

Reciclaje de conchas de la industria mitilicultora:  
Implicancias en la tasa de disolución de las conchas y la  
mitigación de la acidificación costera

Habilitación profesional para optar al título de  
**Ingeniero Ambiental**

**Tomás Antonio Benavente Rivas**

Profesor guía:  
Cristian Antonio Vargas Gálvez

Concepción, Chile.

2024



**“RECICLAJE DE CONCHAS DE LA INDUSTRIA MITILÍCOLA: IMPLICANCIAS EN LA TASA DE DISOLUCIÓN DE LAS CONCHAS Y LA MITIGACIÓN DE LA ACIDIFICACIÓN COSTERA”**

**Profesor Guía: Dr. Cristian Vargas Gálvez**

**Profesor Comisión: Dr. Antonio Cuevas Landaeta**

**Profesor Comisión: Dr. Francisco de la Barrera Melgarejo**

**CONCEPTO: APROBADO CON DISTINCIÓN MÁXIMA**

Conceptos que se indica en el Título

- ✓ Aprobado por Unanimidad : (En Escala de 4,0 a 4,9)
- ✓ Aprobado con Distinción (En Escala de 5,0 a 5,6)
- ✓ Aprobado con Distinción Máxima ( En Escala de 5,7 a 7,0)

**Concepción, 23 agosto 2024**

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, agradezco a mi madre María Paz Rivas Asenjo, mi padre Juan Antonio Benavente Courbis y mis hermanas, Jesu, Vale y Trini, por ser mi principal red de apoyo, el amor que me han entregado y los valores que me han inculcado. A mis abuelos Marta Asenjo y Luis Rivas, y a mis abuelos Gladys Courbis y Hernán Benavente. Por haberme entregado hermosas familias bajo su crianza y valores.

Agradezco a la familia Ibáñez-Pinilla por cuidarme, quererme y hacerme formar parte de sus hermosas familias como un hijo más, en especial tía Andrea y tío Oscar. A mis grandes amigos Oscar y Rodrigo por haber forjado una linda y honorable amistad de pequeños, una de las cosas que más agradecido estaré de por vida, los admiro y quiero mucho.

Agradezco a la familia Matamala-Candia por cuidarme, quererme y hacerme formar parte de su hermosa familia como un hijo más, a mi gran amigo Carlos siempre te agradeceré la excelente persona que eres, lo mucho que me ayudaste como amigo y compañero para llegar hasta aquí, y por supuesto que por haberme introducido a la linda familia que me acogió, quiso y cuidó desde el primer momento.

Agradezco a la familia Almendra por cuidarme, quererme y hacerme formar parte de su hermosa familia como un hijo más. Estaré eternamente agradecido por el acogimiento, amor y cariño que me han entregado, en especial a la tía Pame, que se transformó en una persona muy importante para mí, tanto por ser la madre de mi queridísima Javiera como por acoger a mi querida gatita Humita en su hogar. Agradezco a Mami Eugenia y Don Manuel, por haberme permitido hacer de su hogar y familia, un hogar y familia para mí. A mi gran amiga Javiera te agradezco la paciencia, el cuidado y la contención en nuestra linda amistad y pareja que hemos forjado.

Agradezco a mi queridísima Facultad de Ciencias Ambientales, profesores, compañeros, secretarias, personal de mantención y aseo, por formar y ser una parte importantísima en mi formación como profesional y persona.

Agradezco, además, el trabajo, apoyo y orientación a todo el equipo del Laboratorio de Ecosistemas costeros y cambio ambiental global, en especial a Toño, Lore y Tamara por el tiempo dedicado a la logística y operación de este estudio. Al profesor Cristián por sus enseñanzas, motivación y guiado durante mi formación y esta investigación.

También, el financiamiento del Proyecto Fondecyt N°1210171 “Role of temporal scales of oceanographic variability in shaping the response of marine organisms upon changing ph and oxygen fluctuations in the coastal zone (TERMO<sup>2</sup> Project)” que permitió realizar las actividades experimentales y de terreno de esta investigación.

# Índice

<b>1</b>	<b>RESUMEN.....</b>	<b>7</b>
<b>2</b>	<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>8</b>
<b>3</b>	<b>ANTECEDENTES .....</b>	<b>10</b>
3.1	ACTIVIDAD DE LA MITILICULTURA EN CHILE .....	10
3.2	INDUSTRIA MITILICULTORA NACIONAL .....	11
3.3	PRODUCCIÓN DE ALIMENTOS Y RESIDUOS ASOCIADOS .....	12
3.4	MANEJO DE RESIDUOS EN CHILE Y DESAFÍOS AMBIENTALES .....	13
3.5	CONCHAS DE <i>MYTILUS CHILENSIS</i> Y SU POTENCIAL VALORIZACIÓN.....	15
3.6	POTENCIALES BENEFICIOS ADICIONALES DE LA VALORIZACIÓN DE CONCHAS.....	17
3.7	ACIDIFICACIÓN OCEÁNICA, QUÍMICA DEL SISTEMA DE CARBONATO Y DISOLUCIÓN DEL CARBONATO DE CALCIO. ....	17
3.8	EQUILIBRIO ECOSISTÉMICO Y LA IMPORTANCIA DE LA ALCALINIDAD TOTAL .....	19
3.9	EXPERIENCIAS EN LA UTILIZACIÓN DE CONCHAS RESIDUALES .....	20
<b>4</b>	<b>PREGUNTA Y OBJETIVOS DE INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>22</b>
4.1	FORMULACIÓN DEL PROYECTO Y PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN .....	22
4.2	OBJETIVO GENERAL.....	23
4.3	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	23
4.4	HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN .....	24
<b>5</b>	<b>METODOLOGÍA.....</b>	<b>24</b>
5.1	SELECCIÓN Y DISPOSICIÓN DE LA MUESTRA .....	24
5.2	CONDICIONES DEL LABORATORIO Y AJUSTE DE PARÁMETROS.....	25
5.3	DISEÑO EXPERIMENTAL Y TAMAÑO MUESTRAL .....	26
5.4	MEDICIONES .....	27
5.5	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	29
<b>6</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>30</b>
6.1	TASA DE DISOLUCIÓN EN CONCHAS DE DIFERENTE FORMATO EN AGUA DE BAJA Y ALTA SALINIDAD.....	30
6.2	DINÁMICA DEL SISTEMA DE CARBONATO EN EXPERIMENTOS CON CONCHAS EN DIFERENTES FORMATOS EN AGUAS TIPO ESTUARINAS.....	32
6.3	DINÁMICA DEL SISTEMA DE CARBONATO EN EXPERIMENTOS CON CONCHAS EN DIFERENTES FORMATOS PARA AGUAS TIPO OCEÁNICAS. ....	36
6.4	DINÁMICA DE OTROS PARÁMETROS AMBIENTALES EN EXPERIMENTOS CON CONCHAS EN DIFERENTES FORMATOS Y PARA AGUAS TIPO ESTUARINAS Y OCEÁNICAS.....	40
6.5	CORRELACIONES ENTRE LA TASA DE DISOLUCIÓN Y PARÁMETROS AMBIENTALES. ....	43
<b>7</b>	<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>45</b>
<b>8</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>49</b>
<b>9</b>	<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>51</b>

## Índice de figuras

Figura 1: Registro temporal de tasas de disolución en conchas de <i>M. chilensis</i> con y sin material orgánico en agua estuarina y oceánica .....	31
Figura 2: Registro temporal de tasas de disolución en conchas de <i>M. chilensis</i> y parámetros químicos en el agua estuarina .....	34
Figura 3: Registro temporal de tasas de disolución en conchas de <i>M. chilensis</i> y parámetros químicos en el agua oceánica .....	38
Figura 4: Registro temporal de tasas de disolución y parámetros ambientales en agua tipo estuarina, sometida a conchas con y sin material orgánico .....	41
Figura 5: Registro temporal de tasas de disolución y parámetros ambientales en agua tipo oceánica, sometida a conchas con y sin material orgánico .....	42

## Índice de tablas

Tabla 1: Resultados resumidos (ANOVA de 1 y 2 vías) para tasa de disolución en agua oceánica y estuarina, utilizando factores de materia orgánica, filtración y la interacción entre ambos .....	31
Tabla 2: Resultados resumidos (ANOVA de 1 y 2 vías) para tasa de disolución, pHT, At, CO <sub>2</sub> , CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , DIC y Ω <sub>aragonita</sub> en agua estuarina, utilizando factores de materia orgánica, filtración y la interacción entre ambos .....	35
Tabla 3: Resultados resumidos (ANOVA de 1 y 2 vías) para tasa de disolución, pHT, At, CO <sub>2</sub> , CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , DIC y Ω <sub>aragonita</sub> en agua oceánica, utilizando factores de materia orgánica, filtración y la interacción entre ambos .....	39
Tabla 4: Resultados resumidos (ANOVA de 1 y 2 vías) para tasa de disolución, O <sub>2</sub> disuelto y bacterioplancton en agua estuarina, utilizando factores de materia orgánica, filtración y la interacción entre ambos .....	41
Tabla 5: Resultados resumidos (ANOVA de 1 y 2 vías) para tasa de disolución, O <sub>2</sub> disuelto y bacterioplancton en agua oceánica, utilizando factores de materia orgánica, filtración y la interacción entre ambos .....	43
Tabla 6: Matriz resumen de valores de correlación (Spearman Rank) entre la tasa de disolución en ambiente oceánico o estuarino y agua filtrada o sin filtrar con parámetros químicos (pHT, At, CO <sub>2</sub> , CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , DIC y Ω <sub>ara</sub> , O <sub>2</sub> y bacterioplancton .....	44

## RESUMEN

El estudio aborda el reciclaje de conchas de mejillón (*Mytilus chilensis*) generadas por la industria mitilicultora en Chile, en el contexto de la acidificación costera, un fenómeno ambiental emergente causado por el aumento de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) en la atmósfera, en combinación con procesos costeros, como el ingreso de materia orgánica, y/o eutroficación, todos los cuales generan una disminución del pH del agua de mar y altera la química del sistema de carbonato. Esta acidificación afecta especialmente a los organismos calcificadores, como los moluscos, que dependen del carbonato de calcio para formar sus conchas. Además, la investigación se enfoca en resolver desafíos asociados a la gestión de residuos industriales, específicamente la gran cantidad de conchas que se generan como desecho en la industria mitilicultora. Actualmente, estas conchas son transportadas a rellenos sanitarios, lo que genera altos costos económicos y una significativa huella de carbono, debido al traslado de grandes volúmenes de residuos a largas distancias. El estudio propone una alternativa sostenible al reciclar estas conchas, no solo para reducir el volumen de residuos, sino también para mitigar la acidificación costera mediante su disposición en cuerpos de agua. La investigación se centra en la tasa de disolución de las conchas y su impacto en la química del agua de mar, considerando diferentes condiciones de salinidad y la presencia o ausencia de materia orgánica en las conchas. El experimento se realizó en condiciones controladas de laboratorio, donde se simuló la disposición de conchas en agua de mar con variaciones en salinidad y filtración. Los resultados mostraron que la tasa de disolución no varió significativamente entre condiciones de alta y baja salinidad, y que la presencia de materia orgánica no afectó de manera importante la disolución. Sin embargo, se observó que la materia orgánica generó efectos secundarios, como mal olor y aumento de la turbidez, lo que sugiere la necesidad de tratamientos previos para su eliminación. La disolución de las conchas incrementó la alcalinidad total, y el pH, lo que confirma su potencial para contrarrestar la acidificación costera. En conclusión, el estudio sugiere que el reciclaje de conchas de mejillón podría ser una estrategia viable para mitigar la

acidificación costera y reducir el volumen de residuos, siempre que se implementen medidas para eliminar la materia orgánica antes de su disposición en cuerpos de agua. Sin embargo, se necesitarán estudios adicionales en mayores volúmenes y por períodos de tiempo más largo, así como estudios de campo para poder finalmente considerar esta alternativa como una estrategia para el reciclaje de conchas y mitigación de la acidificación costera.

## **1 INTRODUCCIÓN**

La industria mitilicultora en Chile, que es una de las más importantes a nivel mundial, genera un volumen significativo de residuos de conchas de mejillón (*Mytilus chilensis*), especialmente en la producción de productos congelados. Según el Anuario Estadístico de Pesca y Acuicultura (2023), el 98% de la materia prima utilizada en la industria se destina a la línea de elaboración de productos congelados, lo que genera aproximadamente 106.223 toneladas de conchas residuales anuales. Estas conchas, compuestas principalmente por carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ), representan un desafío ambiental debido a su actual disposición en rellenos sanitarios, lo que genera altos costos económicos y una huella de carbono considerable por el transporte de grandes volúmenes de residuos a largas distancias (BCN, 2022; Min. de Medioambiente de Chile, 2023). Además, la acidificación costera, un fenómeno ambiental emergente causado por el aumento de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) en la atmósfera, ha afectado la química del agua de mar, disminuyendo el pH y alterando el equilibrio del sistema de carbonato, lo que impacta negativamente a los organismos calcificadores, como los moluscos (Feely et al., 2004; Salisbury et al., 2008). En este contexto, el reciclaje de conchas de mejillón surge como una alternativa sostenible para abordar tanto la gestión de residuos industriales como la mitigación de la acidificación costera. Actualmente existen gestiones que ya realizan disposición de conchas en cuerpos de agua, sin embargo estas prácticas carecen de un respaldo científico claro sobre cómo afectan la química del agua y al ecosistema marino. Estudios previos han demostrado que las conchas de moluscos pueden ser utilizadas para aumentar la alcalinidad total y el pH del agua de mar, contribuyendo a contrarrestar la acidificación (Green et al.,

2009; Waldbusser et al., 2011). No obstante, la presencia de materia orgánica en las conchas puede generar efectos secundarios, como la liberación de nutrientes, el aumento de la turbidez y la proliferación de bacterias, lo que podría comprometer el potencial alcalinizante descrito en diferentes estudios (Eziefula et al., 2018; Middelburg, 2009). Por lo tanto, este estudio surge de la necesidad de contar con bases científicas sólidas que permitan entender qué le sucede a la química del agua al verter conchas al océano, considerando diferentes condiciones de salinidad y la presencia o ausencia de materia orgánica. Los resultados de esta investigación no solo buscan reducir el volumen de desechos industriales, sino también disminuir los costos económicos y la huella de carbono asociados al transporte de residuos hacia rellenos sanitarios, ofreciendo una solución basada en la naturaleza para mitigar los impactos ambientales de la acidificación costera, respaldada por evidencia científica.

### **1.1 HIPÓTESIS**

H<sub>1</sub>: La salinidad del agua de mar afecta la tasa de disolución en conchas de mitílidos y, por lo tanto, su influencia en el pH y la alcalinidad del agua de mar, condicionando su potencial para mitigar la acidificación local.

H<sub>2</sub>: La presencia de materia orgánica en las conchas a reciclar afecta la calidad del agua a través de la liberación de nutrientes, favoreciendo el crecimiento bacteriano y la reducción del oxígeno disuelto, lo que podría comprometer su potencial alcalinizante en el agua de mar.

H<sub>3</sub>: La disolución del carbonato de calcio en las conchas de mitílidos genera un incremento en la alcalinidad total y, a su vez, un aumento en el pH del agua de mar. ('mitigación acidificación local').

### **1.2 OBJETIVO GENERAL**

El objetivo principal de esta investigación es evaluar, en condiciones de laboratorio, los efectos de la disposición de conchas de mitílidos en agua de mar, sobre la tasa

de disolución del carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ), la química del sistema de carbonato del agua de mar y su potencial para mitigar la acidificación costera.

### **1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Los objetivos específicos son:

1. Evaluar cómo la salinidad del agua de mar (alta/baja) afecta la tasa de disolución de las conchas y su influencia sobre la química del sistema de carbonato.
2. Determinar el impacto de la disolución de conchas con y sin materia orgánica sobre el pH, la alcalinidad total, la concentración de oxígeno disuelto y la abundancia bacteriana en el agua de mar.
3. Evaluar la relación entre la tasa de disolución de las conchas y la variación en pH y alcalinidad total bajo distintas condiciones de salinidad y filtración del agua de mar.

## **2 ANTECEDENTES**

### **2.1 Actividad de la mitilicultura en Chile**

La acuicultura es una actividad acuícola que consiste en la cría, cultivo y cosecha de organismos hidrobiológicos (peces, moluscos, algas, etc.), y tiene como objetivo producir la mayor cantidad de cosecha en el menor espacio y tiempo posible. En Chile, durante el año 2023, el 73% de las cosechas acuícolas totales provino de la acuicultura de salmónidos, mientras que el 26% correspondió a la acuicultura de moluscos. De este último porcentaje, el 98% (390.973 toneladas) de la cosecha corresponde a mitílidos, principalmente la especie *Mytilus chilensis* (chorito o mejillón). Esta especie contribuye con el mayor volumen de toneladas desembarcadas (390.505 toneladas) en comparación con otros moluscos, según el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (SERNAPESCA). La mayor parte de la producción nacional de este recurso (99.98%) se concentra en la Décima Región de Los Lagos, ubicada al sur de Chile, lo que se explica por las características geográficas del territorio, que incluye un sistema de bahías, fiordos, estuarios y canales patagónicos, los cuales se extienden desde el Seno de Reloncaví hasta

Magallanes (González et al. 2018). En consecuencia, estas áreas presentan características físicas y químicas que permiten la realización de la mitilicultura mediante la instalación de plataformas con sistemas de palangre, lo cuales que contienen redes, boyas o mallas que actúan como superficies sólidas flotantes, ubicadas entre seis y ocho metros de profundidad en la columna de agua superficial (Jahnsen et al., 2021b). En estos sistemas, se adhieren o reclutan las larvas de *Mytilus chilensis*, las cuales desarrollan su crecimiento hasta alcanzar un estado de maduración adulta, para luego ser cosechadas y utilizadas como materia prima en distintas líneas de elaboración de productos.

## **2.2 Industria mitilicultora nacional**

La industria nacional del mejillón según el Anuario Estadístico de Pesca y Acuicultura 2023 del SERNAPESCA, desarrolla tres líneas de elaboración con este recurso: enfriado-refrigerado, congelado y en conserva, las cuales difieren entre sí por el formato en que se comercializan. La línea “enfriado-refrigerado” obtiene un producto neto que contiene la carne y la concha del molusco (valva), a diferencia de las líneas “congelado” y “en conserva”, que obtienen solo la carne del molusco sin la concha. En ese sentido, es relevante dimensionar el volumen de residuos que puede generar esta actividad en las distintas líneas de elaboración. Por ejemplo, si se considera la materia prima entrante en cada línea de elaboración, en contraste con los volúmenes de producción neta obtenida, se puede estimar de manera preliminar un volumen de residuos, sin caracterizar la composición de estos. Según el reporte anual del total de materia prima utilizada en la industria mitilicultora, un 98.49% se destinó a la elaboración de “congelado”, que, con 354.075 toneladas de materia prima, obtuvo 100.248 toneladas de producción neta; es decir, se utilizó solo un 28.31% del volumen de materia prima en el producto final. En cambio, la línea de elaboración de “enfriado refrigerado”, con 5.375 toneladas entrantes, obtuvo 5.129 toneladas de producción neta, utilizando un 95.42% de la materia prima en el producto final. Si bien la eficiencia de esta línea de elaboración es alta, representa el menor uso de materia prima (<1.49%), y la mayor densidad se concentra en la elaboración de “congelado”, que, al no utilizar la concha en su

comercialización, genera un gran volumen anual de residuos industriales que deben ser gestionados. En concreto, las valvas de mejillones (conchas) representan cerca del 30-33% del peso del organismo (Paz et al., 2012). En consecuencia, el volumen de residuos generados solo por la elaboración de productos “congelado” podría alcanzar un valor cercano a las 106.223 toneladas de conchas anuales, asumiendo que las conchas representan solo un 30% del peso de materia prima destinada a “congelado” y sin considerar las conchas de las demás líneas productivas.

### **2.3 Producción de alimentos y residuos asociados**

Actualmente, la industria mundial de mejillones ha experimentado un incremento en sus niveles de producción y, en consecuencia, una mayor generación de residuos de conchas en comparación con otros moluscos (Vélez et al., 2021). De hecho, anualmente se generan más de diez millones de toneladas de conchas como desecho de esta actividad a nivel mundial (Zhan et al., 2021). Esta situación se debe a la presión existente a nivel global por producir alimento a gran escala que permita abastecer a la sobrepoblación mundial y disminuir las brechas alimentarias, como el objetivo hambre cero, incorporado dentro de los Objetivos de Desarrollo Sustentable (ODS) (ONU, 2024). Como resultado de esta situación, se hace necesario buscar alternativas para gestionar de mejor manera las conchas residuales, valorizar este elemento natural y evitar que su disposición final ocurra en el mar sin tratamiento y control, o que sean enviadas a rellenos sanitarios o vertederos, muchas veces distantes del punto de origen del residuo (e.g. Ancud, 2023). En estos últimos, la descomposición de materia orgánica y sales de la concha desencadena fuertes olores por la presencia de gases tóxicos, como el amoníaco, ácido sulfhídrico y compuestos orgánicos como las aminas (Eziefula et al., 2018). Estos compuestos pueden incluso atraer vectores biológicos, como ratones, aves y mosquitos, además de producir la infiltración de lixiviados al suelo y acuíferos, lo que empeora la calidad del agua y del suelo, exponiendo tanto la salud humana como el medio ambiente.

Ahora bien, según el Reglamento N°1069/2009 de la Unión Europea, las conchas con tejidos blandos y carne extraída son consideradas subproductos de origen animal de categoría 3, y se prohíbe su utilización como alimento o abono de terrenos si las conchas presentan materia orgánica. Por lo tanto, en caso de ser utilizadas para otros usos, deben ser tratadas previamente. Además, según el D.S N°64 del Min. de Economía, Fomento y Turismo (2020), que establece el Reglamento de condiciones sobre tratamiento y disposición final de desechos provenientes de actividades de acuicultura, en el artículo 3° se indica: *“Se considerarán residuos no peligrosos orgánicos, entre otros, las mortalidades, fouling, ejemplares descartados por selección, alimento no consumido, heces, residuos domiciliarios, residuos líquidos y lodos. La disposición final de todo tipo de residuos deberá realizarse en un lugar autorizado para ello”*.

#### **2.4 Manejo de residuos en Chile y desafíos ambientales**

En Chile, según el Octavo Reporte del Estado del Medio Ambiente 2023 (REMA), a cargo del Ministerio de Medio Ambiente (MMA), durante el año 2021 los residuos industriales no peligrosos ascendieron a 9,6 millones de toneladas, representando alrededor del 50% de los residuos generados en el país, de los cuales la acuicultura marina generó 336.654 toneladas. El manejo de residuos sólidos generados se realiza mediante acopio, recolección y transporte hacia el destino de disposición final autorizado. En este caso en particular, los lugares autorizados para disponer residuos industriales no peligrosos son vertederos y rellenos sanitarios. Si bien la localización de estos vertederos es planificada territorialmente para poder disponer este tipo de residuos, no está exenta de generar problemas sanitarios y ambientales, como vectores biológicos, olores, suelo permeable, entre otros (BCN, 2022). Los rellenos sanitarios están diseñados, construidos y operados para reducir riesgos sanitarios y ambientales, cumpliendo las disposiciones del D.S. N°189 del Ministerio de Salud, que establece el Reglamento de condiciones de salud y seguridad básicas para rellenos sanitarios. Según la Biblioteca del Congreso Nacional (BCN), al año 2021, la Décima Región de Los Lagos contaba con dos rellenos sanitarios, ocho vertederos y ocho basurales activos, siendo la segunda

región del país con más basurales y vertederos. Es importante considerar que estos dos tipos de lugares no cuentan con las disposiciones del D.S. N°189, y los basurales se crean muchas veces de forma espontánea o programada, pero sin control sanitario y ambiental, lo que genera una fuerte presión local sobre el manejo de residuos. Además, actualmente la región de Los Lagos enfrenta problemas asociados a la capacidad de recepción de residuos industriales en lugares autorizados, tanto por el gran volumen de residuos domiciliarios que reciben como por la programación ya sobrecargada en la vida útil de estos lugares (BCN, 2022). Por consiguiente, parte de los desechos domiciliarios y las toneladas de conchas residuales se trasladan en camiones hacia rellenos sanitarios y/o vertederos de otras regiones no cercanas (>500 km) para suplir la demanda que atraviesan los receptores de residuos en las regiones de Los Lagos y Los Ríos, sobre todo por el incremento de basura que enfrenta la actividad industrial en el país (Min. de Medio Ambiente de Chile, 2023). Un ejemplo de esta crisis es la comuna de Ancud, que hoy envía sus desechos domiciliarios a la comuna de Los Ángeles, en la región del Biobío, a más de 600 kilómetros del sitio de origen de estos residuos (Cabrera, M., radio Biobío, 2023). En ese sentido, la huella de carbono residual del simple hecho de trasladar grandes volúmenes de conchas en camiones es considerable, además de los costos económicos que implica para la industria. Por lo tanto, se hace necesario adaptar el manejo de estos residuos, que actualmente son eliminados (desechados), con un enfoque en la reutilización de esta materia prima, para evitar generar conchas de desecho (De Alvarenga et al., 2012). En concreto, se busca la valorización de conchas a través del reciclaje o la reutilización, evitando que su disposición final sea en rellenos sanitarios o vertederos. Sin embargo, esto requiere considerar importantes desafíos para realizarlo a gran escala, ya que, para que la valorización sea eficiente, se requiere proximidad entre la producción de conchas residuales y las plantas de recuperación, uniformidad de los residuos y la eliminación de la materia orgánica de las conchas (Corbau et al., 2023).

## **2.5 Conchas de *Mytilus chilensis* y su potencial valorización**

En cuanto a la valorización de residuos desde fuentes terrestres, está bien establecida por la industria de procesos; en cambio, la valorización de residuos desde fuentes marinas sigue siendo un ámbito en pleno desarrollo. En ese sentido, el uso de conchas residuales para reciclaje se ha estudiado en distintas aplicaciones, principalmente por su alta composición de carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ), que representa más del 95% del peso de la concha del mejillón (De Alvarenga et al., 2012; Martínez-García 2018, Rudovica et al., 2021). Otros elementos menores en estas conchas son trazas de carbonato de magnesio, óxido de sílice, hierro y potasio (Mo, 2018). Además, hay que considerar la materia orgánica asociada o remanente que queda en estas conchas, dado que es común que se adhieran algas y organismos vivos. Actualmente, existen cadenas suficientemente desarrolladas que utilizan residuos de cáscaras calcáreas, transformándolas en materia prima para encalar suelos acidificados en la agricultura (Morris et al., 2019), lo que permite eliminar ciertos metales pesados, reducir la contaminación y aumentar el pH del suelo (Osorio-López et al., 2014; Paz-Ferreiro et al., 2012). También se utilizan como aditivo para la preparación de cementos y concretos, los cuales han mostrado un mejor rendimiento en índices de restauración de arrecifes (alcalinidad, fuerza de compresión, resistencia a ataques de sulfatos, etc.) (Kong, 2022). Además, existen revisiones extensas sobre la utilización de conchas residuales en distintas aplicaciones medioambientales, constructivas, alimenticias o biomateriales (Popović et al., 2023), aunque requieren distintos sistemas de tratamiento en función del producto que se desea obtener.

Generalmente, las conchas se lavan con agua para eliminar la suciedad y la sal, etapa que requiere grandes cantidades de agua, que varían entre 0.2 a 0.8 litros/kg de concha (Barros et al., 2009). Luego, se someten a procesos de descomposición de materia orgánica mediante procesos térmicos, reacciones oxidativas o enzimáticas. La eliminación de materia orgánica mediante reacciones tiene la ventaja de que puede ocurrir a temperatura ambiente y no requiere un alto gasto energético, a diferencia de los procesos térmicos. Además, los procesos térmicos

habitualmente son necesarios para producir óxido de calcio (CaO), obtenido al calcinar el carbonato de calcio (CaCO<sub>3</sub>) a más de 650°C (Li et al. 2015; Felipe-Sesé, et al., 2011). En cambio, para la obtención de fuentes de carbonato de calcio limpias, la temperatura a la cual se sometan las conchas no debe exceder los 600°C, y el tiempo de tratamiento varía entre 15 min (Barros et al., 2009) y 3 días (Olivia, et al., 2015; 2017). Por lo tanto, una gran diferencia entre destinar las conchas residuales a CaCO<sub>3</sub> y CaO es el impacto ambiental que genera en relación con las emisiones y gasto energético necesario para obtener CaO. Incluso, obtener el CaO de otras fuentes representa un mejor escenario ambiental que calcinar conchas de molusco (Lee et al 2020).

Ahora bien, la producción de CaCO<sub>3</sub> utilizando conchas residuales ha sido estudiada para proponer metodologías efectivamente limpias de producción a gran escala, como la de Jinshan Lu et al., (2015), que desarrolló un método mecanoquímico utilizando una solución acuosa de hidróxido de sodio y de hipoclorito de sodio (componente principal del desinfectante ordinario) como solución de molienda. Al ser un oxidante alcalino, el hipoclorito de sodio puede desempeñar un doble rol en la preparación: catalizador hidrolítico y oxidante fuerte de materia orgánica. Mediante este proceso, se puede producir industrialmente carbonato de calcio limpio en partículas de polvo nanométrico a partir de desechos de conchas.

En definitiva, valorizar residuos como fuentes de materia prima para distintos objetivos permite disminuir el volumen de desechos generados y suministrar recursos disponibles, evitando la extracción de otras fuentes. Sin embargo, no es prudente asumir que sólo por reciclar o valorizar un residuo se está utilizando una alternativa conveniente y eficaz. Más bien, el objetivo de la valorización debe ser solucionar problemas de la disposición actual o tradicional, sin añadir problemáticas ambientales, sociales y económicas adicionales.

## **2.6 Potenciales beneficios adicionales de la valorización de conchas**

Por lo pronto, el reciclaje de conchas residuales de mejillones disminuiría la huella de carbono generada por el traslado interregional en camiones. Además, permitiría la optimización de un gran volumen de material descartado por la industria, el  $\text{CaCO}_3$  o cal, que por sus propiedades es utilizado en distintas aplicaciones que hoy requieren la extracción de fuentes naturales de caliza. Así, es necesaria la investigación y creación de circularidad en los elementos que componen la industria, gestionando de mejor manera los residuos y priorizando mejorar el rendimiento y el desempeño ambiental del modelo productivo en relación con el entorno en el que se desarrolla. Más aún, se buscan beneficios adicionales, como la mitigación de fenómenos medioambientales a través de soluciones basadas en la naturaleza.

Si bien el cultivo de mariscos es una forma de acuicultura sostenible y se ha desarrollado rápidamente en el mundo, especialmente en las últimas décadas, la contaminación biológica y química del océano tiene múltiples impactos negativos en los ecosistemas marinos, los cuales se ven exacerbados por el cambio climático global antropogénico (Corbau, et al., 2023). Además, estos impactos en la mitilicultura son significativos, ya que inducen pérdidas socioeconómicas debido a la dependencia de esta actividad del medio marino.

## **2.7 Acidificación oceánica, química del sistema de carbonato y disolución del carbonato de calcio.**

Las emisiones de dióxido de carbono antropogénico ( $\text{CO}_2$ ) no sólo ha ocasionado que nuestro clima sea más cálido, sino que también han causado que nuestros océanos sean más ácidos, fenómeno medioambiental emergente conocido como acidificación del océano (AO) (Feely, 2004). La AO consiste en el cambio en la composición química del agua de mar producto del ingreso excesivo de  $\text{CO}_2$  al océano, lo que disminuye de forma persistente el pH y alterando el balance en la química del sistema del carbonato marino. Primariamente, este fenómeno se debe a la absorción de  $\text{CO}_2$  antropogénico desde la atmósfera hacia las aguas superficiales del océano (Feely et al., 2004; Orr et al., 2005; Zeebe, 2001).

Secundariamente, está asociado a procesos acidificantes en la zona costera o litoral, acentuados por aportes terrestres (Duarte, C., et al 2013), provenientes del sistema fluvial que contiene el caudal como, sedimentos, escorrentía, nutrientes, riles, agua de regadío y el comportamiento de los sedimentos, un fenómeno conocido como “acidificación costera” (Salisbury, J., et al 2008). Además, las zonas litorales tienden a tener un mayor aumento de nutrientes y consumo de oxígeno, originados por la degradación de la materia orgánica, lo que genera en algunos lugares zonas de hipoxia (Melzner, J. P., et al 2013; Wallace, R. B., et al 2014).

Este fenómeno, tanto global como local, se rige por los principios de disolución de gases en agua, procesos de equilibrio ácido-base y la solubilidad del  $\text{CO}_2$  en aguas naturales. En primer lugar, en el agua natural, el  $\text{CO}_2$  se encuentra mayoritariamente rodeado de moléculas de agua, y la parte disuelta reacciona para formar ácido carbónico ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ). Una vez formado, el ácido se disocia parcialmente en bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) y protones ( $\text{H}^+$ ) debido a su baja constante de disociación. La absorción del  $\text{CO}_2$  es una reacción en equilibrio químico (Principio de Le Chatelier), es decir, a mayor concentración de reactivos ( $\text{CO}_2$  gaseoso), mayor generación de productos ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ). Además, la solubilidad del  $\text{CO}_2$  en el agua aumenta a medida que disminuye la temperatura, por ende en latitudes frías la absorción de  $\text{CO}_2$  es mayor que en los trópicos (Takahashi, 2009).

Por otro lado, las aguas contienen carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) por el lavado de roca caliza, suelos o sedimentos. Estos  $\text{CO}_3^{2-}$  hidrolizan parcialmente al agua, formando hidroxilos ( $\text{OH}^-$ ) y bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ), lo que aumenta de forma natural el pH y actúa como una base moderadamente fuerte. Ahora bien, aunque el carbonato es un amortiguador natural para el agua de mar, la disminución de su disponibilidad en el mar es considerable (Zeebe 2001), lo que reduce la capacidad amortiguadora conocida como alcalinidad.

La interacción entre estas cuatro formas inorgánicas del carbono (dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ), bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) y ácido carbónico ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ )), constituye la química del sistema de carbonato. Sus parámetros medibles son: el pH, que representa la concentración de  $[\text{H}^+]$  libres; el carbono inorgánico disuelto

(CID), que es la suma de la concentración de  $[\text{CO}_2] + [\text{CO}_3^{2-}] + [\text{HCO}_3^-]$  y  $[\text{H}_2\text{CO}_3]$ ; la presión parcial de  $\text{CO}_2$  ( $p\text{CO}_2$ ); y la alcalinidad total ( $A_T$ ), que corresponde a la suma de la concentración de iones carbonatados y no carbonatados. Estos cuatro parámetros se pueden determinar analíticamente (Wolf-Gladrow, 2007), y conociendo dos de ellos, ya se puede calcular la química del carbonato en una muestra de agua de mar (Pierrot, 2006).

## **2.8 Equilibrio ecosistémico y la importancia de la alcalinidad total**

Con referencia a la alcalinidad total, esta se define como la relación entre la concentración de protones ( $\text{H}^+$ ) libres y las especies que puedan captar estos protones (Dickson, 2007). Básicamente, es la capacidad del agua de mar para resistir (amortiguar) cambios repentinos de pH, neutralizando estos con bases presentes en la columna de agua (Dickson, 1981). La disolución del  $\text{CaCO}_3$  en agua de mar libera  $\text{Ca}^{+2}$  y  $\text{CO}_3^{2-}$ , y ambos pueden reaccionar con los  $\text{H}^+$  presentes en el agua, proporcionando alcalinidad y actuando como un buffer para ácidos débiles, como el ácido carbónico, amortiguando así la acidificación (Waldbusser et al., 2011). Considerando la alteración del balance de conchas a través de la mitilicultura, el reciclaje de conchas en un estuario puede tener implicaciones geoquímicas y biológicas importantes. Incluso, las áreas con fuerte cosecha de moluscos pueden necesitar adiciones de conchas (Brumbaugh y Coen, 2009; Waldbusser et al., 2011). Por ejemplo, los arrecifes de ostras necesitan un equilibrio entre el asentamiento, el crecimiento y la mortalidad de las ostras para mantenerse (Waldbusser et al., 2011). Cuando la cantidad de conchas disminuye, existe una retroalimentación negativa, donde las poblaciones de organismos calcificadores utilizan la escasa disponibilidad de  $\text{CO}_3^{2-}$  para formar sus estructuras de  $\text{CaCO}_3$ , y cualquier formación de concha por parte de moluscos vivos contribuye a una disminución de la alcalinidad y aumenta las concentraciones de  $\text{H}^+$ , desplazando el equilibrio hacia niveles más altos de  $\text{H}_2\text{CO}_3$  y un pH más bajo (Zeebe, 2001; Waldbusser et al., 2013).

Las larvas de ostras tienen menores tasas de supervivencia en ambientes de baja alcalinidad y alta acidez (Barros et al., 2013; Barton et al., 2012), y de hecho, las poblaciones tienden a disminuir en las zonas donde no hay un ciclo de sustitución de  $\text{CaCO}_3$  por mortalidad de moluscos o por adición de conchas. Se ha sugerido que una ostra puede secuestrar 8,36 gramos de carbono cada 2 años (Hickey, 2008). Sin embargo, la formación de  $\text{CaCO}_3$  por sí sola no es suficiente para frenar las crecientes cantidades de  $\text{CO}_2$  absorbido por el océano, provenientes de la combustión de combustibles fósiles. Es decir, la tasa de acidificación actual supera la capacidad propia del océano para amortiguar el pH oceánico y mantener un flujo retroalimentativo de carbonato (Andersson et al., 2003).

Al extraer intensivamente fuentes de carbonato desde las aguas marinas, como se hace al criar, cultivar y cosechar mejillones sin retornar las conchas a la columna de agua, se reduce la disponibilidad de carbonatos y la capacidad alcalina para amortiguar cambios de pH. Por lo tanto, como posible solución basada en la naturaleza, la utilización de conchas residuales y su disolución en el mar podría aportar alcalinidad al agua de mar, surgiendo como una buena alternativa de gestión.

## **2.9 Experiencias en la utilización de conchas residuales**

Existen algunas experiencias previas para la reutilización de conchas de moluscos provenientes de actividades acuícolas. Por ejemplo, se han utilizado conchas residuales como sustrato para la restauración de arrecifes de ostras (Brumbaugh, 2009), ya que una de las cualidades clave en la salud y crecimiento de los arrecifes de ostras es que la mortalidad de las ostras fallecidas se añade a la reserva de conchas del arrecife, contribuyendo así a la disolución de conchas (Mann & Powell, 2007; Southworth, 2010). También, Green (2009) utilizó conchas trituradas de *Mercenaria mercenaria* en una marisma antes de sembrar la misma especie, y la adición de concha triturada provocó un incremento de 0,25 a 0,53 en el estado de saturación del carbonato de calcio ( $\Omega$ ), casi triplicando el número de almejas vivas en dos semanas, lo que sugirió que el asentamiento de las larvas de almejas respondía en gran medida al aumento de la saturación del  $\text{CaCO}_3$ . En 2013, Green

repitió su experimento y descubrió que el estado de saturación del aragonito aumentó de  $\Omega = 0,68$  a  $1,30$  en sedimentos amortiguados con conchas residuales, mejorando la cantidad de organismos juveniles sembrados que podrían ser cosechados. Lo anterior, sugiere que el reciclaje de conchas puede proporcionar capacidad alcalinizante a los sedimentos e influir positivamente en los moluscos que dependen de altos estados de saturación.

Por otra parte, Waldbusser et al., 2011 estudiaron las tasas de disolución de conchas de la ostra *Crassostrea virginica* y los efectos en los niveles de pH en tres distintos formatos de disposición: conchas frescas; (i) con el tejido extraído 24 horas antes, (ii) conchas desgastadas por la erosión durante dos años fuera del agua, y (iii) conchas dragadas recolectadas en sedimentos del fondo marino. El formato que tuvo mayor tasa de disolución fue el de las conchas frescas, que resultó un poco más rápida que la de las conchas desgastadas. Esto podría explicarse porque las conchas frescas pierden entre un 10-25% de su peso inmediatamente después de su muerte, posiblemente por la remineralización de la materia orgánica realizada por microbios que se encuentren en la superficie de la concha y, en consecuencia, debido a la actividad metabólica de producir  $\text{CO}_2$ .

Además, Nienhuis et al. (2010) probaron los efectos en la deposición y disolución de conchas en el caracol intermareal *Nucella lamellosa*, donde el peso disminuyó linealmente con el aumento de niveles de  $\text{CO}_2$  (pH más bajo) en las conchas vivas, pero fue paralelo a la pérdida de peso en conchas vacías, lo que sugirió que la pérdida de peso de las conchas vivas no se debió a una menor tasa de calcificación, sino a la mayor disolución de la concha ya existente en el caracol. Por lo tanto, concluyeron que la acidificación oceánica puede tener un mayor efecto en la disolución que en la deposición de conchas, al menos para moluscos templados.

Por otro lado, Duarte et al. (2014) mostraron la variación intraespecífica que presenta *Mytilus chilensis* (mejillón) en respuesta a la acidificación, donde ejemplares de una bahía con niveles de pH más ácidos por aportes de agua dulce mostraron una menor susceptibilidad a la calcificación neta en respuesta a la

acidificación, debido a que estaban expuestos a un lugar con altos niveles de CO<sub>2</sub> y bajos niveles de CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>. En otras palabras, los mejillones tuvieron menos dificultad para formar sus conchas (calcificación) a pesar de las condiciones ácidas. Diferentes estudios han sugerido que los taxones asociados a ambientes que naturalmente están expuestos a altos niveles de CO<sub>2</sub> pueden tener adaptaciones fisiológicas y metabólicas que les permiten aclimatarse mejor a la acidificación de los océanos (Cummins et al. 2011; Findlay et al. 2009; Kurihara 2008; Pascal et al. 2010; Widdicombe et al. 2009; Sunday et al. 2011).

El retorno de conchas al mar puede ser una valiosa herramienta de gestión para ciertos objetivos, como la restauración de arrecifes (Kelly et al. 2011), proporcionar capacidad alcalinizante en los sedimentos (Green, 2013) y potenciar efectos mitigadores de poliquetos que influyen en los flujos de solutos en la interfaz sedimento-agua (Bergström et al., 2023). Sin embargo, verter miles de toneladas anuales de conchas residuales al mar, podría desencadenar un conjunto de impactos ambientales no previstos, como la degradación del fondo marino, el aumento de comunidades bacterianas que degradan la materia orgánica y, en consecuencia, el consumo de oxígeno liberando CO<sub>2</sub>, lo que desplazaría los niveles hacia una mayor acidez (Middelburg, 2009). Por ende, es esencial evaluar el formato en el que teóricamente retornarán las conchas residuales al mar, para prevenir y anticipar problemáticas ambientales, además comprobar si efectivamente son útiles para la alcalinización del agua de mar mitigando la acidificación costera.

### **3 Pregunta y objetivos de investigación**

#### **3.1 Formulación del proyecto y pregunta de investigación**

Para Chile, que cuenta con una de las mayores industrias mitilicultoras del mundo, se hace necesario buscar alternativas para mejorar la gestión de los residuos generados, especialmente las toneladas de conchas residuales. La logística actual deja una importante huella de carbono residual y costos económicos elevados. Potencialmente, mediante el retorno de estos recursos al mar, se podría ayudar a mitigar problemas ambientales como la acidificación costera local, basándose en

las tasas de disolución de conchas de moluscos en medios ácidos y el uso de conchas como una potencial medida de mitigación a los procesos de acidificación local. Sin embargo, es crucial evaluar los riesgos asociados que puede implicar el reciclaje de conchas en el mar, desde los formatos en que se dispondrán hasta las consecuencias que tendría en la química del agua, el sistema de carbonatos y otros parámetros de calidad del agua, como el crecimiento bacteriano y la concentración del oxígeno disuelto en el cuerpo de agua receptor.

En base a lo anteriormente planteado, se propone en este estudio la siguiente pregunta de investigación: ¿Qué implicancias medioambientales podrían observarse en caso de considerar el reciclaje de conchas de *Mytilus chilensis* dispuestas en dos formatos diferentes dispuestas en zonas costeras con diferente salinidad/alcalinidad? En este sentido, un primer acercamiento es desarrollar investigación básica en condiciones de laboratorio, previo a escalar una estrategia como ésta a un cuerpo de agua semicerrado, como una bahía o sistema estuarino.

### **3.2 Objetivo general**

El objetivo principal de esta investigación es evaluar, en condiciones de laboratorio, los efectos de la disposición de conchas de mitílidos en agua de mar, sobre la tasa de disolución del carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ), la química del sistema de carbonato del agua de mar y su potencial para mitigar la acidificación costera.

### **3.3 Objetivos específicos**

Los objetivos específicos son:

4. Evaluar cómo la salinidad del agua de mar (alta/baja) afecta la tasa de disolución de las conchas y su influencia sobre la química del sistema de carbonato.
5. Determinar el impacto de la disolución de conchas con y sin materia orgánica sobre el pH, la alcalinidad total, la concentración de oxígeno disuelto y la abundancia bacteriana en el agua de mar.

6. Evaluar la relación entre la tasa de disolución de las conchas y la variación en pH y alcalinidad total bajo distintas condiciones de salinidad y filtración del agua de mar.

### **3.4 Hipótesis de investigación**

H1: La salinidad del agua de mar afecta la tasa de disolución en conchas de mitílidos y, por lo tanto, su influencia en el pH y la alcalinidad del agua de mar, condicionando su potencial para mitigar la acidificación local.

H2: La presencia de materia orgánica en las conchas a reciclar afecta la calidad del agua a través de la liberación de nutrientes, favoreciendo el crecimiento bacteriano y la reducción del oxígeno disuelto, lo que podría comprometer su potencial alcalinizante en el agua de mar.

H3: La disolución del carbonato de calcio en las conchas de mitílidos genera un incremento en la alcalinidad total y, a su vez, un aumento en el pH del agua de mar. ('mitigación acidificación local').

## **4 Metodología**

### **4.1 Selección y disposición de la muestra**

Se recolectaron ejemplares adultos de *Mytilus chilensis* (Hupé, 1854) procedentes del mercado local de la ciudad de Concepción. En una primera etapa, se procedió a desconchar cada una de las muestras biológicas, obteniendo así el par de valvas (conchas) de cada uno de los individuos, que corresponden a la muestra utilizada en este experimento. En una segunda etapa, se prepararon dos formatos de disposición de muestras. En el primer formato, se utilizaron conchas con restos de material orgánico (es decir, fragmentos de carne del molusco en la parte interna, y organismos adheridos a la superficie externa, como algas, bacterias y otros organismos). Estas se enjuagaron con agua destilada y se secaron en horno a 60°C durante 3 horas (Duarte, 2015), para luego dejarlas a temperatura ambiente durante 24 horas. En el segundo formato, se utilizaron conchas sin material orgánico. Para

esto, se realizó un tratamiento de oxidación de materia orgánica, sumergiendo las conchas en peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) al 50% (un agente oxidante fuerte), basado en la metodología de Smith et al., (2016), que permite oxidar la materia orgánica presente sin afectar la mineralogía de la concha. El objetivo de excluir esta materia orgánica es contrastar ambos formatos para determinar si la materia orgánica genera mayores impactos o procesos químicos en el agua de mar. Cabe destacar que la concha contiene una matriz orgánica intra-capa constituida por grupos hidroxilos ( $OH^-$ ), amidas, lípidos y azúcares.

El tratamiento se inicia lavando las conchas con agua destilada y un cepillo. Luego, se sumergieron durante 88 horas en el peróxido de hidrógeno, siendo retiradas y enjuagadas 5 veces consecutivas en agua destilada para desprender y retirar residuos oxidados aún adheridos a la superficie, como parte del periostraco y restos de carne. Finalmente, se secaron en horno a  $60^\circ C$  durante 3 horas (Duarte, 2015) y luego se dejaron a temperatura ambiente durante 24 horas. Ambos formatos, una vez preparados, se enumeraron con marcadores de abeja adheridos con pegamento en base a cianoacrilato (“La Gotita” ®) y posteriormente se pesaron en una balanza analítica marca “Sartorius” modelo “ENTRIS224I – 1S”. De cada formato, se obtuvieron 120 muestras (valvas/conchas).

#### **4.2 Condiciones del laboratorio y ajuste de parámetros**

En cuanto a las condiciones del laboratorio donde se instaló el diseño experimental, se reguló la temperatura del agua en los acuarios, ubicándolos dentro de bateas con agua termorregulada mediante chillers. Estos mantuvieron la temperatura entre  $11,8^\circ C$  y  $12,3^\circ C$ , simulando las temperaturas medias superficiales del mar en la zona costera de la región de Los Lagos, obtenidas por el Servicio Hidrográfico y Oceanográfico de la Armada (SHOA, 2023). Los acuarios utilizados estaban cubiertos con tapas para evitar la evaporación. Además, para prevenir el estancamiento del agua y los procesos que esto pudiera generar, se suministró un flujo permanente de oxígeno mediante difusores ubicados a 10 centímetros de la capa superficial del agua del acuario.

El agua de mar que contenían los acuarios fue extraída desde la Estación de Biología Marina en Dichato de la U. de Concepción, ubicada en Caleta Villarrica, en la bahía de Dichato, región del Biobío, Chile. La extracción se realizó mediante una bomba hidráulica. Primero, se ajustó el filtrado del agua para obtener dos condiciones (filtrada y sin filtrar) y, posteriormente, la salinidad para obtener dos condiciones (alta y baja salinidad).

El filtrado se realizó mediante la utilización de filtros consecutivos durante la extracción: primero se usó uno de más de 300 micrómetros (partículas grandes), luego de 200 micrómetros, después de 20 micrómetros, 5 micrómetros, y finalmente de 1 micrómetro. Esto con el fin de obtener agua de mar sin la presencia de organismos marinos mayores que esta medida, como algas, zooplancton, fitoplancton, copépodos y bacterias. Por otro lado, el agua de mar sin filtrar se extrajo utilizando solo un filtro de más de 300 micrómetros, con el fin de obtener la presencia de organismos marinos menores que esta medida, pero sin restos de algas y basura oceánica que podrían estar presentes en la extracción.

En una segunda etapa, la salinidad se ajustó diluyendo la mitad de ambos tipos de agua (filtrada y sin filtrar) con agua destilada hasta alcanzar 20 PSU, con el fin de simular condiciones de baja salinidad, como en zonas litorales, estuarinas, fiordos y aguas superficiales; a esta agua se la denominó agua de mar en condiciones estuarinas. La otra mitad restante se mantuvo con su salinidad inicial de 33 PSU, simulando condiciones de alta salinidad, como en el océano abierto y aguas profundas; a esta agua se la denominó agua de mar en condiciones oceánicas.

Finalmente, se obtuvieron cuatro condiciones experimentales de agua de mar: estuarina filtrada, estuarina sin filtrar, oceánica filtrada y oceánica sin filtrar. En cada condición, se analizará el efecto del vertimiento de las conchas con y sin material orgánico por separado.

### **4.3 Diseño experimental y tamaño muestral**

Se distribuyeron 120 conchas con material orgánico en 12 acuarios, con 10 conchas asignadas a cada acuario ( $n = 10$ ). Dos de los acuarios se llenaron con 7 litros de

agua de mar de baja salinidad, diferenciándose en que uno contenía agua filtrada y otro agua sin filtrar. Otros dos acuarios se llenaron con 7 litros de agua de mar de alta salinidad, también diferenciándose entre agua filtrada y sin filtrar. Estas cuatro condiciones experimentales (estuarina filtrada, estuarina sin filtrar, oceánica filtrada y oceánica sin filtrar) se replicaron tres veces cada una, utilizando un total de 12 acuarios para añadir conchas con material orgánico y 12 acuarios para conchas sin material orgánico, con el fin de comparar los efectos en las distintas condiciones. De esta manera, se alcanzó un total de 24 acuarios utilizados en el experimento.

Tipo de concha	Condición experimental	Acuario asignado
Con material orgánico	Estuarina - Filtrada	Acuario 1, 2 y 3
	Estuarina – Sin Filtrar	Acuario 4, 5 y 6
	Oceánica - Filtrada	Acuario 7, 8 y 9
	Oceánica – Sin Filtrar	Acuario 10, 11 y 12
Sin material orgánico	Estuarina - Filtrada	Acuario 13, 14 y 15
	Estuarina – Sin Filtrar	Acuario 16, 17 y 18
	Oceánica - Filtrada	Acuario 19, 20 y 21
	Oceánica – Sin Filtrar	Acuario 22, 23 y 24

#### 4.4 Mediciones

Para cada acuario experimental, se estableció un programa de monitoreo para los días 0, 7, 19, 26 y 33, en cada uno de los siguientes parámetros:

- (i) Temperatura del agua,
- (ii) Alcalinidad total,
- (iii) Concentración de Carbono inorgánico disuelto (CID),
- (iv) Concentración de Oxígeno disuelto,
- (v) Abundancia bacteriana, y
- (vi) Salinidad.

Además, utilizando los valores de alcalinidad total, carbono inorgánico disuelto, salinidad y temperatura, ingresados al software "CO2SYS", se obtuvo: pH total, dióxido de carbono, carbonato, bicarbonato y omega aragonita.

Para estimar la temperatura y el oxígeno disuelto, se utilizó un medidor multiparámetro portátil marca Thermo, modelo Orion Star A325, con cada sensor previamente calibrado, y midiendo directamente desde los acuarios. Para estimar la salinidad, se utilizó un medidor de salinidad portátil marca Oakton, modelo SALT 6+ con sonda, y se midió directamente desde los acuarios.

Para estimar la alcalinidad total, se extrajeron muestras de agua de 125 mL de cada acuario utilizando una jeringa previamente cebada. Posteriormente, las muestras fueron transferidas a frascos de vidrio borosilicato y fijadas con 2 gotas de cloruro de mercurio al 8% (HgCl<sub>2</sub>). Luego, para analizar la alcalinidad total, las muestras se enviaron al laboratorio, donde se utilizó el equipo Alkalinity Titrator AS-ALK2 de Apollo Sci (con una precisión de  $\pm 2 \mu\text{moles kg}^{-1}$ ) para realizar la medición.

Para estimar el carbono inorgánico disuelto, se extrajeron muestras de agua de 40 mL de cada acuario utilizando una jeringa adaptada con swinnex y filtro de papel, previamente cebada. Posteriormente, las muestras fueron transferidas a viales y fijadas con 2 gotas de cloruro de mercurio al 8% (HgCl<sub>2</sub>). Luego, para analizar el carbono inorgánico de las muestras se enviaron al laboratorio, donde se utilizó el equipo Apollo SciTech AS-C3 (con una precisión de  $\pm 2-3 \mu\text{moles kg}^{-1}$ ) para realizar la medición.

Para estimar la abundancia bacteriana, se extrajeron muestras de agua de 0,675 mL de cada acuario utilizando una micropipeta marca Eppendorf Research 1000, posteriormente fueron transferidas a viales de 2 mL, y fijadas con 0,325 mL de glutaraldehído al 1%. Luego, para analizar la abundancia bacteriana de las muestras se enviaron al laboratorio, donde se utilizó citometría de flujo mediante equipo modelo FACSCalibur para realizar la medición.

Finalmente, para estimar la tasa de disolución de las conchas, se extrajeron de los acuarios las conchas añadidas y se separaron en bolsas Ziploc rotuladas para identificar cada acuario. Posteriormente, se introdujeron al horno a 60°C durante 3

horas, luego se dejaron a temperatura ambiente por 24 horas para, finalmente, ser pesadas en seco utilizando una balanza analítica marca Sartorius, modelo ENTRIS224I – 1S. Este proceso también se realizó al inicio del experimento antes de ser añadidas a los acuarios. La tasa de disolución se obtuvo calculando la diferencia entre el peso inicial con el peso de cada muestreo, dividido por la cantidad de días transcurridos entre muestreos.

#### **4.5 Análisis estadístico**

Para evaluar si el ambiente (salinidad) determinaba ciertos impactos ambientales, se agruparon los valores por formato de la concha y se utilizó un ANOVA de un factor para evaluar si la salinidad afecta la velocidad a la que se disuelven las conchas. Cuando el análisis mostró efectos significativos de algún factor sobre una variable, obteniendo valores de  $p < 0.05$ , se destacó en negrita.

Dado que las variables químicas del agua de cada ambiente difieren entre sí debido a las concentraciones obtenidas después de la disolución (es decir, existe una variabilidad neta de menor concentración de AT, DIC, carbonato, bicarbonato y saturación de aragonito en la condición de baja salinidad), no se utilizó ANOVA para evaluar estas variables. En su lugar, se realizó un análisis de correlación de Spearman rank entre la tasa de disolución y las variables del agua agrupadas por ambiente, obteniendo así el comportamiento de cada variable con la tasa de disolución.

En el presente documento, cuando la correlación fue significativa, se destacó con un número en negrita. Sin embargo, se observó que las magnitudes fueran en el mismo sentido entre variables para cada condición y entre ambientes, con el fin de evaluar si la tendencia (comportamiento) es la misma.

## 5 Resultados

### 5.1 Tasa de disolución en conchas de diferente formato en agua de baja y alta salinidad.

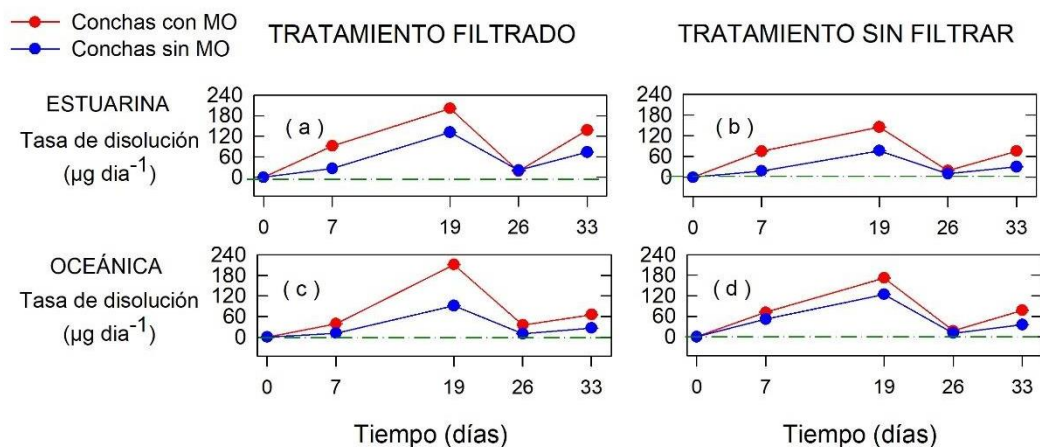
La Figura 1 muestra la tasa de disolución en conchas de *Mytilus chilensis* determinada para dos formatos: aquellas con material orgánico (rojo) y las que carecen de él (azul), ambas sometidas a condiciones de ambiente estuarino y oceánico, y en agua con y sin filtrar.

En primer lugar, la tasa de disolución presentó una tendencia similar en ambos tipos de ambiente y en ambos tratamientos de agua (**Figura 1a, 1b, 1c y 1d**), con una tasa de disolución que se duplica desde el día 7 al 19. Luego, el día 26, no se observó disolución de concha, y, por último, el día 33, la disolución incrementa de manera similar a la de la primera semana. Además, se observa que las conchas con material orgánico (rojo) mostraron una tasa de disolución ligeramente mayor que las que no tenían (azul) (**Figura 1a, 1b, 1c y 1d**).

La presencia o ausencia de materia orgánica en las conchas no constituye una forzante en la tasa de disolución, ya que no se observaron diferencias significativas en la tasa de disolución entre el tratamiento con o sin materia orgánica, tanto en agua tipo oceánica ( $F = 1.6051$ ,  $p = 0.2213$ ; **Tabla 1**) como en agua tipo estuarina ( $F = 2.1603$ ,  $p = 0.1589$ ; **Tabla 1**).

Al analizar el efecto de la filtración del agua de mar utilizada durante la incubación en la tasa de disolución, se observa que no hay diferencias significativas para ningún tipo de agua utilizada, oceánica o estuarina ( $F = 0.0717$ ,  $p = 0.7920$  y  $F = 0.8833$ ,  $p = 0.3598$ , respectivamente; **Tabla 1**).

TASAS DE DISOLUCIÓN EN AGUA DE BAJA Y ALTA SALINIDAD



**Figura 1:** Registro temporal de tasas de disolución en conchas de *Mytilus chilensis* con material orgánico (línea roja) y sin material orgánico (línea azul) en agua estuarina y oceánica. Las variables son: tasas de disolución [ $\mu\text{g día}^{-1}$ ] en agua tipo (a) estuarina filtrada y (b) estuarina sin filtrar; y en agua tipo (c) oceánica filtrada y (d) oceánica sin filtrar.

**Tabla 1:** Resultados resumidos (ANOVA de 1 y 2 vías) para tasas de disolución en agua oceánica y estuarina, utilizando factores de materia orgánica, filtración y la interacción entre ambos.

Análisis de la variabilidad en la tasa de disolución							
Variables	df (gdl, error)	Materia orgánica (M) 1V		Filtración (Fi) 1V		M x Fi 2V	
		F	p	F	p	F	p
Tasa de disolución en agua oceánica	1,16	1,6050	0,2213	0,0717	0,7920	0,1226	0,7308
Tasa de disolución en agua estuarina	1,16	2,1603	0,1589	0,8833	0,3598	0,0055	0,9420

## 5.2 Dinámica del sistema de carbonato en experimentos con conchas en diferentes formatos en aguas tipo estuarinas.

El pH total (pHT) (**Figura 2c y 2d**) disminuyó durante los primeros 7 días, estabilizándose posteriormente con un leve aumento progresivo ( $<0.1$ ) en los días 19, 26 y 33. Esta tendencia fue similar en aguas sometidas a conchas con y sin material orgánico, aunque se observó un pHT ligeramente menor en el formato de conchas sin material orgánico, siendo esta diferencia no significativa ( $F = 0.5075$ ,  $p = 0.4854$ ; **Tabla 2**).

La Alcalinidad Total ( $A_T$ ) (**Figura 2e y 2f**) presentó un incremento constante en ambos formatos de conchas durante el experimento, observando una mayor  $A_T$  en el tratamiento con conchas que contenían material orgánico. Esta variación fue estadísticamente significativa sobre la  $A_T$  ( $F = 10.3576$ ,  $p = 0.0048$ ; **Tabla 2**).

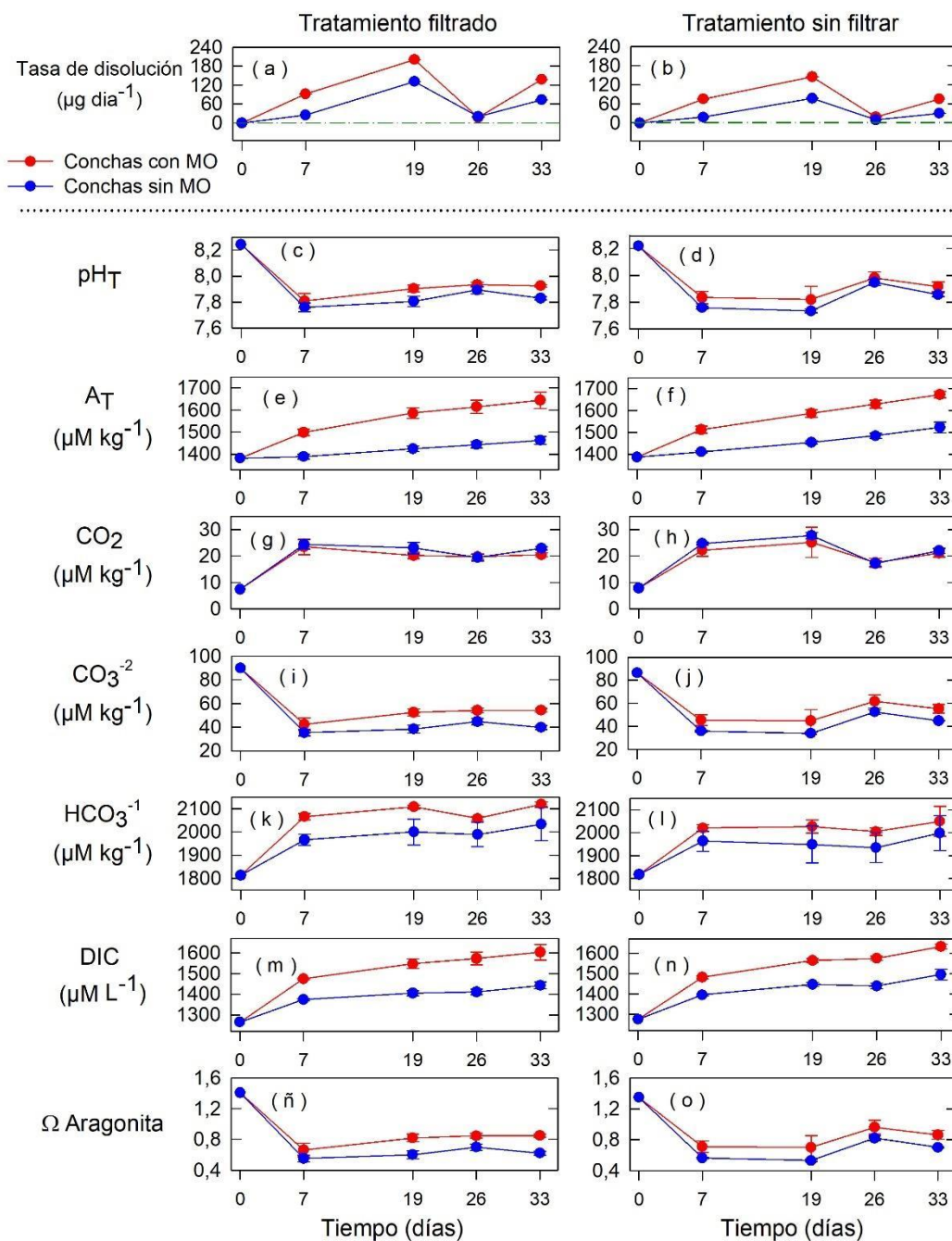
El dióxido de carbono ( $CO_2$ ) en el agua filtrada (**Figura 2g**) como sin filtrar (**Figura 2h**) presentó un aumento en la concentración de  $CO_2$  durante los primeros 7 días, la cual luego se estabilizó a la semana del período de incubación. En ambos tipos de agua (filtrada y sin filtrar), el tratamiento de la valva no tuvo efectos significativos sobre la variabilidad del  $CO_2$  ( $F = 0.1540$ ,  $p = 0.6994$ ; **Tabla 2**).

El carbonato ( $CO_3^{2-}$ ) y el bicarbonato ( $HCO_3^-$ ) (**Figura 2i y 2k**) mostraron un comportamiento que evidencia un patrón opuesto: mientras el  $CO_3^{2-}$  disminuyó significativamente al día 7, el  $HCO_3^-$  incrementó casi en la misma proporción, lo que es esperable, dado que, por equilibrio ácido-base al disminuir el pH en el agua al día 7 (**Figura 2c y 2d**), los protones producidos ( $H^+$ ), reaccionan con el  $CO_3^{2-}$  para producir más  $HCO_3^-$ . Esta tendencia se observa tanto en el agua filtrada como en la sin filtrar, con una ligera mayor concentración de  $CO_3^{2-}$  y  $HCO_3^-$  en el tratamiento con conchas que contenían materia orgánica, pero que no fue estadísticamente significativa ( $F = 1.0118$ ,  $p = 0.3278$  y  $F = 3,5630$ ,  $p = 0,0753$ , respectivamente; **Tabla 2**).

El resultante incremento en  $\text{HCO}_3^-$  y dado es la especie del carbono inorgánico que contribuye mayoritariamente (> 90%) al carbono inorgánico disuelto total (DIC), resulta en un evidente incremento en el DIC en el tiempo (**Figura 2m y 2n**). En este caso, la diferencia en el formato fue estadísticamente significativa entre ambos tratamientos, siendo mayor en el tratamiento con conchas con materia orgánica ( $F = 4.8743$ ,  $p = 0.0405$ ; **Tabla 2**).

Finalmente, esta disminución en el pH e incremento en  $\text{HCO}_3^-$  y DIC, resulta en una disminución del Estado de Saturación de Carbonato de Calcio ( $\Omega_{\text{arag}}$ ), desde cerca de 1,5 a valores de  $\Omega_{\text{arag}}$  a cerca de 0,5. Sin embargo, es interesante notar que, a la tercera semana del experimento (día 26), se observa un incremento en el pH, especialmente en el tratamiento con agua de mar sin filtrar, asociado al incremento de  $A_T$  por el incremento de  $\text{CO}_3^{2-}$ , lo que se traduce en un incremento en  $\Omega_{\text{arag}}$  en los días finales del experimento.

Tasa de disolución y parámetros químicos ambientales en agua tipo estuarina



**Figura 2:** Registro temporal de tasas de disolución en conchas de *M. chilensis* y parámetros químicos en el agua estuarina en la cual se incubaron

durante un período de 33 días. El experimento consideró conchas con materia orgánica (línea roja) y sin materia orgánica (línea azul) como especificado en la metodología. Las variables química analizadas fueron: (a) Tasa de disolución [ $\mu\text{g día}^{-1}$ ] en agua filtrada y (b) sin filtrar, (c) pHT en agua filtrada y (d) sin filtrar, (e)  $A_t$  [ $\mu\text{M kg}^{-1}$ ] en agua filtrada y (f) sin filtrar, (g)  $\text{CO}_2$  [ $\mu\text{M kg}^{-1}$ ] en agua filtrada y (h) sin filtrar, (i)  $\text{CO}_3^{2-}$  [ $\mu\text{M kg}^{-1}$ ] en agua filtrada y (j) sin filtrar, (k)  $\text{HCO}_3^-$  [ $\mu\text{M kg}^{-1}$ ] en agua filtrada y (l) sin filtrar, (m) DIC [ $\mu\text{M L}^{-1}$ ] en agua filtrada y (n) sin filtrar, (ñ)  $\Omega_{\text{aragonita}}$  en agua filtrada y (o) sin filtrar.

**Tabla 2:** Resultados resumidos (ANOVA de 1 y 2 vías) para tasa de disolución, pHT,  $A_t$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ , DIC y  $\Omega_{\text{aragonita}}$  en agua estuarina, utilizando factores de materia orgánica, filtración y la interacción entre ambos. El área de valores significativos ( $p < 0.05$ ) se muestra en negra.

Análisis de varianza en parámetros químicos en agua tipo estuarina							
Variables	df (gdl, error)	Materia orgánica (M) 1V		Filtración (Fi) 1V		M x Fi 2V	
		F	<i>p</i>	F	<i>p</i>	F	<i>p</i>
Tasa de disolución	1, 16	2,1603	0,1589	0,8833	0,3598	0,0055	0,9420
pHT	1, 16	0,5075	0,4854	0,0010	0,9752	0,0012	0,9730
<b><math>A_t</math></b>	1, 16	10,3576	<b>0,0048</b>	0,2365	0,6326	0,0654	0,8014
$\text{CO}_2$	1, 16	0,1540	0,6994	0,0284	0,8680	0,00001	0,9976
$\text{CO}_3^{2-}$	1, 16	1,0118	0,3278	0,0041	0,9495	0,0039	0,9513
$\text{HCO}_3^-$	1, 16	3,5630	0,0753	0,1340	0,7186	0,0240	0,8790
<b>DIC</b>	1, 16	4,8743	<b>0,0405</b>	0,1730	0,6824	0,0325	0,8591
$\Omega_{\text{Aragonita}}$	1, 16	1,0112	0,3279	0,0042	0,9494	0,0039	0,9513

### 5.3 Dinámica del sistema de carbonato en experimentos con conchas en diferentes formatos para aguas tipo oceánicas.

El pH total (pHT) (**Figura 3c y 3d**) disminuyó cerca de 0,2 durante los primeros 7 días, después se mantuvo sin cambios hasta el día 19, cuando incrementó cerca de 0,1 hasta el final del experimento en agua filtrada (**Figura 3c**). En cambio, en agua sin filtrar (**Figura 3d**), después de disminuir la primera semana (día 7), aumentó consecutivamente los días 19 y 26 hasta cerca de 0,2, y el día 33 disminuye ligeramente ( $<0,1$ ). Esta tendencia fue similar en aguas sometidas a conchas con y sin material orgánico, aunque se observó un pHT ligeramente menor en el formato de conchas sin material orgánico, siendo esta diferencia no significativa ( $F = 0.1608$ ,  $p = 0.6931$ ; **Tabla 3**).

La Alcalinidad Total ( $A_T$ ) en agua filtrada y sin filtrar (**Figura 3e y 3f**) evidenció un incremento constante en ambos formatos de conchas durante el experimento, observando una mayor  $A_T$  en el tratamiento con conchas que contenían material orgánico. Esta variación fue estadísticamente significativa en la  $A_T$  ( $F = 5.8126$ ,  $p = 0.0268$ ; **Tabla 3**).

El dióxido de carbono en el agua ( $CO_2$ ) presentó que, tanto para el agua filtrada (**Figura 3g**) como sin filtrar (**Figura 3h**), se observó un aumento en la concentración de  $CO_2$  durante los primeros 7 días, que luego se estabilizó a partir del día 7 en agua sin filtrar (**Figura 3h**) y desde el día 19 en agua filtrada (**Figura 3g**). En ambos tipos de agua (filtrada y sin filtrar), el tratamiento de la valva no tuvo efectos significativos sobre la variabilidad del  $CO_2$  ( $F = 0.5409$ ,  $p = 0.4715$ ; **Tabla 3**).

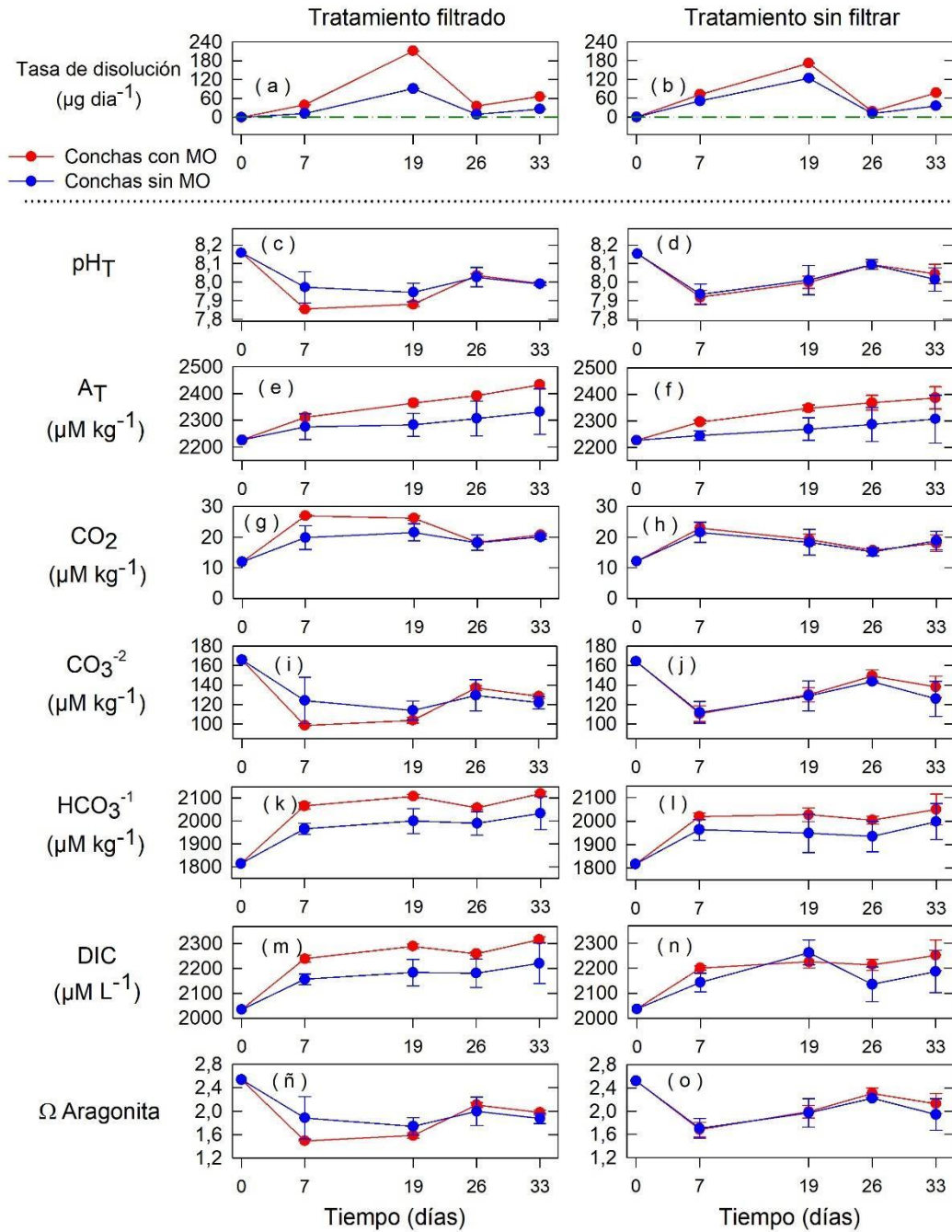
Al igual que en agua estuarina, el carbonato ( $CO_3^{2-}$ ) y el bicarbonato ( $HCO_3^-$ ) (**Figura 3i y 3j**) mostraron el mismo comportamiento, evidenciando un patrón opuesto; la disminución de  $CO_3^{2-}$  y el incremento proporcional del  $HCO_3^-$  durante los primeros 7 días, producto del cambio de pH y el equilibrio ácido-base descrito anteriormente (**Item 1.2**). Además, el día 26 se observa un incremento de  $CO_3^{2-}$  coincidente con una subida de pH (**Figura 3c y 3d**), aun cuando el  $HCO_3^-$  se

mantuvo estable. Esta tendencia se observa tanto en el agua filtrada, como en la sin filtrar, con una diferencia muy leve en la concentración de  $\text{CO}_3^{2-}$  entre tratamientos de conchas y moderadamente más marcada en la de  $\text{HCO}_3^-$ , pero ambas no fueron estadísticamente significativas ( $F = 0.0021$ ,  $p = 0.9640$  y  $F = 2.2370$ ,  $p = 0.1521$ , respectivamente; **Tabla 3**).

El DIC presentó un incremento en el tiempo (**Figura 3m y 3n**) proporcionalmente al  $\text{HCO}_3^-$  y mostró mayor concentración en agua sometida a conchas con material orgánico, sin embargo, la diferencia de tratamiento de las conchas no fue estadísticamente significativa ( $F = 1.9037$ ,  $p = 0.1846$ ; **Tabla 3**).

Finalmente, el  $\Omega_{arag}$  (**Figura 3ñ y 3o**) disminuyó desde valores cercanos a 2,5 a cerca de 1,6 la primera semana (día 7), asociado a la disminución de pH y  $\text{CO}_3^{2-}$ , además del incremento de  $\text{HCO}_3^-$  y DIC. Sin embargo, el día 26 se recuperó, alcanzando valores de cerca de 2,1 en coincidencia con el alza de  $\text{CO}_3^{2-}$  que se registra ese día.

Tasa de disolución y parámetros químicos ambientales en agua tipo oceánica



**Figura 3:** Registro temporal de tasas de disolución en conchas de *M. chilensis* y parámetros químicos en el agua oceánica en la cual se incubaron durante

un período de 33 días. El experimento consideró conchas con materia orgánica (línea roja) y sin materia orgánica (línea azul) como especificado en la metodología. Las variables química analizadas fueron: (a) Tasa de disolución [ $\mu\text{g día}^{-1}$ ] en agua filtrada y (b) sin filtrar, (c) pHT en agua filtrada y (d) sin filtrar, (e)  $A_t$  [ $\mu\text{M kg}^{-1}$ ] en agua filtrada y (f) sin filtrar, (g)  $\text{CO}_2$  [ $\mu\text{M kg}^{-1}$ ] en agua filtrada y (h) sin filtrar, (i)  $\text{CO}_3^{2-}$  [ $\mu\text{M kg}^{-1}$ ] en agua filtrada y (j) sin filtrar, (k)  $\text{HCO}_3^-$  [ $\mu\text{M kg}^{-1}$ ] en agua filtrada y (l) sin filtrar, (m) DIC [ $\mu\text{M L}^{-1}$ ] en agua filtrada y (n) sin filtrar, (ñ)  $\Omega_{\text{aragonita}}$  en agua filtrada y (o) sin filtrar.

**Tabla 3:** Resultados resumidos (ANOVA de 1 y 2 vías) para tasa de disolución, pHT,  $A_t$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ , DIC y  $\Omega_{\text{aragonita}}$  en agua oceánica, utilizando factores de materia orgánica, filtración y la interacción entre ambos. El área de valores significativos ( $p < 0.05$ ) se muestra en negra.

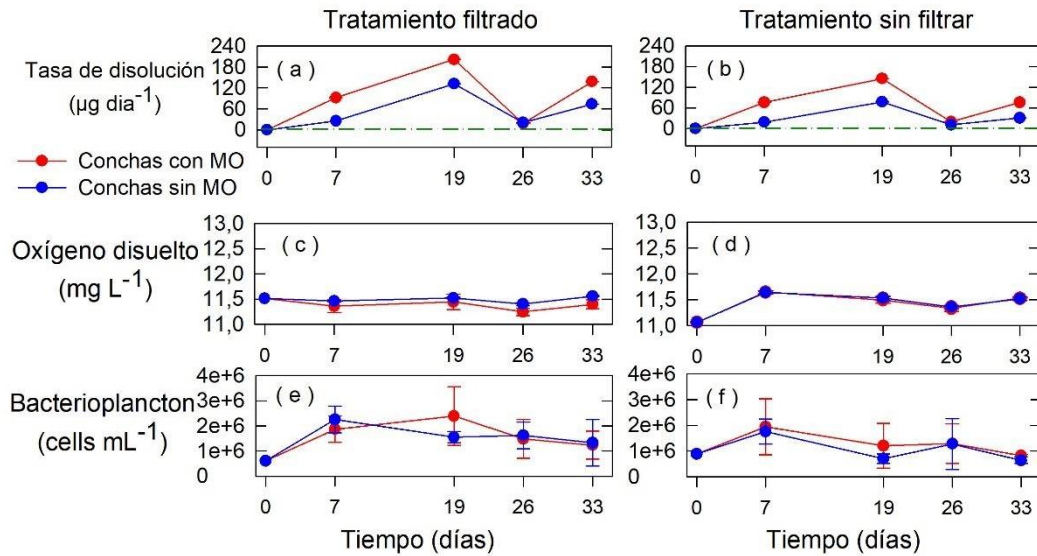
Análisis de la varianza en parámetros químicos en agua tipo oceánica							
Variables	df (gdl, error)	Materia orgánica (M) 1V		Filtración (Fi) 1V		M x Fi 2V	
		F	<i>p</i>	F	<i>p</i>	F	<i>p</i>
Tasa de disolución	1, 16	1,6051	0,2213	0,0717	0,7920	0,1226	0,7308
pHT	1, 16	0,1608	0,6931	1,0227	0,3253	0,1603	0,6942
<b><math>A_t</math></b>	1, 16	5,8126	<b>0,0268</b>	0,4705	0,5015	0,0017	0,9680
$\text{CO}_2$	1, 16	0,5409	0,4715	1,2475	0,2787	0,2752	0,6070
$\text{CO}_3^{2-}$	1, 16	0,0021	0,9640	0,7122	0,4098	0,1594	0,6950
$\text{HCO}_3^-$	1, 16	2,2370	0,1521	0,8010	0,3827	0,0620	0,8069
DIC	1, 16	1,9037	0,1846	0,3147	0,5817	0,2534	0,6216
$\Omega$ Aragonita	1, 16	0,0018	0,9668	0,7290	0,4044	0,1594	0,6950

#### 5.4 Dinámica de otros parámetros ambientales en experimentos con conchas en diferentes formatos y para aguas tipo estuarinas y oceánicas.

Los resultados del experimento de reciclaje de conchas utilizando agua de mar de un ambiente estuarino evidenciaron que el oxígeno disuelto ( $O_2$  disuelto) en el tratamiento con agua de mar filtrada (**Figura 4c**) no mostró variaciones temporales a lo largo de la duración del experimento y se mantuvo en el mismo rango. En contraste, el  $O_2$  disuelto en el tratamiento sin filtrar (**Figura 4d**) aumentó ligeramente en cerca de  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  durante los primeros 7 días, disminuyó hasta el día 26 y se estabilizó hasta finales del experimento. Sin embargo, el análisis de la serie temporal evidenció que no se encontraron diferencias significativas en el  $O_2$  disuelto entre tratamientos de agua filtrada o sin filtrar, ni entre el formato de conchas con o sin material orgánico ( $F = 0.1065$ ,  $p = 0.7480$  y  $F = 0.5523$ ,  $p = 0.4670$ , respectivamente; **Tabla 4**).

Las estimaciones de abundancia del bacterioplancton (**Figura 4e y 4f**) mostraron un patrón general de incremento en la abundancia al inicio del experimento (día 7), el cual luego descendió para ir estabilizándose en el tiempo. No obstante, en tratamientos de agua filtrada (**Figura 4e**) sometida a conchas con material orgánico (línea roja) el descenso de la abundancia ocurre después del día 19 y no después del día 7, como en todos los otros tratamientos. Sin embargo, entre aguas sometidas a conchas con o sin material orgánico (línea roja y azul, respectivamente) no existieron diferencias significativas sobre la abundancia bacteriana ( $F = 0.1929$ ,  $p = 0.6657$ ; **Tabla 4**), ni tampoco por el tratamiento del agua filtrada o sin filtrar ( $F = 2.2773$ ,  $p = 0.1486$ ; **Tabla 4**).

Otros parámetros ambientales en agua estuarina



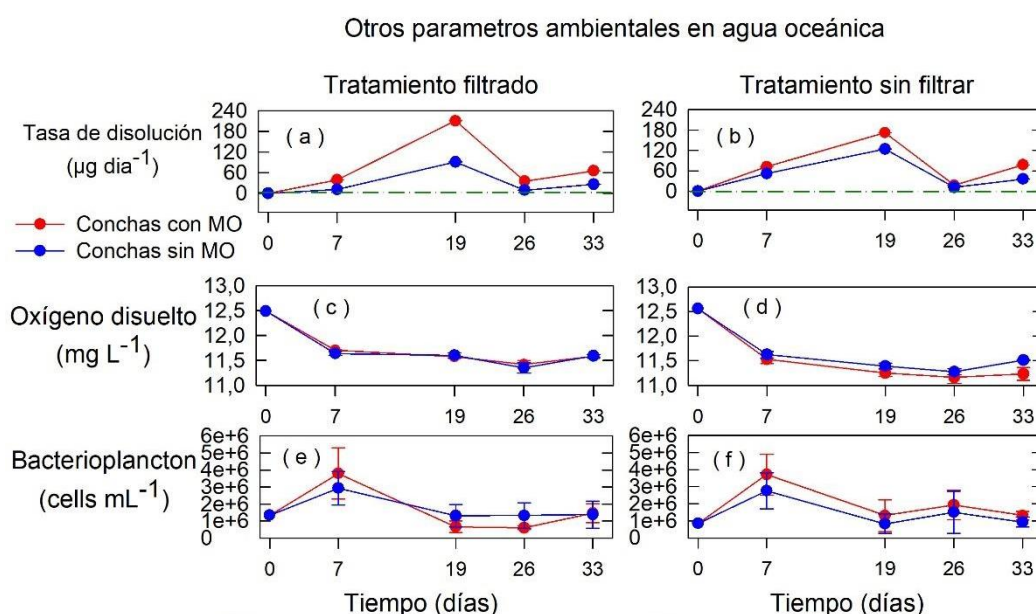
**Figura 4:** Registro temporal de tasas de disolución y parámetros ambientales en agua tipo estuarina, sometida a conchas con material orgánico (línea roja) y sin material orgánico (línea azul). Las variables son: (a) tasa de disolución [ $\mu\text{g día}^{-1}$ ] en agua filtrada y (b) sin filtrar, (c)  $\text{O}_2$  disuelto [ $\text{mg L}^{-1}$ ] en agua filtrada y (d) sin filtrar y (e) bacterioplancton [ $\text{cells mL}^{-1}$ ] en agua filtrada y (f) sin filtrar.

**Tabla 4:** Resultados resumidos (ANOVA de 1 y 2 vías) para tasa de disolución,  $\text{O}_2$  disuelto y bacterioplancton en agua estuarina, utilizando factores de materia orgánica, filtración y la interacción entre ambos. El área de valores significativos ( $p < 0.05$ ) se muestra en negrita.

Análisis de la varianza en parámetros ambientales en agua tipo estuarina							
Variables	df (gdl, error)	Materia orgánica (M) 1V		Filtración (Fi) 1V		M x Fi 2V	
		F	<i>p</i>	F	<i>p</i>	F	<i>p</i>
Tasa de disolución	1, 16	2,1603	0,1589	0,8833	0,3598	0,0055	0,9420
Bacterioplancton	1, 16	0,1929	0,6657	2,2773	0,1486	0,0757	0,7868
$\text{O}_2$ disuelto	1, 16	0,5523	0,4670	0,1065	0,7480	0,3453	0,5650

Por otra parte, los resultados que utilizaron agua de mar de un ambiente oceánico mostraron que el O<sub>2</sub> disuelto (**Figura 5c y 5d**) en todos los tratamientos tuvo una caída durante los primeros 7 días de cerca de 12,5 mg L<sup>-1</sup> a cerca de 11,5 mg L<sup>-1</sup>, la cual luego se estabilizó sin cambios hasta el final del experimento. Desde luego, no se encontraron diferencias significativas en el O<sub>2</sub> disuelto entre tratamientos de agua filtrada o sin filtrar, ni tampoco entre aguas sometidas a conchas con o sin material orgánico (F = 0,4149, p = 0,5276 y F = 0,0638, p = 0,8034, respectivamente; **Tabla 5**).

Ahora bien, las estimaciones de abundancia de bacterioplancton (**Figura 5e y 5f**) evidenciaron un comportamiento opuesto al O<sub>2</sub> disuelto incrementando la abundancia durante los primeros 7 días, la cual luego disminuyó para estabilizarse en el tiempo. Si bien el incremento en agua sometida a conchas con material orgánico (línea roja) alcanzó hasta cerca de 4\*10<sup>6</sup> cells mL<sup>-1</sup>, mayor que en agua sometida a conchas sin material orgánico (línea azul), que alcanzó cerca de 3\*10<sup>6</sup> cells mL<sup>-1</sup>, no se observaron efectos significativos entre el formato de conchas, ni entre el tratamiento de filtrado sobre la abundancia de bacterioplancton (F = 0,1799, p = 0.6765 y F = 0.0012, p = 0.9726, respectivamente; **Tabla 5**).



**Figura 5:** Registro temporal de tasas de disolución y parámetros ambientales en agua tipo oceánica, sometida a conchas con material orgánico (línea roja) y sin material orgánico (línea azul). Las variables son: (a) tasa de disolución [ $\mu\text{g día}^{-1}$ ] en agua filtrada y (b) sin filtrar, (c)  $\text{O}_2$  disuelto [ $\text{mg L}^{-1}$ ] en agua filtrada y (d) sin filtrar y (e) bacterioplancton [ $\text{cells mL}^{-1}$ ] en agua filtrada y (f) sin filtrar.

**Tabla 5:** Resultados resumidos (ANOVA de 1 y 2 vías) para tasa de disolución,  $\text{O}_2$  disuelto y Bacterioplancton en agua oceánica, utilizando factores de materia orgánica, filtración y la interacción entre ambos. El área de valores significativos ( $p < 0.05$ ) se muestra en negrita.

Análisis de la varianza en parámetros ambientales en agua tipo oceánica							
Variables	df (gdl, error)	Materia orgánica (M) 1V		Filtración (Fi) 1V		M x Fi 2V	
		F	<i>p</i>	F	<i>p</i>	F	<i>p</i>
Tasa de disolución	1, 18	1,6051	0,2213	0,0717	0,7920	0,1226	0,7308
Bacterioplancton	1, 18	0,1799	0,6765	0,0012	0,9726	0,3390	0,5685
$\text{O}_2$ disuelto	1, 18	0,0638	0,8034	0,4149	0,5276	0,1065	0,7484

### 5.5 Correlaciones entre la tasa de disolución y parámetros ambientales.

La tasa de disolución en conchas de *M. chilensis* se analizó mediante ANOVA en conchas con materia orgánica y sin materia orgánica por separado, utilizando como factor de variabilidad la salinidad del ambiente al cual se sometían. No existieron diferencias significativas condicionadas por el ambiente sobre las tasas de disolución en conchas con material orgánico o sin material orgánico ( $F = 0.0133$ ,  $p = 0.9094$  y  $F = 0.0265$ ,  $p = 0.8723$ ; respectivamente). Sin embargo, este mismo análisis aplicado en las variables químicas del agua no es válido, ya que la propia concentración de las variables en cada ambiente es diferente (por ejemplo,  $A_T$ , carbonato, DIC, etc). Por ende, se utilizó análisis de la tendencia o comportamiento de estas variables en función de la tasa de disolución, mediante correlaciones entre

la tasa de disolución de las conchas y las variables ambientales. Se observó que la magnitud (sentido) de las variables consideradas es la misma al añadir las conchas con o sin material orgánico en diferentes ambientes (**Tabla 6**).

La **tabla 6** muestra que las magnitudes y direcciones de las correlaciones entre las tasas de disolución de las conchas (con y sin material orgánico) y las variables ambientales fueron consistentes en ambos ambientes, estuarino y oceánico. En general, las correlaciones presentaron el mismo patrón en las conchas con y sin material orgánico. Por ejemplo, el pHT y el carbonato exhibieron correlaciones negativas, mientras que la alcalinidad total (AT) y el DIC mostraron correlaciones positivas. Estos fenómenos se mantuvieron de manera similar, sin importar el ambiente en el que se encontraban las conchas. Las correlaciones de otras variables como el  $\Omega$  aragonito y el bacterioplancton también mostraron consistencia en cuanto a su magnitud y dirección entre las condiciones estuarinas y oceánicas.

**Tabla 6:** Matriz resumen de valores de correlación (Spearman Rank) entre la tasa de disolución en ambiente oceánico o estuarino y agua filtrada o sin filtrar con parámetros químicos (pHT, CO<sub>2</sub>, At, DIC, CO<sub>3</sub>,  $\Omega_{ar}$ , O<sub>2</sub> y Bacterioplancton). En negrita valores significativos con  $p < 0.05$ .

Parámetros	Conchas con MO		Conchas sin MO	
	Estuarina	Oceánica	Estuarina	Oceánica
	Tasa de disolución	Tasa de disolución	Tasa de disolución	Tasa de disolución
pHT	<b>-0,7660</b>	<b>-0,6687</b>	<b>-0,7295</b>	<b>-0,7417</b>
A <sub>T</sub>	0,4012	0,3526	0,4863	0,2432
CO <sub>2</sub>	<b>0,7173</b>	<b>0,6687</b>	<b>0,7052</b>	<b>0,7660</b>
CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	<b>-0,6930</b>	<b>-0,6687</b>	<b>-0,7052</b>	<b>-0,7538</b>
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0,3769	0,6079	<b>0,6322</b>	0,5106
DIC	0,3891	0,5836	<b>0,6322</b>	<b>0,7538</b>
$\Omega$ aragonito	<b>-0,6930</b>	<b>-0,6687</b>	<b>-0,7052</b>	<b>-0,7538</b>
O <sub>2</sub> disuelto	0,2918	0,4255	0,5775	-0,3161
Bacterioplancton	0,4559	0,1216	0,1824	-0,1520

## 6 Discusión

Aunque los ecosistemas marinos son ambientes muy difíciles de replicar en condiciones experimentales, este experimento de microcosmos es sólo una aproximación al sistema natural real, dada la complejidad de los procesos que involucra. En este estudio, se buscó controlar las variables ambientales para investigar relaciones causa-efecto entre el formato de disposición de conchas de *M. chilensis* y las variables ambientales, así como su posible aplicación como medida para contrarrestar los efectos de la acidificación costera.

En primer lugar, se observó que la salinidad del agua de mar no tuvo efectos sobre las tasas de disolución en conchas de *Mytilus chilensis* (Figura 1, Tabla 1). En otras palabras, la velocidad a la cual perdieron peso las conchas fue similar entre ambiente de alta y baja salinidad en este estudio. Por el contrario, la literatura describe que aguas superficiales de baja salinidad y subsaturadas de omega aragonito son más corrosivas para el  $\text{CaCO}_3$  (Yevenes et al., 2019). Sin embargo, en este experimento la metodología utilizada para recrear la condición estuarina fue únicamente dilución de salinidad, sin integrar, por ejemplo, elementos de las descargas fluviales que acidifican y reducen el estado de saturación de aragonita (Salisbury et al., 2008; Waldbusser et al., 2014).

Por otra parte, en este experimento la materia orgánica en las conchas no afectó considerablemente ciertos parámetros de la calidad del agua como la abundancia bacteriana, ni la cantidad de oxígeno disuelto. Sin embargo, aunque no haya disminuido de manera significativa el oxígeno disuelto en ninguno de los tratamientos, y el incremento de comunidades bacterianas se observó únicamente al inicio del experimento, estos resultados pueden estar sesgados por las siguientes razones que se detallan a continuación;

En primer lugar, el flujo constante de oxígeno en los acuarios pudo influir en las mediciones de oxígeno disuelto. Este flujo buscaba evitar los procesos que se desencadenan en aguas estancadas, que difieren significativamente a los que

ocurren en ecosistemas marinos. Si bien, se buscó retratar esta condición de no estancamiento del agua, el flujo constante aportado mediante los difusores puede haber repercutido en la medición de este parámetro y posiblemente por esto se observa prácticamente constante durante todo el experimento.

En segundo lugar, la cantidad de materia orgánica en las conchas era significativamente menor a la que resulta en la producción a gran escala de estos, debido a que los moluscos utilizados para este experimento pertenecían al mercado local donde contienen menor cantidad de material orgánico como algas y organismos adheridos a la superficie, y la cantidad de carne resultante en las conchas una vez extraídas en el laboratorio era menor a la que queda en las conchas residuales de la industria. Esto representa un desafío de mejora al diseño experimental de este tipo de experimentos, para poder medir de manera más precisa parámetros como el oxígeno disuelto, sin dejar de lado la máxima similitud posible entre el estudio en laboratorio con las condiciones reales de los ecosistemas estudiados.

No obstante, aunque los resultados de abundancia bacteriana y oxígeno disuelto no hayan mostrado una diferencia estadísticamente significativa entre ambos formatos de concha (con o sin material orgánico) añadidos al agua de mar, si hubo efectos observables a simple vista desde el primer muestreo y que son de importante relevancia en la calidad del agua, tales como: aparición de fuerte olor a descomposición en acuarios a los que se le añadieron conchas con material orgánico, sumado a la visualización de sólidos suspendidos, aumentando la turbidez del agua, inclusive estos efectos fueron incrementando durante el transcurso del experimento. Por lo tanto, en un escenario hipotético donde anualmente se arrojen hacia zonas costeras cientos de miles de toneladas de conchas sin tratamiento de eliminación de materia orgánica, podría desencadenar fácilmente consecuencias ambientales no deseadas, que son muy difíciles de controlar y tienen efectos negativos tanto para el ecosistema como para la salud y calidad de vida de las

personas, entre las cuales están: la liberación de nutrientes, la formación de compuestos tóxicos, la aparición de mal olor y el aumento de la turbidez del agua.

Sin embargo, la materia orgánica en las conchas incrementó en mayor proporción la alcalinidad total en el agua de mar en comparación a la adición de conchas sin materia orgánica, lo que se traduce en una alza más pronunciada de la alcalinidad total y, en consecuencia, en el pH utilizando este formato de disposición. A pesar de esto, es crucial abordar la gestión de residuos de manera integral, recordando que se deben ofrecer soluciones que permitan reducir el volumen de desechos, pero sin desencadenar otros problemas ambientales. Por lo tanto, en cuestión de mitigar la acidificación costera usando conchas residuales provenientes de la industria, no es conveniente realizarlo sin tratar previamente la materia orgánica, debido a los costos ambientales que esto traería.

Debemos prevenir y estudiar consecuencias no deseadas mediante experimentos como éste, para así implementar medidas que logren el objetivo de disminuir la cantidad de desechos, los costos económicos asociados al transporte de éstos y la huella de carbono generada por factores externos a la producción. De este modo, la adición de conchas tratadas (sin materia orgánica) vertidas en agua de mar, también resultó en un incremento en la alcalinidad total y el pH, por lo que cumple con el objetivo de actuar como buffer, aportando carbonatos y subiendo el estado de saturación de aragonito, ayudando así a contrarrestar la acidificación costera. Si bien la pendiente es menos pronunciada en este formato de disposición, sólo implicaría que el efecto tomaría más tiempo que el formato sin tratamiento (con materia orgánica), pero se evitarían los efectos negativos previamente descritos.

La alcalinización artificial de los océanos es un método actualmente en evaluación destinado a modificar directamente las exposiciones al dióxido de carbono (Gattuso et al., 2018; Ilyina et al., 2013; Renforth et al., 2017). Por ejemplo, el aumento de la alcalinidad total se ha logrado mediante la adición de conchas trituradas a hábitats clave, lo que luego, a través de la disolución, provoca un aumento en el estado de

saturación de carbonato de calcio del agua de mar (Green et al., 2013; Green et al., 2009; Greiner et al., 2018; Mos et al., 2019). Estos aumentos de alcalinidad, independientemente del origen, aumentan la capacidad buffer del agua de mar estabilizando el pH. Esto se ha observado, por ejemplo, en procesos naturales como el aporte de caudales fluviales alcalinos amortiguando el pH en el agua de mar (Gómez et al., 2021).

De hecho, la disolución de conchas de *Mytilus chilensis* en acuarios experimentales mostró un aumento en el carbonato y la saturación de aragonito, elevando los niveles de alcalinidad total y pH. Este experimento a microescala concuerda con experimentos de mayor escala, como la utilización de conchas del mejillón *Perna canaliculus* para la generación de arrecifes aledaños a cultivos de moluscos, amortiguando las disminuciones de carbonato en el agua de mar (Ericson et al., 2022), y en otro tipo de formatos, el vertimiento de conchas residuales trituradas hacia sedimentos de marismas, también elevó el pH y mejoró la disponibilidad de carbonato en la columna de agua y los sedimentos, aumentando el asentamiento y la supervivencia de almejas (Clements et al., 2017).

Respecto a la disolución mineral de la concha, se sabe que la matriz orgánica de la concha puede desempeñar un papel importante como protector de disolución, ya que envuelve tanto intra como inter-cristalmente al mineral de la concha (Green et al., 2004). Esto podría explicar que durante la primera etapa del experimento en ambos formatos de concha se observaron altas pérdidas de peso en comparación a los rangos de disolución encontrados en la literatura (Duarte et al., 2015). Este proceso inicial fue mayoritariamente de disolución de materia orgánica a través de la degradación biológica. Luego, al culminar la disolución por degradación biológica, por este efecto protector, comienza a predominar el proceso de disolución química del carbonato de calcio. Esto concuerda con el estudio de Oakes et al., (2019) que mostró la influencia de la oxidación de la materia orgánica dentro de las conchas de pterópodos muertos, como un impulsor más fuerte de la disolución de la concha que

el estado de saturación de aragonito del agua de mar, y a medida que avanza el tiempo de descomposición, aumenta la disolución de la concha.

En resumen, se sugiere que, en cuanto a la escala temporal del estudio es necesaria la aplicación de esta metodología de estudio por un periodo de tiempo mayor para observar de mejor manera la disolución química del carbonato de calcio y su impacto en la alcalinidad después de la primera etapa de disolución biológica de materia orgánica (día 19 en adelante). Además, existen desafíos importantes con relación a la simulación de las condiciones reales con las de laboratorio como, incluir aportes fluviales en las condiciones estuarinas, utilizar conchas residuales provenientes de la industria para observar efectos con la cantidad de materia orgánica real de las conchas e investigar métodos de largo plazo para evaluar efectos sobre la calidad del agua en ecosistemas marinos.

## **7 Conclusiones**

Este estudio ha demostrado que el reciclaje de conchas de *Mytilus chilensis* puede ser una estrategia viable para mitigar la acidificación costera, siempre que se implementen tratamientos previos para eliminar la materia orgánica. Los resultados indican que la tasa de disolución de las conchas no varía significativamente entre condiciones de alta y baja salinidad, lo que sugiere que la salinidad no es un factor determinante en la velocidad de disolución en este contexto experimental. Sin embargo, es importante considerar que la ausencia de otros factores estuarinos, como los aportes fluviales, podría haber influido en estos resultados. Futuras investigaciones deberían incorporar estas variables para evaluar con mayor precisión el impacto de la salinidad en la disolución de las conchas y su potencial para mitigar la acidificación costera.

La presencia de materia orgánica en las conchas no afectó significativamente parámetros como la abundancia bacteriana y el oxígeno disuelto, pero generó efectos observables, como mal olor y aumento de la turbidez. Estos hallazgos indican que, aunque la materia orgánica no alteró directamente los parámetros medidos, su presencia podría tener consecuencias negativas en la calidad del agua

en condiciones reales. Por lo tanto, la eliminación de la materia orgánica antes de la disposición de las conchas en cuerpos de agua es fundamental para evitar impactos ambientales no deseados.

La disolución de las conchas incrementó la alcalinidad total y el pH del agua de mar después de casi 30 días de incubación, lo que confirma su capacidad para actuar como un buffer y contrarrestar la acidificación costera. Este efecto fue más pronunciado en las conchas con materia orgánica, aunque los problemas asociados a su presencia limitan su aplicabilidad práctica. En cambio, las conchas sin materia orgánica, aunque menos efectivas en el corto plazo, representan una alternativa más sostenible al evitar los efectos negativos observados.

En conclusión, este estudio valida que la disposición de conchas de *Mytilus chilensis* puede ser una estrategia viable para mitigar la acidificación costera, siempre que se implementen tratamientos previos para eliminar la materia orgánica. Los resultados obtenidos no solo cumplen con los objetivos planteados, sino que también proporcionan una base sólida para futuras investigaciones que exploren la aplicación de estas estrategias en condiciones más realistas y a mayor escala, contribuyendo así a la gestión sostenible de residuos y la protección de los ecosistemas marinos.

## 8 Referencias

- Andersson, A. J. (2003). Solution of shallow-water carbonates: an insignificant buffer against rising atmospheric CO<sub>2</sub>. *Geology | GeoScienceWorld*. [https://doi.org/10.1130/0091-7613\(2003\)031](https://doi.org/10.1130/0091-7613(2003)031)
- Anuarios Estadísticos de Pesca y Acuicultura | Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura*. (s. f.). <http://www.sernapesca.cl/informacion-utilidad/anuarios-estadisticos-de-pesca-y-acuicultura>
- Barros, M. C., Bello, P., Bao, M., & Torrado, J. J. (2009). From waste to commodity: Transforming shells into high purity calcium carbonate. *Journal of Cleaner Production*, 17(3), 400-407. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2008.08.013>
- Barros, P. P., Sobral, P. J. D. A., Range, P., Chícharo, L., & Matias, D. (2013). Effects of sea-water acidification on fertilization and larval development of the oyster *Crassostrea gigas*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 440, 200-206. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2012.12.014>
- Barton, A. J., Hales, B., Waldbusser, G. G., Langdon, C., & Feely, R. A. (2012). The Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, shows negative correlation to naturally elevated carbon dioxide levels: Implications for near-term ocean acidification effects. *Limnology and Oceanography*, 57(3), 698-710. <https://doi.org/10.4319/lo.2012.57.3.0698>
- Bergström, P., Durland, Y., & Lindegarth, M. (2020). Deposition of shells modify nutrient fluxes in marine sediments: effects of nutrient enrichment and mitigation by bioturbation below mussel farms. *Aquaculture Environment Interactions*, 12, 315-325. <https://doi.org/10.3354/aei00366>
- Biblioteca del Congreso Nacional. (2022, mayo). *Biblioteca del Congreso Nacional de Chile - Asesorías parlamentarias, Gestión de residuos domiciliarios*. [https://obtienearchivo.bcn.cl/obtienearchivo?id=repositorio/10221/33229/1/BCN\\_Gestion\\_de\\_residuos\\_domiciliarios\\_Chile\\_2022\\_FINAL.pdf](https://obtienearchivo.bcn.cl/obtienearchivo?id=repositorio/10221/33229/1/BCN_Gestion_de_residuos_domiciliarios_Chile_2022_FINAL.pdf)
- Bozbaş, S. K., & Boz, Y. (2016). Low-cost biosorbent: *Anadara InAequivalVis* Shells for removal of PB(II) and CU(II) from aqueous solution. *Chemical Engineering*

*Research & Design*, 103, 144-152.  
<https://doi.org/10.1016/j.psep.2016.07.007>

Brumbaugh, R. D., & Coen, L. D. (2009). Contemporary Approaches for Small-Scale Oyster Reef Restoration to address Substrate *Versus* Recruitment limitation: A review and comments relevant for the Olympia Oyster, *Ostrea Lurida* Carpenter 1864. *Journal of Shellfish Research*, 28(1), 147-161.  
<https://doi.org/10.2983/035.028.0105>

Cabrera, M. (2023, 15 mayo). Centros de reciclaje y hasta zanjas: los métodos aplicados en los lagos para combatir crisis de basura. *BioBioChile - La Red de Prensa Más Grande de Chile*.  
<https://www.biobiochile.cl/noticias/nacional/region-de-los-lagos/2023/05/15/centros-de-reciclaje-y-hasta-zanjas-los-metodos-aplicados-en-los-lagos-para-combatir-crisis-de-basura.shtml>

Cummings, V. J., Hewitt, J. E., Van Rooyen, A., Currie, K. I., Beard, S., Thrush, S. F., Norkko, J., Barr, N., Heath, P. R., Halliday, N. J., Sedcole, R., Gomez, A. J., McGraw, C. M., & Metcalf, V. J. (2011). Ocean acidification at high latitudes: Potential effects on functioning of the Antarctic bivalve *Laternula elliptica*. *PLOS ONE*, 6(1), e16069.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016069>

Currie, J. A., Harrison, N. R., Wang, L., Jones, M., & Brooks, M. S. (2007). A preliminary study of processing seafood shells for eutrophication control. *Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering*, 2(5), 460-467.  
<https://doi.org/10.1002/apj.82>

De Alvarenga, R. F., Galindro, B. M., De Fátima Helpa, C., & Soares, S. R. (2012). The Recycling of Oyster shells: An Environmental analysis using Life cycle assessment. *Journal of Environmental Management*, 106, 102-109.  
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.04.017>

D.S. N° 64-2020 aprueba Reglamento que establece condiciones sobre tratamiento y disposición final de desechos provenientes de actividades de acuicultura. (Publicado en página web 16-03-2021) (F.D.O. 16-03-2021) - SUBPESCA

Normativa. (2016, 20 marzo). SUBPESCA Normativa. <https://www.subpesca.cl/portal/615/w3-article-110257.html#:~:text=D.S.%20N%C2%B0%2064-2020%20Aprueba%20Reglamento%20que%20Establece%20Condiciones,P%C3%A1gina%20Web%2016-03-2021%29%20%28F.D.O.%2016-03-2021%29%20-%20SUBPESCA%20Normativa>

- Dickson, A. (1981). An exact definition of total alkalinity and a procedure for the estimation of alkalinity and total inorganic carbon from titration data. *Deep Sea Research Part A Oceanographic Research Papers*, 28(6), 609-623. [https://doi.org/10.1016/0198-0149\(81\)90121-7](https://doi.org/10.1016/0198-0149(81)90121-7)
- Duarte, C. M., Hendriks, I. E., Moore, T. S., Olsen, Y. S., Steckbauer, A., Ramajo, L., Carstensen, J., Trotter, J., & McCulloch, M. T. (2013). Is ocean acidification an Open-Ocean Syndrome? Understanding anthropogenic impacts on seawater pH. *Estuaries and Coasts*, 36(2), 221-236. <https://doi.org/10.1007/s12237-013-9594-3>
- Duarte, C., Navarro, J. A. R., Acuña, K., Torres, R., Manríquez, P. H., Lardies, M. A., Vargas, C. A., Lagos, N. A., & Aguilera, V. M. (2014). Intraspecific variability in the response of the edible mussel *Mytilus chilensis* (Hupe) to ocean acidification. *Estuaries and Coasts*, 38(2), 590-598. <https://doi.org/10.1007/s12237-014-9845-y>
- Ericson, J. A., & Ragg, N. L. C. (2021). Effects of crushed mussel, *Perna canaliculus*, shell enrichment on seawater carbonate buffering and development of conspecific larvae exposed to near-future ocean acidification. *Journal Of The World Aquaculture Society*, 53(1), 271-289. <https://doi.org/10.1111/jwas.12779>
- Eziefula, U. C., Okoli, B. E., & Nwakanma, C. (2018). Environmental impacts of shellfish waste decomposition in landfills. *Waste Management*, 75, 12-19. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.02.007>
- Feely, R. A., Sabine, C. L., Lee, K., Berelson, W. M., Kleypas, J., Fabry, V. J., & Millero, F. J. (2004). Impact of anthropogenic CO<sub>2</sub> on the CaCO<sub>3</sub> system in

- the oceans. *Science*, 305(5682), 362-366.  
<https://doi.org/10.1126/science.1097329>
- Felipe-Sesé, M. A., Eliche-Quesada, D., & Corpas-Iglesias, F. A. (2011). The use of solid residues derived from different industrial activities to obtain calcium silicates for use as insulating construction materials. *Ceramics International*, 37(8), 3019-3028. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2011.05.003>
- Findlay, H. S., Kendall, J., Spicer, J. I., & Widdicombe, S. (2009). Post-larval development of two intertidal barnacles at elevated CO<sub>2</sub> and temperature. *Marine Biology*, 157(4), 725-735. <https://doi.org/10.1007/s00227-009-1356-1>
- Gattuso, J.-P., Magnan, A. K., & Williamson, P. (2018). Ocean solutions to address climate change and its effects on marine ecosystems. *Frontiers in Marine Science*, 5, 337. <https://doi.org/10.3389/fmars.2018.00337>
- Gomez, F. A., Wanninkhof, R., Barbero, L., & Lee, S. (2021). Increasing River Alkalinity Slows Ocean Acidification in the Northern Gulf of Mexico. *Geophysical Research Letters*, 48(24). <https://doi.org/10.1029/2021gl096521>
- González-Poblete, E., Hurtado, F. C. F., Rojo, S. C., & Norambuena, C. R. (2018). Blue mussel aquaculture in Chile: small or large scale industry? *Aquaculture*, 493, 113-122. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.04.026>
- Green, M. A., Jones, M. E., Boudreau, C. L., Moore, R. L., & Westman, B. A. (2004). Dissolution mortality of juvenile bivalves in coastal marine deposits. *Limnology And Oceanography*, 49(3), 727-734. <https://doi.org/10.4319/lo.2004.49.3.0727>
- Green, M., Waldbusser, G. G., Hubazc, L., Cathcart, E., & Hall, J. C. (2012). Carbonate mineral saturation state as the recruitment cue for settling bivalves in marine muds. *Estuaries and Coasts*, 36(1), 18-27. <https://doi.org/10.1007/s12237-012-9549-0>
- Green, M., Waldbusser, G. G., Reilly, S. M., Emerson, K., & O'donnell, S. T. (2009). Death by dissolution: Sediment saturation state as a mortality factor for juvenile bivalves. *Limnology and Oceanography*, 54(4), 1037-1047. <https://doi.org/10.4319/lo.2009.54.4.1037>

- Greiner, R., Heron, S., & Hall, J. (2018). Ocean alkalinity enhancement using crushed shells: A pilot study. *Marine Ecology Progress Series*, 589, 45-58. <https://doi.org/10.3354/meps12489>
- Hickey, J.P., *Carbon sequestration potential of shellfish*. (2007, 14 julio). The Fish Site. <https://thefishsite.com/articles/carbon-sequestration-potential-of-shellfish>
- Inicio - IDE subdere. (2023, 11 mayo). IDE Subdere. [https://ide.subdere.gov.cl/?\\_ga=2.34901157.582702399.1689741050-1719763136.1689467554](https://ide.subdere.gov.cl/?_ga=2.34901157.582702399.1689741050-1719763136.1689467554)
- Jahnsen-Guzmán, N., Lagos, N. A., Lardies, M. A., Vargas, C., Fernández, C. H., Martín, V. S., Saavedra, L. M., Cuevas, L. E., Quijón, P. A., & Duarte, C. M. (2021). Environmental refuges increase performance of juvenile mussels *Mytilus chilensis*: Implications for mussel seedling and farming strategies. *Science of The Total Environment*, 751, 141723. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141723>
- Kidwell, S. M., & Jablonski, D. (1983). Taphonomic feedback Ecological consequences of shell accumulation. En *Topics in geobiology* (pp. 195-248). Springer Nature. [https://doi.org/10.1007/978-1-4757-0740-3\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-4757-0740-3_5)
- Kong, J., Cong, G., Ni, S., Sun, J., Guo, C., Chen, M., & Quan, H. (2022). Recycling of waste oyster shell and recycled aggregate in the porous ecological concrete used for artificial reefs. *Construction and Building Materials*, 323, 126447. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2022.126447>
- Kurihara, H. (2008). Effects of CO<sub>2</sub>-driven ocean acidification on the early developmental stages of invertebrates. *Marine Ecology Progress Series*, 373, 275-284. <https://doi.org/10.3354/meps07802>
- Kwon, H., Lee, C. G., Jun, B., Yun, J., Weon, S. Y., & Koopman, B. (2004). Recycling waste oyster shells for eutrophication control. *Resources Conservation and Recycling*, 41(1), 75-82. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2003.08.005>

- Lee, C., Kwon, H. M., Jeon, H. B., & Koopman, B. (2009). A new recycling material for removing phosphorus from water. *Journal of Cleaner Production*, 17(7), 683-687. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2008.11.019>
- Lee, J., Ryu, K. N., Ha, H. Y., Jung, K., & Lee, J. H. (2020). Techno-economic and environmental evaluation of nano calcium carbonate production utilizing the steel slag. *Journal of CO2 utilization*, 37, 113-121. <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2019.12.005>
- Li, G., Xu, X., Chen, E., Fan, J., & Xiong, G. (2015). Properties of cement-based bricks with oyster-shells ash. *Journal of Cleaner Production*, 91, 279-287. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.12.023>
- Lu, J., Lu, Z., Li, X., Xu, H., & Li, X. (2015). Recycling of shell wastes into nanosized calcium carbonate powders with different phase compositions. *Journal of Cleaner Production*, 92, 223-229. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.12.093>
- Mann, R. L. (s. f.). *Mann, Roger L. and Powell, Eric N., «Why Oyster Restoration Goals In The Chesapeake Bay Are Not And Probably Cannot Be Achieved» (2007). VIMS Articles. 438. W&M ScholarWorks.* [https://scholarworks.wm.edu/vimsarticles/438?utm\\_source=scholarworks.wm.edu%2Fvimsarticles%2F438&utm\\_medium=PDF&utm\\_campaign=PDFCoverPages](https://scholarworks.wm.edu/vimsarticles/438?utm_source=scholarworks.wm.edu%2Fvimsarticles%2F438&utm_medium=PDF&utm_campaign=PDFCoverPages)
- Martins, M., Santos, E. B., & Marques, C. (2017). First study on oyster-shell-based phosphorous removal in saltwater — a proxy to effluent bioremediation of marine aquaculture. *Science of The Total Environment*, 574, 605-615. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.09.103>
- Melzner, F., Thomsen, J., Koeve, W., Oschlies, A., Gutowska, M. A., Bange, H. W., Hansen, H. N., & Körtzinger, A. (2012). Future ocean acidification will be amplified by hypoxia in coastal habitats. *Marine Biology*, 160(8), 1875-1888. <https://doi.org/10.1007/s00227-012-1954-1>

- Middelburg, J. J., & Levin, L. A. (2009). Coastal hypoxia and sediment biogeochemistry. *Biogeosciences*, 6(7), 1273-1293. <https://doi.org/10.5194/bg-6-1273-2009>
- Ministerio de Medio Ambiente, Chile. (2022). *Generación de Residuos - Infograma*. <https://infogram.com/c-5-residuos-1h1749vgd797q6z?live>
- Mo, K. H., Alengaram, U. J., Jumaat, M. Z., Lee, S. C., Goh, W. I., & Yuen, C. W. (2018). Recycling of seashell waste in concrete: a review. *Construction and Building Materials*, 162, 751-764. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2017.12.009>
- Monneron-Gyurits, M., Joussein, E., Soubrand, M., Fondanèche, P., & Rossignol, S. (2018). Valorization of mussel and oyster shells toward metakaolin-based alkaline activated material. *Applied Clay Science*, 162, 15-26. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2018.05.027>
- Mos, B., Dworjanyn, S., & Byrne, M. (2019). Ocean acidification alters shell dissolution in a marine gastropod. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 512, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2019.01.003>
- Moustafa, H., Ahmed, M. Youssef., Sophie Duquesne, Nabila. A. Darwish. 2017. Characterization of bio-filler derived from seashell wastes and its effect on the mechanical, thermal, and flame retardant properties of ABS composites. (2015). *SPE-Inspiring Plastics Professionals*, 38(12), 2788-2797. <https://doi.org/10.1002/pc.23878>
- Murphy, J. G., & Kerton, F. M. (2017). Characterization and utilization of waste streams from mollusc aquaculture and fishing industries. En *John Wiley & Sons, Ltd eBooks* (pp. 189-227). <https://doi.org/10.1002/9781119117193.ch8>
- Nienhuis, S., Chuenpagdee, R., & Harley, C. D. G. (2010). Elevated CO<sub>2</sub> affects shell dissolution rate but not calcification rate in a marine snail. *Proceedings of The Royal Society B: Biological Sciences*, 277(1693), 2553-2558. <https://doi.org/10.1098/rspb.2010.0206>
- Núñez, D., Serrano, J. A., Mancisidor, A., Elgueta, E., Varaprasad, K., Oyarzún, P., Cáceres, R., Ide, W., & Rivas, B. L. (2019). Heavy metal removal from

- aqueous systems using hydroxyapatite nanocrystals derived from clam shells. *RSC Advances*, 9(40), 22883-22890. <https://doi.org/10.1039/c9ra04198b>
- Oakes, R. L., Peck, V. L., Manno, C., & Bralower, T. J. (2019). Degradation of Internal Organic Matter is the Main Control on Pteropod Shell Dissolution After Death. *Global Biogeochemical Cycles*, 33(6), 749-760. <https://doi.org/10.1029/2019gb006223>
- Objetivos de desarrollo sostenible | Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo.* (s. f.). UNDP. <https://www.undp.org/es/sustainable-development-goals>
- Olivia, M., Mifshella, A. A., & Darmayanti, L. (2015). Mechanical properties of seashell concrete. *Procedia Engineering*, 125, 760-764. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2015.11.127>
- Olivia, M., Oktaviani, R. ', & Ismeddiyanto. (2017). Properties of concrete containing ground waste cockle and clam seashells. *Procedia Engineering*, 171, 658-663. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2017.01.404>
- Orr, J. W., Fabry, V. J., Aumont, O., Bopp, L., Doney, S. C., Feely, R. A., Gnanadesikan, A., Gruber, N., Ishida, A., Joos, F., Key, R. M., Lindsay, K., Maier-Reimer, E., Matear, R. J., Monfray, P., Mouchet, A., Najjar, R. G., Plattner, G., Rodgers, K. B., . . . Yool, A. (2005). Anthropogenic ocean acidification over the twenty-first century and its impact on calcifying organisms. *Nature*, 437(7059), 681-686. <https://doi.org/10.1038/nature04095>
- Pascal, P., Fleeger, J. W., Galvez, F., & Carman, K. R. (2010). The toxicological interaction between ocean acidity and metals in coastal meiobenthic copepods. *Marine Pollution Bulletin*, 60(12), 2201-2208. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.08.018>
- Paz-Ferreiro, J., Trasar-Cepeda, C., Leirós, M. C., Seoane, S., & Gil-Sotres, F. (2010). Effect of management and climate on biochemical properties of grassland soils from Galicia (NW Spain). *European Journal of Soil Biology*, 46(2), 136-143. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2009.12.007>

- Paz-Ferreiro, J., Baez-Bernal, D., Insua, J. C., & Pomar, M. G. (2012). Effects of mussel shell addition on the chemical and biological properties of a cambisol. *Chemosphere*, 86(11), 1117-1121. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.12.009>
- Pierrot, D., Wallace, D., & Lewis, E. (2011). MS Excel Program Developed for CO2 System Calculations [Conjunto de datos]. En *Carbon Dioxide Information Analysis Center*. [https://doi.org/10.3334/cdiac/otg.co2sys\\_xls\\_cdiac105a](https://doi.org/10.3334/cdiac/otg.co2sys_xls_cdiac105a)
- Popović, N. T., Lorencin, V., Strunjak-Perović, I., & Čož-Rakovac, R. (2023). Shell Waste Management and Utilization: Mitigating organic pollution and enhancing sustainability. *Applied sciences*, 13(1), 623. <https://doi.org/10.3390/app13010623>
- Reglamento N°1069/2009 de la Unión Europea. (s. f.). <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2009/1069/oj>
- Reglamento sobre condiciones de salud y seguridad básicas en los rellenos sanitarios. *Biblioteca del Congreso Nacional*. (2005, agosto). [www.bcn.cl/leychile](https://www.bcn.cl/leychile). <https://www.bcn.cl/leychile/navegar?idNorma=268137>
- Salisbury, J., Green, M., Hunt, C., & Campbell, J. W. (2008). Coastal acidification by Rivers: A threat to shellfish? *Eos, Transactions American Geophysical Union*, 89(50), 513. <https://doi.org/10.1029/2008eo500001>
- Servicio Hidrográfico y Oceanográfico de la Armada de Chile. Temperatura Superficial del Mar - Datos en Tiempo Real. <https://www.shoa.cl/php/index.php>
- Southworth, M., Harding, J. M., Wesson, J., & Mann, R. (2010). Oyster (*Crassostrea Virginica*, GMelin 1791) Population dynamics on public reefs in the Great Wicomico River, Virginia, USA. *Journal of Shellfish Research*, 29(2), 271-290. <https://doi.org/10.2983/035.029.0202>
- Sunday, J. M., Crim, R. N., Harley, C. D. G., & Hart, M. (2011). Quantifying Rates of Evolutionary Adaptation in Response to Ocean Acidification. *Springer Link*, 6(8), e22881. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022881>

- Smith, A. M., Key, M. M., Henderson, Z. E., Davis, V. C., & Winter, D. J. (2016). Pretreatment For Removal of Organic Material Is Not Necessary For X-Ray-Diffraction Determination of Mineralogy In Temperate Skeletal Carbonate. *Journal Of Sedimentary Research*, 86(12), 1425-1433. <https://doi.org/10.2110/jsr.2016.86>
- Takahashi, T., Sutherland, S. C., Wanninkhof, R., Sweeney, C., Feely, R. A., Chipman, D. W., Hales, B., Friederich, G., Chavez, F., Sabine, C., Watson, A., Bakker, D. C., Schuster, U., Metzl, N., Yoshikawa-Inoue, H., Ishii, M., Midorikawa, T., Nojiri, Y., Körtzinger, A., . . . De Baar, H. J. (2008). Climatological mean and decadal change in surface ocean pCO<sub>2</sub>, and net sea–air CO<sub>2</sub> flux over the global oceans. *Deep Sea Research Part II Topical Studies In Oceanography*, 56(8-10), 554-577. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2008.12.009>
- Tunnicliffe, V., Davies, K. T. A., Butterfield, D. A., Embley, R. W., Rose, J., & Chadwick, W. W. (2009). Survival of mussels in extremely acidic waters on a submarine volcano. *Nature Geoscience*, 2(5), 344-348. <https://doi.org/10.1038/ngeo500>
- Vélez-Henao, J., Weinland, F., & Reintjes, N. (2021). Life Cycle Assessment of Aquaculture Bivalve shellfish Production — A Critical review of methodological trends. *International Journal of Life Cycle Assessment*, 26(10), 1943-1958. <https://doi.org/10.1007/s11367-021-01978-y>
- Waldbusser, G. G., Powell, E. N., & Mann, R. (2013). Ecosystem effects of shell aggregations and cycling in coastal waters: An example of Chesapeake Bay Oyster Reefs. *Ecology*, 94(4), 895-903. <https://doi.org/10.1890/12-1179.1>
- Waldbusser, G. G., & Salisbury, J. E. (2014). Ocean Acidification in the Coastal Zone from an Organism's Perspective: Multiple System Parameters, Frequency Domains, and Habitats. *Annual Review Of Marine Science*, 6(1), 221-247. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-121211-172238>
- Wallace, R. M., Baumann, H., Grear, J. S., Aller, R. C., & Gobler, C. J. (2014). Coastal ocean acidification: the other eutrophication problem. *Estuarine*

*Coastal and Shelf Science*, 148, 1-13.  
<https://doi.org/10.1016/j.ecss.2014.05.027>

Widdicombe, S., Dashfield, S., McNeill, C. L., Needham, H. R., Beesley, A. H., McEvoy, A. W., Øxnevad, S., Clarke, K., & Berge, J. (2009). Effects of CO<sub>2</sub> induced seawater acidification on infaunal diversity and sediment nutrient fluxes. *Marine Ecology Progress Series*, 379, 59-75.  
<https://doi.org/10.3354/meps07894>

Wolf-Gladrow, D., Zeebe, R. E., Klaas, C., Körtzinger, A., & Dickson, A. G. (2007). Total alkalinity: the explicit conservative expression and its application to biogeochemical processes. *Marine Chemistry*, 106(1-2), 287-300.  
<https://doi.org/10.1016/j.marchem.2007.01.006>

Yevenes, M. A., Lagos, N. A., Farías, L., & Vargas, C. A. (2019). Greenhouse gases, nutrients and the carbonate system in the Reloncaví Fjord (Northern Chilean Patagonia): Implications on aquaculture of the mussel, *Mytilus chilensis*, during an episodic volcanic eruption. *The Science Of The Total Environment*, 669, 49-61. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.037>

Zeebe, Richard. E., Wolf-Gladrow, Dieter., *ELSEVIER Oceanography Series | CO<sub>2</sub> in Seawater: Equilibrium, Kinetics, Isotopes | ScienceDirect.com by Elsevier*. (2001). <https://www.sciencedirect.com/bookseries/elsevier-oceanography-series/vol/65/suppl/C>