN

Uno de los productos marinos consumidos por el hombre es el ostión, debido a las grandes ventajas que reporta como alimento, por su alto valor nutritivo y por las posibilidades de su cultivo. En Cuba se han identificado por las condiciones de su hábitat dos tipos de ostiones: *Crassostrea rhizophorae*, conocido como ostión de mangle y *Crassostrea virginica* identificado como ostión de fondo, aunque las estadísticas de captura no los diferencian (Betanzos & Arencibia, 2016).

Se reporta que la captura media anual de ostión en su concha ha mostrado un promedio de 1 280 t (2011-2015) con un rendimiento en carne del 5,7 %, siendo el volumen de concha desechada 1 207 t anuales equivalentes al 94,3 % con respecto al peso total. Estos residuos al ser desechados representan un problema ambiental debido a su creciente acumulación en las plantas de procesamiento, así como por su escasa degradación, por lo que se ha convertido en una necesidad actual la búsqueda de alternativas que permitan la utilización eficiente de estos residuos de moluscos bivalvos.

Las conchas de ostiones contienen un alto porcentaje de calcio en forma de carbonato de calcio fundamentalmente, convirtiéndose debido a su composición en una materia prima idónea para la obtención de productos químicos de alto valor agregado, como son las sales de calcio con múltiples aplicaciones en la industria alimentaria, farmacéutica, etc., lo que garantiza la sustitución de importaciones y la introducción de nuevas líneas de mercado (Grande, 2015; Arencibia & Betanzos, 2018).

Los especialistas del Centro de Investigaciones Pesqueras (CIP) han profundizado en el aprovechamiento de estos residuos, mediante la elaboración de una harina que cumple con los requisitos para ser empleada como suplemento de calcio en la industria alimentaria (Pis *et al.*, 2005; 2011).

El objetivo del presente trabajo estuvo dirigido a establecer las mejores condiciones para la obtención de lactato y citrato de calcio a partir de conchas de ostión de mangle a escala de laboratorio.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para la realización de esta investigación se empleó como materia prima la concha del ostión de mangle, facilitada por la Unidad Empresarial Básica (UEB) El Morrillo, perteneciente a la Empresa Pesquera Industrial La Coloma (EPICOL), ubicada en la provincia de Pinar del Río. Para la obtención de la harina a partir de las conchas se realizó un proceso de descarnado, lavado, secado, molienda (molino de bolas) y tamizado. La caracterización física de la harina se realizó de forma cualitativa, teniendo en cuenta el color, la forma (fina o gruesa)

y el olor, entre otros aspectos, que permitieron realizar una valoración de la efectividad de los procesos de secado, molienda y tamizado.

La caracterización química de la harina fue realizada en el Centro de Investigaciones Pesqueras (CIP), e incluyó la determinación del contenido de humedad, cenizas y carbonato de calcio. Todas las determinaciones se hicieron por triplicado y los reactivos utilizados fueron de calidad analítica. Las concentraciones de calcio y otros metales presentes se obtuvieron en el Instituto de Investigaciones del Tabaco, mediante la determinación de macro y microelementos, haciendo modificaciones a los métodos normalizados (IIT 1; IIT2).

La evaluación microbiológica de la harina fue realizada en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Tecnológica de La Habana José Antonio Echeverría. Esta caracterización incluyó la realización de la técnica de dilución y siembra en placa para detectar la presencia de bacterias, levaduras y hongos. Para obtener la morfología de las bacterias se realizó la tinción simple y, adicionalmente, la técnica de tinción de Gram para su clasificación. También se aplicó la técnica del Número Más Probable (NMP), con el objetivo de determinar la existencia de m.o. Coliformes totales y fecales en la muestra de harina analizada (Street, 2006; Ruan, 2013). Adicionalmente, se realizaron observaciones de las muestras en un microscopio óptico marca *Novel*, modelo *HalogenLamp*, utilizando el objetivo 4X. Una vez seleccionado el campo de interés, las imágenes obtenidas fueron analizadas, definiendo las estructuras celulares y las características morfométricas de tamaño y forma.

## Diseño experimental

Para establecer el número de experimentos y la aleatoriedad de las variables se decidió realizar un diseño factorial con el programa estadístico *Statgraphics*, versión *XV Centurion*, teniendo en cuenta cuatro factores (Tabla 1), obteniéndose un diseño experimental  $2^4$  con réplica en todos los puntos, para un total de 32 experimentos.

Los niveles de concentración se establecieron según estudios reportados en la literatura para la obtención de sales de calcio y magnesio a partir de conchas de choro (Vásquez & Glorio, 2007). Los valores de relación solvente:sólido se decidieron según un estudio previo realizado sobre los requerimientos de la reacción de hidrólisis ácida para garantizar que el carbonato de calcio fuera la sustancia limitante, de manera que ocurriera la reacción total del carbonato presente en la harina de conchas de ostión de mangle. Finalmente, los niveles de velocidad de agitación se establecieron para garantizar un buen mezclado entre las dos fases en contacto.

Tabla 1. Diseño experimental para cada tipo de ácido orgánico

Factores	Niveles	Variables Respuestas
Tipo de ácido orgánico	Láctico-cítrico	
Concentración de HCl (% v/v)	3,5-7	Masa de sal (g)
Relación solvente-sólido (mL/g)	7:1-10:1	Rendimiento de sal (%)
Velocidad de agitación (min <sup>-1</sup> )	150-200	

### Obtención de las sales de calcio

El procedimiento seguido para la obtención de sales de calcio a partir de las conchas de ostión de mangle se muestra en la figura 1. Como se observa en la etapa de precipitación, en función del ácido orgánico que se utilice se obtendrá lactato o citrato de calcio.

Para la lixiviación ácida se colocó un Erlenmeyer en la zaranda por una hora a temperatura ambiente, con la correspondiente cantidad de ácido clorhídrico a diferen-

tes concentraciones, según la relación solvente:sólido considerada en cada caso y 10 g de harina añadidos. Una vez concluida la etapa anterior, se procedió a realizar la filtración con una bomba de vacío para separar la harina que quedó sin reaccionar (torta residual) del licor de interés, que pasará a la etapa posterior de precipitación. La reacción química que se produce en esta etapa es la siguiente:

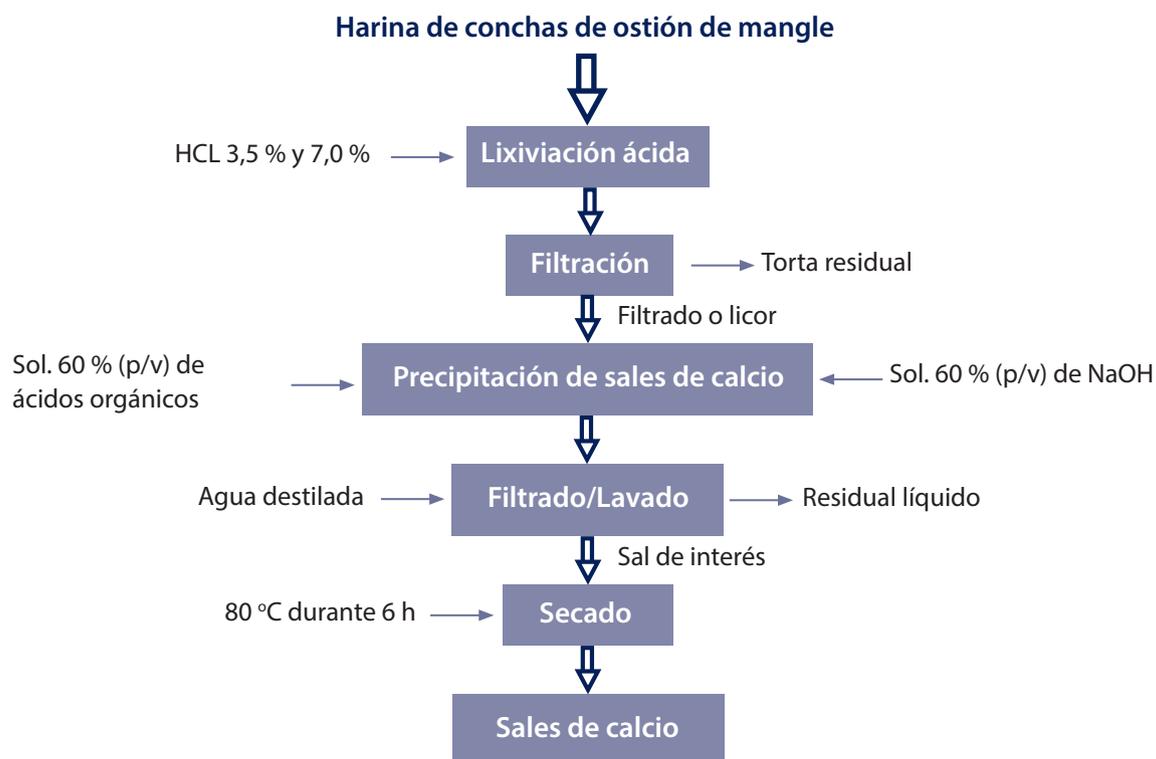
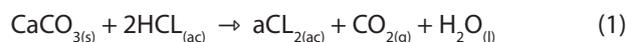
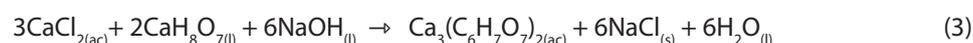


Fig. 1. Esquema de obtención de sales de calcio.

Al licor obtenido durante la filtración se le incorporó el ácido orgánico que corresponda (láctico o cítrico) al 60 % (p/v) en proporción 2,5:1 (ácido: harina de conchas), inmediatamente seguido de una solución de NaOH al 60 % (p/v) en proporción 3,0:1 (hidróxido de sodio:harina de

conchas), garantizando los requerimientos estequiométricos de las reacciones correspondientes en la etapa de precipitación, las cuales se correspondieron con la obtención de lactato de calcio (2) y citrato de calcio (3) respectivamente:



Las operaciones de filtrado/lavado se realizaron con ayuda de una bomba de vacío. Para eliminar los restos de ácido y base del precipitado, se realizaron dos ciclos de lavado con un promedio de 100 mL de agua destilada cada uno, resultando la sal de interés precipitada en forma de torta y el residual líquido, al cual se le determinó presencia de calcio mediante el indicador Murexida. Posteriormente, se sometió la sal a la etapa de secado en la estufa durante 6 h a una temperatura de 80 °C, según Vásquez & Glorio (2007). Finalmente, la muestra seca fue almacenada e identificada para los análisis correspondientes.

### Determinaciones analíticas

Las sales de calcio obtenidas fueron sometidas a diversas técnicas analíticas, entre las que se encuentran: Punto de Fusión, Espectrofotometría de Absorción Atómica, Espectroscopía Infrarroja, y Análisis Térmico Diferencial (Cruz, 2018; Piloto, 2018).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Caracterización de la harina de conchas de ostión de mangle

La caracterización química de la harina utilizada en el trabajo se reporta en la tabla 2. Como se observa la preparación y acondicionamiento de la harina de ostión se consideró satisfactoria al compararlo con lo reportado por Pis *et al.* (2011). Se comprobó la alta concentración de minerales en la concha de ostión con un porcentaje de cenizas de aproximadamente 96 % y dentro de ello el carbonato de calcio es mayoritario, lo que demuestra la potencialidad de este residual pesquero como fuente de obtención de sales de calcio. También se evidenció que la molienda realizada permitió disponer de una harina con un tamaño de partícula que favorece la lixiviación ácida a la que fue sometida.

A partir del alto porcentaje de cenizas, resultó interesante conocer la composición de metales en la harina de conchas de ostión, cuyos resultados se reportan en la tabla 3.

Tabla 2. Características de la harina de conchas de ostión de mangle

Parámetros		Referencia Pis <i>et al.</i> (2011)
Humedad (%)	0,86 ± 0,02	0,98 ± 0,08
Cenizas (%)	96,05 ± 0,20	97,37 ± 0,25
CaCO <sub>3</sub> (%)	89,60 ± 3,00	NR
Dvs (mm)		0,141

Dvs: diámetro superficial volumétrico; NR: no reportado.

Tabla 3. Composición mineral de la harina de conchas de ostión (%)

Na	K	Mg	Ca	Zn	Cu	Mn	Fe
0,2423	0,0736	0,3383	32,3429	ND	ND	1,9057	0,7236

Se observó la presencia de varios componentes y se ratificó el alto porcentaje de calcio en la harina y no se detectaron (ND) ni zinc, ni cobre. Pero el resto de los metales presentes dan a la harina de conchas de ostión un valor adicional con nutrientes para procesos biológicos.

La evaluación microbiológica de la harina de conchas de ostión de mangle arrojó la presencia de formas cocáceas y bacilares separadas y bien definidas mediante la tinción simple. Con la técnica de dilución y siembra en placa se detectó crecimiento en las placas con agar nutriente, siendo el número de UFC/mL incontables para las dos últimas diluciones sembradas ( $10^{-4}$ ;  $10^{-5}$ ) transcurrido un período de incubación de 24 h, indicando contaminación bacteriana en la harina. Después de 48 h de incubación se detectó en las placas con agar extracto de malta crecimiento de levaduras, siendo las UFC/mL incontables para las mismas diluciones sembradas, indicando contaminación por levaduras, las colonias crecidas en las placas Petri se observaron cremosas con bordes irregulares y coloración beige.

En la preparación húmeda se observaron al microscopio células de forma circular y algunas en proceso de reproducción por gemación. Mediante la tinción diferencial de Gram se observaron cocos y bacilos Gram positivos y Gram negativos indistintamente. Por último, con la técnica del Número Más Probable (NMP) no se detectó la presencia de m.o. Coliformes totales, al no producirse gas en los tubos de Durham, pero sí se observó turbidez en los tubos de cultivo indicando suciedad. A partir de los resultados obtenidos se demostró que la harina de conchas de ostión de mangle está contaminada microbiológicamente con levaduras y bacterias, pero para la obtención de las sales de calcio esto no es un inconveniente, debido a las reacciones químicas involucradas.

## Diseño experimental

Como se expresó en la tabla 1, como variables respuestas se consideraron la masa de sal obtenida según el ácido orgánico utilizado y el rendimiento. En este caso se definieron tres tipos de rendimiento, todos a partir de la masa de sal, pero con diferentes referencias:

Rendimiento 1 (R1; %) = masa de sal obtenida/masa de harina

Rendimiento 2 (R2; %) = masa de sal obtenida/masa de  $\text{CaCO}_3$  en la harina

Rendimiento máximo (RM; %) = masa de sal obtenida/masa de sal teórica a obtener

El análisis estadístico realizado permitió definir los factores en estudio que influyen significativamente con un 95 %

de confianza sobre las variables respuestas para la lixiviación ácida, lo cual se ilustra para la masa de sal obtenida (Fig. 2). Para el resto de las variables respuestas (rendimientos) el comportamiento fue similar. Como se observa la concentración de HCl (A) y la relación solvente/sólido (B) resultaron estadísticamente significativas con un 95 % de confianza sobre la masa de ambas sales (valor  $p < 0,05$ ), al igual que las interacciones de ambos factores (AB), todas con efecto positivo, lo que indica que en la medida que el nivel de los factores se incrementa, aumentará la masa de sal obtenida. Resalta que el tipo de ácido (D) como factor en estudio no influye estadísticamente sobre la masa de sal, sin embargo, resultaron significativas con un 95 % de confianza su interacción con la concentración de ácido (AD) y la relación solvente:sólido (BD).

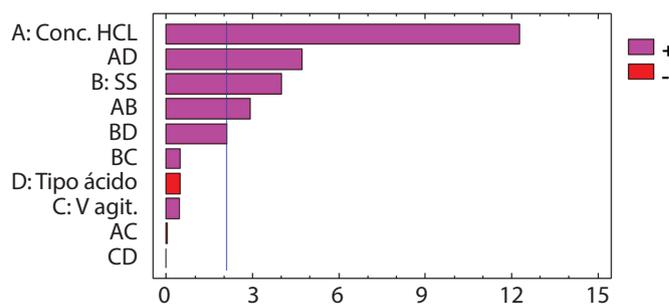


Fig. 2. Diagrama de Pareto estandarizado para la masa de sal obtenida.

El coeficiente de determinación ( $R^2$ ) reportado presentó un valor de 91,0035 %, lo cual demuestra que el modelo obtenido explica en esa magnitud la variabilidad de la masa de sal obtenida. Lo planteado anteriormente se comprueba mediante la comparación entre el coeficiente de correlación de Pearson ( $R$ ), cuyo valor es 0,9540 y el coeficiente de correlación crítico ( $R_c = 0,645$ ), considerando un tamaño de muestra igual a 32 y un grado de significación ( $\alpha$ ) igual a 0,05, siendo  $R$  mayor que  $R_c$ . El estadígrafo Durbin-Watson (DW) presentó un valor de 2,1566 ( $p = 0,2727$ ), evidenciando que no existe correlación entre los residuos, ya que el valor  $p$  es superior a 0,05.

Es importante señalar que independiente de los factores experimentales siempre la masa de citrato de calcio resultó mayor que la de lactato de calcio, partiendo de 10 g de harina en la lixiviación ácida, lo cual se reflejó también en el rendimiento. Este comportamiento puede explicarse atendiendo a las reacciones químicas involucradas, pues como se observa en las reacciones (2) y (3) que estequiométricamente en el caso del citrato de calcio

se forman tres moles de citrato con respecto a un mol de lactato.

En la figura 3 se muestran los resultados de la masa de sal obtenida para cada ácido y el rendimiento expresado en sus diferentes formas, y como se observa para algunas corridas experimentales el rendimiento tomó valores superiores al 100 %, lo cual puede explicarse por el comportamiento que

tiene la masa de sal formada de acuerdo con el tipo de ácido utilizado.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos se ratifica que los mayores valores de masa de sal formada así como el rendimiento, se obtienen para el citrato de calcio, una concentración de HCl de 7 % y una relación solvente:sólido de 10:1.

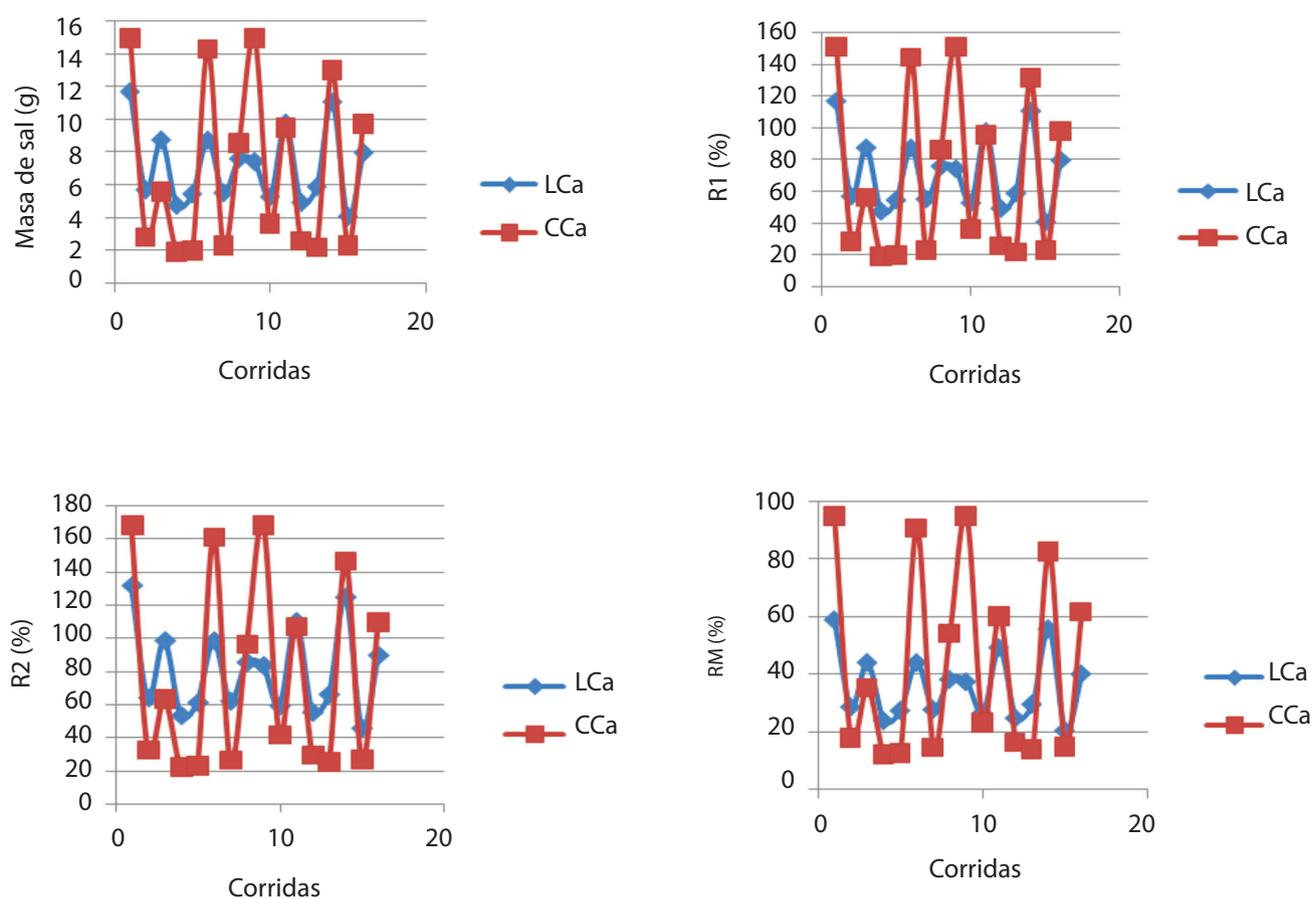


Fig. 3. Efecto del tipo de ácido orgánico sobre la masa de sal y el rendimiento de sal.

### Caracterización de las sales de calcio obtenidas

**Punto de fusión:** Al realizar esta determinación se observó que ambas sales permanecían en estado sólido en el intervalo evaluado (110-350 °C), lo cual significa que no fundieron a ninguna de estas temperaturas. Se reporta que el punto de fusión para el lactato y citrato de calcio es de 240 °C y 120 °C respectivamente (Marques, 2011; Mendivil, 2012). Según el resultado obtenido, la temperatura necesaria para provocar

este cambio no se alcanzó, lo cual evidencia la presencia de impurezas en las sales obtenidas.

**Espectrofotometría de absorción atómica:** Al aplicar esta técnica basando el trabajo en la sal anhidra, se evidenció la presencia de trazas de metales como K, Mg, Zn, Cu y Fe y la presencia de Na y Ca en mayor concentración. El valor promedio de calcio fue de  $76,979 \pm 0,941$  para el caso del lactato de calcio y para el citrato de calcio de  $38,165 \pm 2,179$ , ambos valores expresados como gramos por kilogramo de sal "impu-

ra". Los cationes analizados representan solo el 8,68 % de la muestra analizada, el resto lo constituyen otros elementos no determinados. La elevada concentración de sodio (0,8 %) en comparación con el resto de las impurezas en el producto, está asociada a la adición en exceso del agente precipitante (hidróxido de sodio) durante la segunda reacción y a la formación del cloruro de sodio como resultado de la coprecipitación de sales de sodio y calcio. El resto de las impurezas tienen su causa en la materia prima empleada para la obtención de las sales de calcio, ya que la concha de ostión de mangle está constituida por un elevado porcentaje de cenizas (96,05 %), donde el mayor índice está representado por el calcio.

Espectroscopía IR: El espectro IR obtenido para ambas sales presentan las bandas características del citrato (CCa) y lactato (LCa), según se reporta por Marques (2011); Marques

*et al.* (2012); Baysanger & Killer (2018). En la figura 4 se presenta el espectro para el citrato de calcio y se identifican las bandas características de los grupos funcionales más importantes del citrato de calcio: COO<sup>-</sup>, OH alcohólico y CH<sub>2</sub>.

Las señales características de vibraciones de  $\nu_{Csp3-H}$ ,  $\nu_{C=O}$  y doblaje  $\delta^s CH_3$  no se observan, producto de la poca sensibilidad de la técnica ATR empleada.

Donde:

$\nu$ : vibración de enlace;  $\delta$ : doblaje de enlaces; 1, 2:  $\nu_{O-C=O}$  1 560, 1 537  $cm^{-1}$ ; 3:  $\delta^s$  OH alcohol terciario 1 387  $cm^{-1}$ ; 4:  $\nu_{O-C}$  1 077  $cm^{-1}$  (característico de ácido orgánico monomérico); 5:  $\delta_{O-C}$  742  $cm^{-1}$  (doblarje en el plano de enlaces CH<sub>2</sub>).

El espectro IR para el lactato de calcio presenta las mismas señales analizadas anteriormente, pero con menor intensidad.

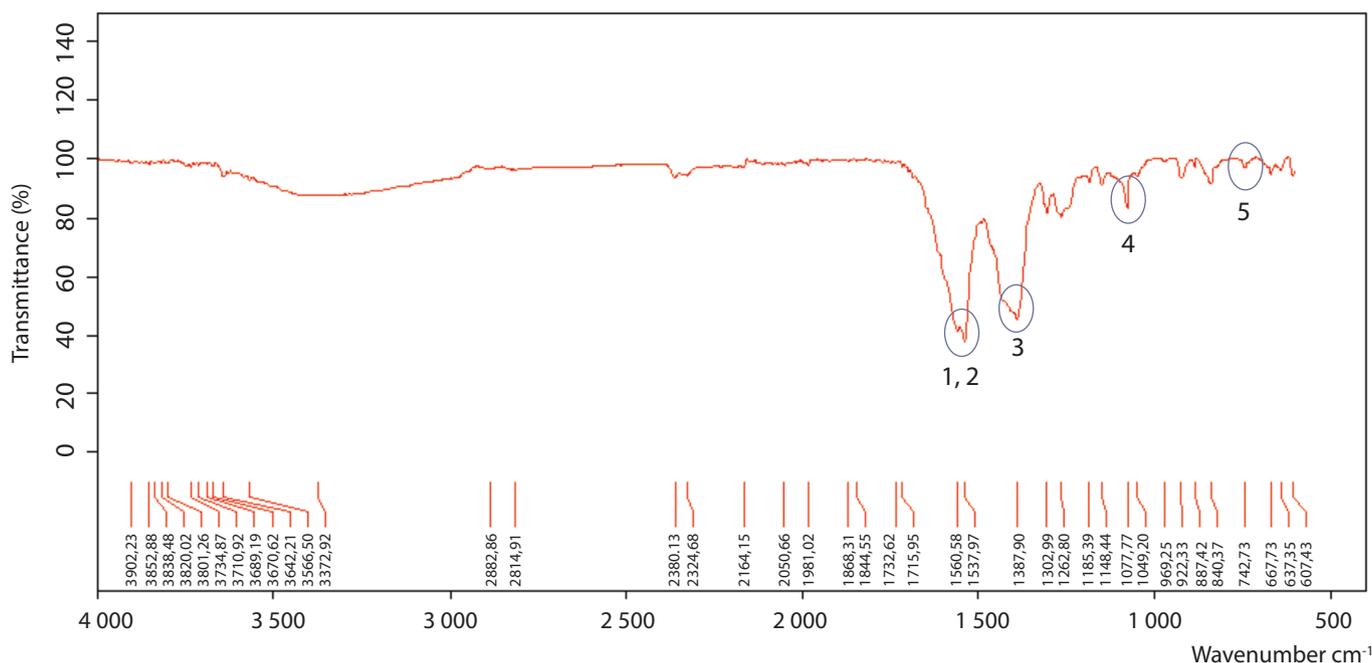


Fig. 4. Espectro IR del citrato de calcio.

Análisis térmico: En la figura 5 se presentan las curvas de DTA (Análisis Térmico Diferencial), TG (Termogravimétrica) y DTG (Derivada Termogravimétrica) correspondientes al citrato de calcio; las correspondientes al lactato de calcio tienen un comportamiento similar y no se presentan. En las curvas TG/DTG para el citrato de calcio se presentan tres etapas diferentes de pérdida de masa. La primera se inicia a temperatura de 75 °C hasta 250 °C (DTGpico = 146,0 °C), con pérdida de masa asociada a la deshidratación con formación de citrato de calcio anhidro. La segunda pérdida de masa se presenta en el intervalo de temperatura entre 375-475 °C (DTGpico = 442 °C) con un porcentaje

de pérdida de masa atribuido a la descomposición de citrato de calcio anhidro para formación de CaCO<sub>3</sub>. La tercera pérdida de masa referida a la descomposición térmica de CaCO<sub>3</sub> ocurre entre 625-800 °C (DTGpico = 761 °C) para la formación del óxido de calcio y yeso (Mg<sub>3</sub>Si<sub>4</sub>O<sub>10</sub>(OH)<sub>2</sub>), la formación de este último puede estar asociada a la posible presencia de silicio (Si) y magnesio (Mg) en la harina de concha de ostión empleada como materia prima, constituyendo impurezas que no forman parte del citrato de calcio de referencia. Para ambas sales los resultados obtenidos se corresponden con lo reportado en la literatura (Marques, 2011; Marques *et al.*, 2012).

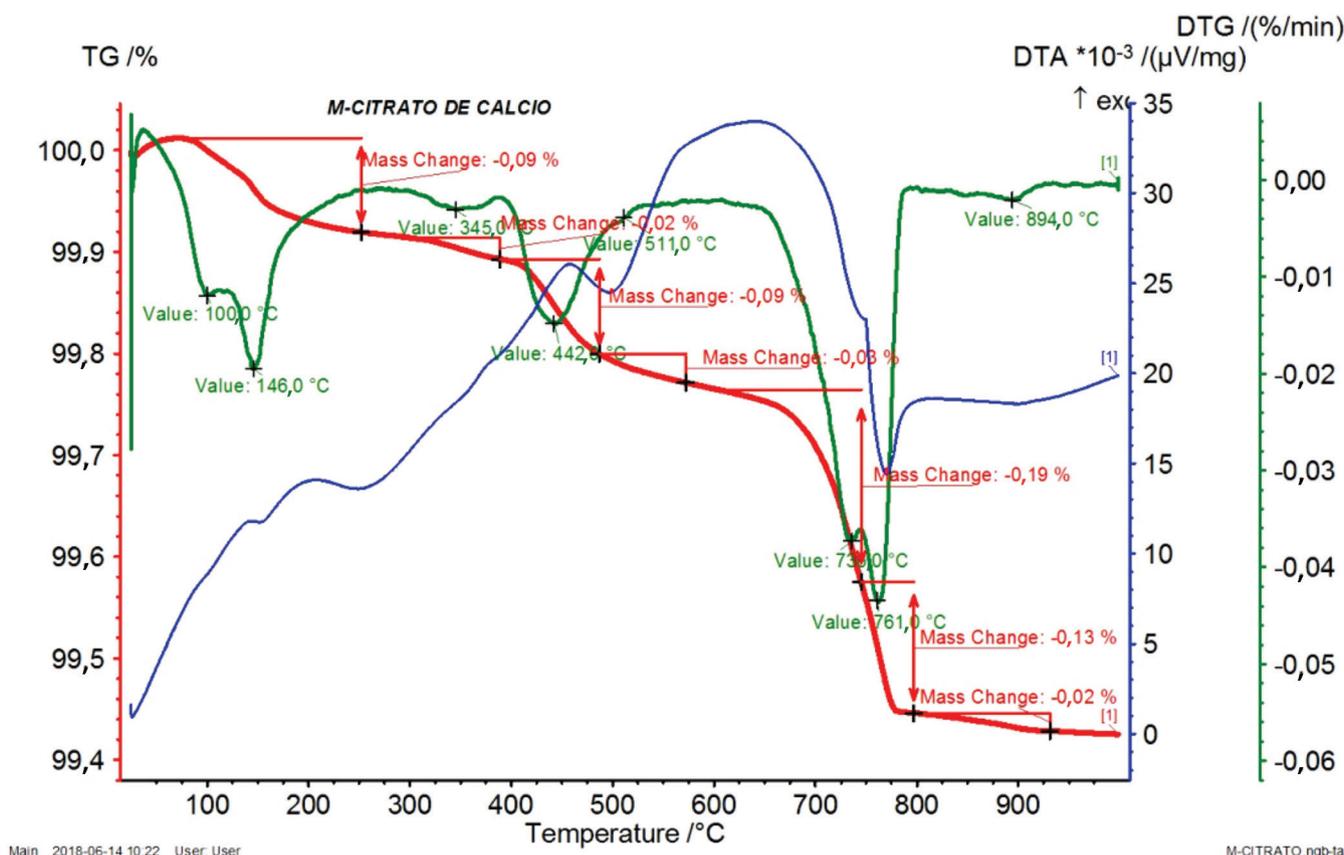


Fig. 5. Curvas del análisis térmico para el citrato de calcio.

Se puede concluir que el producto obtenido a escala de laboratorio corresponde al lactato y citrato de calcio, ya que según indica el análisis térmico realizado, se presentan las principales transformaciones características de ambas sales.

## CONCLUSIONES

Las conchas de ostión de mangle son una materia prima potencial para la obtención de sales de calcio, aprovechándose este residual pesquero lo que minimiza el impacto ambiental en las plantas procesadoras. Las mejores condiciones de obtención de las sales de calcio resultaron una concentración de HCl de 7 % y una relación solvente:sólido de 10:1 en la lixiviación ácida. Bajo las condiciones experimentales la masa y rendimiento del citrato de calcio fueron superiores en relación con el lactato de calcio.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer al proyecto P131LH 001262 coordinado por el CIP por el apoyo y colaboración en el

suministro y caracterización de las conchas de ostión de mangle.

## REFERENCIAS

- Arencibia, G. & Betanzos-Vega, A. (2018). Las conchas de ostión y sus diferentes usos. Un desecho aprovechable como valor agregado. Extraído 17 de enero de 2018, de: <http://minalcuba.cubava.cu>
- Baysinger, G. & Keller, D. (2018). Integrated Spectral Database for Organic Compounds SDBS. Sample Search for Chemistry 130. Extraído el 31 de mayo de 2018, de: [http://sdbs.db.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/cre\\_index.cgi](http://sdbs.db.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/cre_index.cgi)
- Betanzos-Vega, A. & Arencibia-Carballo, G. (2016). El ostión en Cuba. Ventajas y desafíos. Boletín electrónico, *El Bohío*, 6(9), 23-30.
- Casas, F. N. (2011). Evaluación del efecto de la aplicación de calcio en la estabilidad de melón (*Cucumis melo L.*) fresco precortado. Tesis de Maestría, Universidad de La Sabana, Colombia.
- Cruz, P. S. (2018). Obtención de lactato de calcio a partir de los descartes de ostiones. Tesis de Grado. Universidad

- Tecnológica de La Habana José Antonio Echeverría, La Habana.
- Grande, T. C. (2015). *Residuos animales y vegetales. Una alternativa para el desarrollo sostenible de la agroindustria*, Ed. Bonaventuriana, Cali, Colombia, 138 pp.
- IIT 1 (2004). Extracción mediante acetato de amonio. Soil Survey Laboratory Methods Manual. Versión 4, 2004. USDA.
- IIT 2 (2003). Extracción de elementos traza con solución DTPA tampón. NC ISO 14870:2003 Calidad de suelo.
- Marques, S. (2011). Determinação do teor de cálcio através da temogravimetria em medicamentos utilizados no tratamento da osteoporose: um estudo comparativo. Tesis de Maestría, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Ciências exatas e da Terra, Sao Paulo, Brasil.
- Marques, S., Morais, F. de, Dos Santos, E., Da Silva, M., Martínez, C. & Suely, N. (2012). Determinação do teor de cálcio em comprimido à base de lactato de cálcio utilizado no tratamento da osteoporose. *Quim. Nova*, 35(7), 1355-1359.
- Mendivil, A. N. (2012). Producción de lactato de calcio durante la desmineralización de exoesqueleto de Jaiba y su efecto sobre la quitina aislada. Tesis de Maestría, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C, Sonora, México.
- Piloto, O. L. (2018). Obtención de citrato de calcio a partir de los descartes de ostiones. Tesis de Grado. Universidad Tecnológica de La Habana José Antonio Echeverría, La Habana.
- Pis, M. A., Flores, R., Nodarse, M. L., Serrano, P. & García, M. (2005). Formulación de una croqueta de tenca enriquecida con calcio de la concha de ostión. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 15(1), 31-35.
- Pis, M. A., Flores, R., Izquierdo, J. & Márquez, A. (2011). Evaluación de la factibilidad de producción industrial de la harina de concha de ostión. *Revista de la Asociación Cubana de Producción Animal*, 3, 7-14.
- Ruan, J. (2013). *Manual of Systematic Bacteriology* (second edition), Bergey's Ed.
- Street, F. (2006). Microbiología industrial. Departamento de Educación, Cultura, Ciencia y Tecnología. Derechos Reservados. Organización de los Estados Americanos. Descarga de Responsabilidad 1889, Washington D.C., USA. [http://www.science.oas.org/Simbio/mbio\\_ind/mbio\\_ind.htm](http://www.science.oas.org/Simbio/mbio_ind/mbio_ind.htm)
- Vásquez, Q. W. & Glorio, P. P. (2007). Obtención de calcio y magnesio a partir de conchas de choro (*Aulacomya ater* Molina) para enriquecer un néctar de durazno (*Prunus persica* L.) variedad Blanquillo. *Rev. Soc. Quím.*, 73(4), 235-248.