

Universidad Nacional, Costa Rica  
Sede Regional Chorotega  
Campus Liberia

Título

**“Determinación de la ecotoxicidad de aguas residuales para la gestión de calidad de las descargas de una planta de tratamiento residencial como caso de estudio en San Rafael de Heredia, Costa Rica”**

Informe final de proyecto de graduación para optar por el grado de Licenciatura en  
Ingeniería Hidrológica

**Sustentantes**

Génesis María Villegas Ramírez

504320110

Mary Cruz Aguilar Herrera

117790355

**Equipo supervisor:**

Dra. María de Jesús Arias Andrés

Universidad Nacional, Costa Rica

Ing. Luis Navarro Vargas

Empresa de Servicios Públicos de Heredia, Costa Rica

Dr. Ronald Sánchez Brenes

Universidad Nacional, Costa Rica

Ciudad de Liberia, Guanacaste, Costa Rica

Febrero, 2024

**Acta del tribunal evaluador**

Liberia, Guanacaste.

Febrero, 2024.

Integrantes Tribunal Evaluador

---

Dra. María de Jesús Arias Andrés

Tutora

---

Ing. Luis Navarro Vargas

Lector

---

Dr. Ronald Sánchez Brenes

Lector

---

Dr. Fernando Gutiérrez Coto

Representante de Decanter

---

Dra. Darinka Grbic Grbic

Representante de Dirección Académica, Campus Liberia

## **Agradecimientos**

A nuestra tutora Dra. María de Jesús Arias Andrés y lectores Ing. Luis Navarro Vargas y Dr. Ronald Sánchez Brenes por sus virtudes, paciencia y apoyo en este trabajo que nos permitieron lograr lo propuesto gracias a sus aportes profesionales.

A la Universidad Nacional por ser mi casa de estudio durante los años de formación académica permitiéndome crecer como profesional y como persona a través de todas las experiencias vividas.

Al Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas por abrirme las puertas y permitirme llevar a cabo mi proyecto en sus instalaciones y a su personal del Laboratorio de Ecotoxicología por acogerme y apoyarme siempre que lo necesité a lo largo mi experiencia en este instituto. A la Empresa de Servicios Públicos de Heredia por permitirnos llevar a cabo este proyecto en conjunto y brindarnos el apoyo necesario para poder ejecutar nuestro proyecto.

A mis padres y hermanos quienes han sido la pieza fundamental que desde el día uno ha hecho posible mi formación académica gracias su apoyo incondicional, por ser mis mejores guías y estar siempre a mi lado sobre todo en los momentos más difíciles dándome aliento para seguir alcanzando mis metas.

Génesis María Villegas Ramírez.

A mis padres por el sacrificio, voluntad, paciencia, apoyo y amor que me han brindado a través de toda mi vida y a lo largo de mi carrera universitaria, así mismo, a mi hermana por escucharme y alentarme siempre a seguir adelante, y recordarme siempre lo valiosa que soy.

A mis amigos por ser un apoyo incondicional en los momentos que creía todo fútil, a mis compañeros de la universidad, que a lo largo de la carrera se convirtieron en amigos, los cuales me hicieron sentir como en un segundo hogar y me acompañaron, orientaron y ayudaron en todo el proceso.

A todos los profesores que, a lo largo de la carrera me han dejado miles de enseñanzas para crecer como persona, y profesional. Al IRET y a ESPH, por abrimos sus puertas y su disposición en colaborar con nuestro proyecto.

Mary Cruz Aguilar Herrera.

### **Dedicatoria**

Dedico este proyecto a mis padres por su amor y apoyo incondicional que me permiten llegar a este momento de mi formación profesional, a mis hermanos por brindarme su apoyo y consejos en todo momento que lo necesité. Hoy dedico este logro a ustedes como una meta más cumplida.

Génesis María Villegas Ramírez

Este proyecto está dedicado a mis padres y a mi hermana, quienes han estado presentes cada segundo de mi vida, apoyándome y alentándome a seguir adelante, estando presente en cada logro. Que Dios y la vida les devuelva todo lo bueno que han hecho por mí.

Mary Cruz Aguilar Herrera

## Resumen

El presente proyecto aborda la determinación de la ecotoxicidad de las aguas residuales domiciliarias, como herramienta potencial para la gestión de la calidad de las descargas de una planta de tratamiento residencial como caso de estudio en San Rafael de Heredia, Costa Rica. La aplicación de bioensayos de toxicidad en aguas residuales, mediante la exposición de organismos representativos del ecosistema acuático, permiten determinar el potencial tóxico de los efluentes de una planta de tratamiento, y con ello generar información base para una adecuada gestión de las descargas. A partir de su uso en el manejo se pueden proteger a los ecosistemas, sus organismos y la salud humana de los efectos negativos que pueden causar las sustancias tóxicas.

En este estudio, se realizó una recopilación previa de información característica de la operabilidad de una Planta de Tratamiento de Aguas Residuales domiciliarias (PTAR). Se seleccionaron y cultivaron tres organismos representativos del ecosistema acuático como organismos de prueba para bioensayos: una hidra, un crustáceo y una planta acuática. Se realizaron cuatro muestreos de las descargas de la PTAR durante dos meses, y se ejecutaron pruebas de toxicidad aguda durante cada muestreo utilizando las tres especies. Se determinaron los porcentajes de toxicidad de los efluentes a partir de los resultados de las pruebas realizadas. Se llevó a cabo la estimación de posibles riesgos en el ecosistema acuático considerando las sustancias comúnmente utilizadas en los hogares, y finalmente fueron examinadas las posibles necesidades de gestión en conjunto con gestores del agua en el caso de estudio.

Los porcentajes de las pruebas aplicadas a la especie *Hydra viridissima* (Cnidaria) resultaron en una afectación nula (0%) durante los cuatro muestreos por parte de las aguas a diferentes concentraciones sobre los organismos vivos los cuales no presentaron algún cambio morfológico ni mortalidad al ser expuestos. El organismo *Macrothrix elegans* fue el más sensible ante la exposición a los efluentes resultando el porcentaje más alto durante el segundo muestreo con un valor de 20% de mortalidad de la muestra sobre este organismo acuático. Los resultados de las pruebas aplicadas a la planta acuática *Lemna minor* mostraron una variación de efectos inhibitorios y estimulantes del crecimiento, demostrando que para algunas concentraciones específicas el agua residual favorece el crecimiento de este productor primario.

Los parámetros fisicoquímicos de los efluentes de la planta de tratamiento durante el periodo de estudio se encontraron dentro del rango establecido en la legislación nacional. El

tratamiento de las aguas residuales disminuye considerablemente la carga tóxica de las descargas, sin embargo, en los efluentes aún existe presencia de contaminantes emergentes con potencial tóxico sobre algunos organismos acuáticos. Los resultados de las pruebas con *Lemna minor* indican presencia de nutrientes en los efluentes que estimulan su producción de biomasa.

**Palabras claves:** agua residual, bioensayos, ecosistema acuático, sustancias tóxicas, toxicidad aguda.

## Abstract

This project addresses the determination of the ecotoxicity of domestic wastewater as a potential tool for managing the quality of discharges from a residential treatment plant as a case study in San Rafael de Heredia, Costa Rica. The application of toxicity bioassays in wastewater, through the exposure of representative organisms of the aquatic ecosystem, allows the toxic potential of the effluents of a treatment plant to be determined, and thereby generate base information for adequate management of discharges. Through its use in management, ecosystems, their organisms and human health can be protected from the negative effects that toxic substances can cause.

In this study, a prior collection of characteristic information on the operability of a domestic wastewater treatment plant (WWTP) was carried out. Three representative organisms of the aquatic ecosystem were selected and cultured as test organisms for bioassays: a hydra, a crustacean, and an aquatic plant. Four samplings of WWTP discharges were carried out over two months and acute toxicity tests were run during each sampling using the three species. The toxicity percentages of the effluents were determined from the results of the tests carried out. The estimation of possible risks in the aquatic ecosystem was carried out considering the substances commonly used in homes and finally the possible management needs were examined in conjunction with water managers in the case study.

The percentages of the tests applied to the species *Hydra viridissima* (Cnidaria) resulted in zero affectation (0%) during the four samplings by the waters at different concentrations on the living organisms which did not present any morphological change or mortality when being exposed. The organism *Macrothrix elegans* was the most sensitive to exposure to effluents, resulting in the highest percentage during the second sampling with a value of 20% mortality of the sample on this aquatic organism. The results of the tests applied to the aquatic plant *Lemna minor* showed a variation of inhibition and stimulation of reproduction, demonstrating that for some specific concentrations the wastewater favors the growth of this primary producer.

The physicochemical parameters of the treatment plant effluents during the study period were within the range established in national legislation. The treatment of wastewater considerably reduces the toxic load of the discharges, however, in the effluents there is still the presence of emerging contaminants with toxic potential for some aquatic organisms. The results of the tests

with *Lemna minor* indicate the presence of nutrients in the effluents that stimulate its biomass production.

**Keywords:** wastewater, bioassays, aquatic ecosystem, toxic substances, acute toxicity.

## Índice de contenido

Capítulo 1. Introducción .....	1
1.1. Introducción .....	1
1.2. Declaración del problema.....	3
1.3. Justificación.....	4
1.4. Objetivos .....	6
1.4.1. Objetivo General.....	6
1.4.2. Objetivos Específicos.....	6
1.5. Alcances y limitaciones.....	7
1.6. Resumen del reporte.....	9
Capítulo 2. Antecedentes .....	10
2.1. Introducción .....	10
2.2. Descripción de la zona de estudio .....	10
2.2.1. Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Residencial como Caso de Estudio.....	10
2.3. Empresa de Servicios Públicos de Heredia .....	14
2.4. Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas .....	14
2.5. Estudios Previos .....	15
Capítulo 3. Marco Teórico .....	16
3.1. Aguas Residuales .....	16
3.1.1. Aguas residuales domésticas (o aguas de tipo ordinario) .....	16
3.2. Planta de Tratamiento de Aguas Residuales .....	16
3.2.1. Efluente .....	17
3.2.2. Cuerpo receptor.....	18
3.3. Contaminantes emergentes.....	18
3.4. Ecosistema Acuático .....	19
3.4.1. Organismos acuáticos .....	20
3.5. Ecotoxicología.....	20
3.5.1. Toxicidad.....	21
3.6. Bioensayos de toxicidad.....	21
3.6.1. Pruebas de toxicidad aguda.....	21
3.6.2. Pruebas de toxicidad con efluentes .....	21
3.6.3. Efectos letales y subletales.....	22

Capítulo 4. Estudios de Prefactibilidad.....	24
4.1. Estudio técnico .....	24
4.1.1. Localización geográfica del proyecto y contexto .....	24
4.1.2. Capacitación en laboratorio .....	24
4.1.3. Procesos de producción y requerimientos técnicos .....	25
4.2. Estudio financiero .....	26
4.3. Estudio social .....	27
4.4. Estudio legal.....	28
4.5. Estudio ambiental.....	30
Capítulo 5. Metodología .....	32
5.1. Descripción general de la metodología .....	32
5.2. Población y muestra de estudio.....	32
5.3. Métodos y herramientas seleccionadas .....	32
5.3.1. Para obtención de datos .....	32
5.3.2. Para procesamiento de datos.....	43
5.3.3. Para interpretación de datos .....	44
5.3.4. Para validación de datos.....	44
5.4. Otros aspectos para considerar.....	46
5.4.1. Presupuesto .....	46
5.4.2. Cronograma de actividades.....	48
5.4.3. Ruta crítica .....	49
5.4.4. Ética en la investigación .....	49
Capítulo 6. Resultados .....	51
6.1. Caracterización operativa de la PTAR.....	51
6.1.1. Descripción general del sistema de tratamiento de aguas residuales.....	51
6.1.2. Caracterización del cuerpo receptor.....	54
6.2. Resultados de las pruebas de toxicidad aguda .....	55
6.2.1. Pruebas de toxicidad aplicadas a <i>Hydra viridissima</i> .....	55
6.2.2. Pruebas de toxicidad aplicadas a <i>Macrothrix elegans</i> .....	57
6.2.3. Pruebas de toxicidad aplicadas a <i>Lemna minor</i> .....	59
6.3. Cálculo de la dilución del efluente en el cuerpo receptor .....	61
6.4. Discusión de resultados.....	62

6.4.1. Discusión de principales hallazgos .....	62
6.5. Discusión de resultados en función de los objetivos del proyecto .....	77
6.6. Discusión de resultados en función de la metodología implementada.....	77
Capítulo 7. Conclusiones y recomendaciones .....	80
7.1. Conclusiones generales .....	80
7.1.1. Conclusiones por objetivos específicos .....	81
7.2. Recomendaciones generales.....	82
7.2.1. Recomendaciones por objetivos específicos.....	83
Referencias.....	85
Anexos .....	92

## Índice de Figuras

Figura 2.1. Planta de Tratamiento de aguas residuales en estudio ubicada en San Rafael de Heredia, Costa Rica. ....	10
Figura 2.2. Mapa de ubicación de la planta de tratamiento de aguas residuales en estudio en San Rafael de Heredia, Costa Rica. ....	11
Figura 2.3. Reactor biológico aerobio de la PTAR.....	12
Figura 2.4. Sedimentador secundario de la PTAR.....	12
Figura 2.5. Lecho de secado de lodos de la PTAR. ....	13
Figura 2.6. Cuerpo receptor de la PTAR. ....	14
Figura 3.1. Planta de tratamiento de aguas residuales de estudio. ....	17
Figura 3.2. Punto de muestreo de los efluentes de la planta de tratamiento de estudio.....	18
Figura 3.3. Bioensayo de toxicidad aguda con efluentes de aguas residuales aplicado a la especie <i>Lemna minor</i> . ....	22
Figura 3.4. Efectos letales y subletales en la especie <i>Hydra viridissima</i> ante la exposición a un agente contaminante.....	23
Figura 5.1. Especies representativas del ecosistema acuático seleccionadas como organismos de prueba.....	34
Figura 5.2. Punto de muestreo de las aguas residuales en la PTAR en San Rafael de Heredia. ..	38
Figura 5.3. Diseño metodológico empleado. ....	45
Figura 5.4. Diagrama de la metodología implementada según las etapas del proyecto. ....	46
Figura 6.1. Ejemplo de toma de muestra del reactor biológico para la medición volumétrica y control de la concentración de biomasa. ....	52
Figura 6.2. Punto de vertido de los efluentes de la planta de tratamiento al Río Bermúdez. ....	54
Figura 6.3. Organismos de <i>Hydra viridissima</i> en estado normal al ser expuestos a las aguas residuales de la PTAR.....	57
Figura 6.4. Prueba de toxicidad aplicada a <i>Macrothrix elegans</i> con diferentes concentraciones de los efluentes de la PTAR.....	59
Figura 6.5. Prueba de toxicidad aplicada a <i>Lemna minor</i> con diferentes concentraciones de los efluentes de la PTAR. ....	61
Figura 6.6. Reproducción de <i>Lemna minor</i> ante la exposición a los efluentes de la PTAR.....	66
Figura 6.7. Punto de vertido directo por parte de viviendas aledañas en el cuerpo receptor.....	69
Figura 6.8. Punto de contaminación identificado en el cauce del cuerpo receptor.....	70

## Índice de Cuadros

Cuadro 4.1. Estrategias para conocer el contexto de la operación de la PTAR.....	24
Cuadro 4.2. Estrategias para adquirir conocimientos sobre pruebas de toxicidad aguda en laboratorio.....	25
Cuadro 4.3. Equipo de medición necesario para el desarrollo del proyecto.....	25
Cuadro 4.4. Requerimientos y materiales necesarios para la ejecución de las pruebas de toxicidad aguda.....	26
Cuadro 4.5. Marco regulador en relación con el análisis de la ecotoxicidad de las aguas residuales de la PTAR en San Rafael de Heredia, Costa Rica.....	29
Cuadro 5.1. Componentes de los reactivos requeridos para la preparación del medio de cultivo de <i>Hydra viridissima</i> .....	35
Cuadro 5.2. Nutrientes requeridos para la preparación de 2L de medio de cultivo para <i>Macrothrix elegans</i> . ....	36
Cuadro 5.3. Soluciones requeridas para la preparación de 1L de medio de cultivo para <i>Lemna minor</i> . ....	37
Cuadro 5.4. Reactivos requeridos para la preparación de 1L de medio de cultivo para <i>Lemna minor</i> . ....	37
Cuadro 5.5. Reactivos necesarios para la preparación de soluciones buffer en la prueba de toxicidad con <i>Hydra viridissima</i> .....	39
Cuadro 5.6. Porcentajes de concentración de la muestra de agua residual para las diferentes soluciones de la prueba de toxicidad aguda para <i>Hydra viridissima</i> . ....	40
Cuadro 5.7. Reactivos necesarios para la preparación de los controles positivo y negativo en la prueba de toxicidad con <i>Hydra viridissima</i> . ....	40
Cuadro 5.8. Porcentajes de concentración de la muestra de agua residual para las diferentes soluciones de la prueba de toxicidad aguda para <i>Macrothrix elegans</i> .....	41
Cuadro 5.9. Reactivos necesarios para la preparación de los controles positivo y negativo en la prueba de toxicidad con <i>Macrothrix elegans</i> .....	42
Cuadro 5.10. Reactivos necesarios para la preparación de los controles positivo y negativo en la prueba de toxicidad con <i>Macrothrix elegans</i> . ....	42
Cuadro 5.11. Reactivos necesarios para la preparación de los controles positivo y negativo en la prueba de toxicidad con <i>Macrothrix elegans</i> . ....	43
Cuadro 5.12. Cronograma de actividades del proyecto. ....	48
Cuadro 5.13. Ruta crítica del proyecto. ....	49
Cuadro 6.1. Parámetros de diseño de la planta de tratamiento. ....	52
Cuadro 6.2. Eficiencia del sistema de la planta de tratamiento de estudio. ....	53
Cuadro 6.3. Parámetros fisicoquímicos medidos en campo de la planta de tratamiento.....	53

Cuadro 6.4. Caudales medidos en el cuerpo receptor.....	54
Cuadro 6.5. Porcentajes de subletalidad de la muestra de agua residual a diferentes concentraciones de los efluentes de la PTAR para <i>Hydra viridissima</i> .....	55
Cuadro 6.6. Porcentajes de letalidad de la muestra de agua residual a diferentes concentraciones de los efluentes de la PTAR para <i>Hydra viridissima</i> .....	56
Cuadro 6.7. Porcentajes de letalidad de la muestra de agua residual a diferentes concentraciones de los efluentes de la PTAR para <i>Macrothrix elegans</i> . ....	58
Cuadro 6.8. Porcentajes de inhibición del crecimiento de la muestra de agua residual a diferentes concentraciones de los efluentes de la PTAR para <i>Lemna minor</i> . ....	60
Cuadro 6.9. Comparación de porcentajes de toxicidad en estudios previos para <i>Hydra viridissima</i> respecto a resultados actuales. ....	67
Cuadro 6.10. Comparación de porcentajes de toxicidad para <i>Macrothrix elegans</i> en estudios previos respecto a resultados actuales.....	68
Cuadro 6.11. Parámetros fisicoquímicos de los efluentes de la PTAR de estudio respecto a los límites establecidos en la legislación nacional.....	71

## Índice de anexos

Anexo 4.1. Costos directos, indirectos y otros del proyecto.....	92
Anexo 4.2. Reunión mediante modalidad remota con actores clave del proyecto. ....	93
Anexo 5.1. Procedimiento para el mantenimiento del cultivo de <i>Hydra attenuata</i> adaptado para <i>Hydra viridissima</i> .....	93
Anexo 5.2. Nutrientes requeridos para la preparación de medio de cultivo para <i>Macrothrix elegans</i> . .....	94
Anexo 5.3. Procedimiento para la aplicación de una prueba de toxicidad aguda con <i>Hydra attenuata</i> adaptado para <i>Hydra viridissima</i> . ....	94
Anexo 5.4. Cultivo de <i>Macrothrix elegans</i> para ser empleado en pruebas toxicidad. ....	95
Anexo 5.5. Cultivo de <i>Lemna minor</i> para ser empleado en pruebas toxicidad. ....	95
Anexo 5.6. Presupuesto del proyecto distribuido por etapas. ....	96
Anexo 6.1. Resultados después de 24h de la prueba de toxicidad aguda para <i>Hydra viridissima</i> con la muestra tomada de los efluentes de la PTAR en Muestreo #1.....	98
Anexo 6.2. Resultados después de 48h de la prueba de toxicidad aguda para <i>Hydra viridissima</i> con la muestra tomada de los efluentes de la PTAR en Muestreo #1.....	99
Anexo 6.3. Resultados después de 24h de la prueba de toxicidad aguda para <i>Hydra viridissima</i> con la muestra tomada de los efluentes de la PTAR en Muestreo #2.....	100
Anexo 6.4. Resultados después de 48h de la prueba de toxicidad aguda para <i>Hydra viridissima</i> con la muestra tomada de los efluentes de la PTAR en Muestreo #2.....	101
Anexo 6.5. Resultados después de 24h de la prueba de toxicidad aguda para <i>Hydra viridissima</i> con la muestra tomada de los efluentes de la PTAR en el muestreo #3. ....	102
Anexo 6.6. Resultados después de 48h de la prueba de toxicidad aguda para <i>Hydra viridissima</i> con la muestra tomada de los efluentes de la PTAR en el muestreo #3. ....	103
Anexo 6.7. Resultados después de 24h de la prueba de toxicidad aguda para <i>Hydra viridissima</i> con la muestra tomada de los efluentes de la PTAR en el muestreo #4. ....	104
Anexo 6.8. Resultados después de 48h de la prueba de toxicidad aguda para <i>Hydra viridissima</i> con la muestra tomada de los efluentes de la PTAR en el muestreo #4. ....	105
Anexo 6.9. Cambios morfológicos en <i>Hydra viridissima</i> ante la exposición a sustancias tóxicas. .....	106
Anexo 6.10. Resultados después de 24h de la prueba de toxicidad aguda para <i>Macrothrix elegans</i> con la muestra tomada de los efluentes de la PTAR en el muestreo #2. ....	107
Anexo 6.11. Resultados después de 48h de la prueba de toxicidad aguda para <i>Macrothrix elegans</i> con la muestra tomada de los efluentes de la PTAR en el muestreo #2. ....	108
Anexo 6.12. Resultados después de 24h de la prueba de toxicidad aguda para <i>Macrothrix elegans</i> con la muestra tomada de los efluentes de la PTAR en el muestreo #3. ....	109

Anexo 6.13. Resultados después de 48h de la prueba de toxicidad aguda para <i>Macrothrix elegans</i> con la muestra tomada de los efluentes de la PTAR en el muestreo #3. ....	110
Anexo 6.14. Resultados después de 24h de la prueba de toxicidad aguda para <i>Macrothrix elegans</i> con la muestra tomada de los efluentes de la PTAR en el muestreo #4. ....	111
Anexo 6.15. Resultados después de 48h de la prueba de toxicidad aguda para <i>Macrothrix elegans</i> con la muestra tomada de los efluentes de la PTAR en el muestreo #4. ....	112
Anexo 6.16. Resultados de la prueba de toxicidad aguda para <i>Lemna minor</i> en el muestreo #1. ....	113
Anexo 6.17. Resultados de la prueba de toxicidad aguda para <i>Lemna minor</i> en el muestreo #2. ....	114
Anexo 6.18. Resultados de la prueba de toxicidad aguda para <i>Lemna minor</i> en el muestreo #3. ....	115
Anexo 6.19. Resultados de la prueba de toxicidad aguda para <i>Lemna minor</i> en el muestreo #4. ....	116
Anexo 6.20. Puntos de contaminación identificados en el tramo del río Bermúdez cercano al punto de vertido de la PTAR.....	117
Anexo 6.22. Reunión en modalidad remota con actores clave del proyecto de la Empresa de Servicios Públicos de Heredia para actualización de resultados y discusión para el cumplimiento del objetivo tres.....	118

## Lista de Siglas

### Siglas

CE: Contaminantes Emergentes

ESPH: Empresa de Servicios Públicos de Heredia

IRET: Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas

PTAR: Planta de Tratamiento de Aguas Residuales

ROP: Reporte Operacional

QACs: Compuestos de Amonio Cuaternario

## Capítulo 1. Introducción

### 1.1. Introducción

El agua constituye un líquido vital, necesario e indispensable para la supervivencia de los seres humanos. Es un factor clave para las actividades cotidianas, domésticas, industriales, ganaderas y agrícolas. La degradación de este recurso ha ido en aumento y se le ha sumado a esto, el bajo perfil en cuanto al interés por tratar las aguas residuales; que tienen un alto impacto nocivo en los cuerpos de agua y que han incidido en la calidad de vida de la población (Macloni, 2014).

A lo largo de los años, las descargas de las aguas residuales sin tratamiento previo a los cuerpos de agua han ido dejando en ellos cargas de químicos, colorantes, materia orgánica, aguas negras u otros, que han provocado una problemática para dichos cuerpos y la salud humana. En el caso de las aguas residuales domésticas u ordinarias, según Glynn y Heinke (1999), incluyen residuos que provienen de baños, cocinas, regaderas y lavanderías, que normalmente van al drenaje público y se envían a algún sitio de disposición final. Son una mezcla compleja con contaminantes orgánicos e inorgánicos tanto en material en suspensión como disueltos.

En este contexto, según el Reglamento de Vertido y Reuso de Aguas Residuales (Nº 33601), la contaminación de los cuerpos de agua favorece la proliferación de enfermedades de transmisión hídrica, reduce el número de fuentes disponibles, eleva los costos para el abastecimiento de agua para consumo humano, y pone en peligro de extinción a muchas especies de nuestra flora y fauna. Es por ello que, para una mejor calidad de vida de las futuras generaciones, debemos proteger las aguas nacionales y reducir los altos índices de contaminación. Por esta razón, se ha implementado durante los últimos años los sistemas de tratamiento de aguas residuales y las mejoras en su operación a través de un esfuerzo grande de país, para disminuir esta carga de contaminantes.

Aunque el Reglamento de Vertido y Reuso de aguas Residuales establece parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de carácter obligatorio que deben ser analizados en las aguas residuales que se viertan en un cuerpo receptor, existe una serie de contaminantes emergentes que no son eliminados por completo en los sistemas de tratamiento de agua residual, y que pueden tener un efecto en el ecosistema acuático. De acuerdo con Gil et al. (2012), los contaminantes emergentes comprenden una amplia gama de compuestos químicos, productos farmacéuticos, productos de cuidado personal, agentes tensoactivos, plastificantes y aditivos industriales, que no

están incluidos en el monitoreo actual de programas de tratamiento de aguas. También incluyen la síntesis de nuevos compuestos químicos o cambios en el uso y disposición de los productos químicos ya existentes, de los cuales existe una limitada información disponible sobre el efecto que puede causar en la salud humana y en la ecología.

Con el fin de proteger a los organismos, los ecosistemas y la salud humana de los efectos negativos que pueden causar las sustancias tóxicas, es necesario regular directamente las fuentes de contaminación (Planes et al, 2015). Para esto, una herramienta son los bioensayos de toxicidad, los cuales permiten mediante la exposición de organismos representativos del ecosistema acuático, por ejemplo, los diferentes niveles tróficos, determinar el potencial tóxico de los efluentes de una planta de tratamiento, generando así información base para una adecuada gestión de las descargas.

La exposición de los organismos a compuestos tóxicos da lugar a una serie de cambios morfológicos que dependen de la concentración y que pueden producir la muerte de los individuos. Por consiguiente, se han seleccionado especies representativas del ecosistema acuático para evaluar los efectos tóxicos agudos de los efluentes de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de un Residencial en San Rafael de Heredia, Costa Rica sobre estos organismos, en respuesta a los agentes tóxicos presentes en la muestra ambiental como una medida de la calidad.

## **1.2. Declaración del problema**

A lo largo del tiempo se ha logrado identificar diferentes problemáticas en el territorio nacional en el ámbito del recurso hídrico debido principalmente a una mala gestión de los residuos domiciliarios. En su mayoría, estos no cuentan con una adecuada disposición de los desechos de productos, como, por ejemplo, aquellos de limpieza, cuidado personal y fármacos.

Se ha identificado recientemente que, aunque los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de los efluentes de un sistema de saneamiento de aguas residuales se encuentren dentro del rango establecido en el Reglamento y Vertido de Reuso de Aguas, este Decreto N° 33601-MINAE-S (2007) no incluye evaluar la toxicidad. Es decir, no se logra evaluar el riesgo directo que implican la mezcla compleja de los residuos de sustancias con potencial tóxico en los organismos del ecosistema acuático de los cuerpos receptores y la calidad de sus aguas. Además, se identifica una falta de información técnica que establezca los niveles de toxicidad de la mezcla de sustancias posiblemente tóxicas en las descargas de los sistemas de tratamiento a fin de que, no exista alteración significativa en la calidad del ecosistema acuático. En este caso, un análisis puntual previo en la toxicidad de los efluentes de la planta de tratamiento en estudio mostró la necesidad de realizar un monitoreo en los niveles de toxicidad de estas aguas residuales con una mayor extensión, lo cual se pretende en este proyecto.

### 1.3. Justificación

A causa del desarrollo humano y la industrialización, existen una gran cantidad de sustancias químicas que cotidianamente son fabricadas, utilizadas y posteriormente liberadas al medio ambiente a través de las descargas de aguas residuales, donde se distribuyen a través del agua, aire y suelo, exponiendo a los ecosistemas a concentraciones de estos compuestos que pueden alterar la calidad de los cuerpos de agua y resultar tóxicos para diversos organismos (Schwarzenbach et al., 2006). A continuación, se argumentará de las sustancias químicas presentes en las aguas residuales, el efecto que tienen los contaminantes emergentes en los organismos del ecosistema acuático y la importancia de implementar bioensayos de toxicidad para una buena gestión de la calidad del agua.

En primer lugar, las aguas residuales domiciliarias contienen una gran variedad de sustancias químicas que repercuten en la operabilidad de las plantas de tratamiento, así como en el potencial tóxico de las descargas finales. En Costa Rica, los análisis realizados a las descargas o vertidos son mediciones principalmente fisicoquímicas o microbiológicas, y no evalúan el riesgo directo para los organismos del ecosistema acuático en los cuerpos receptores de agua. En contraposición, la clasificación de la calidad de los cuerpos de agua superficial sí utiliza un índice ecológico además del físico químico, denominado BMWP-CR (Biological Monitoring Working Party modificado para Costa Rica por Astorga, Martínez Springer y Flowers) (Apéndice III, Decreto N° 33903-MINAE-S, 2007). Este se basa en la sumatoria de las puntuaciones asignadas a los distintos taxones encontrados en las muestras de macroinvertebrados. Por otro lado, si bien las plantas de tratamiento no son diseñadas para disminuir la carga de contaminantes químicos, lo cierto es que se sabe que en general tienen un efecto sobre disminuir la carga tóxica, respecto a las aguas no tratadas.

En segundo lugar, la liberación de distintas sustancias tóxicas en los ecosistemas acuáticos produce una variedad de respuestas complejas en los organismos, distintas a las provocadas por las sustancias de forma individual, las cuales requieren ser evaluadas.

Los bioensayos permiten evaluar la toxicidad de mezclas complejas de contaminantes químicos, a un costo menor que muchas de las mediciones de sustancias químicas, y considerando el efecto sinérgico entre las sustancias. Desde un punto de vista de la gestión de la calidad del agua residual, los bioensayos pueden servir para priorizar sitios para monitoreo, y como una forma de

seguimiento de los cambios realizados en el proceso de depuración de las plantas de tratamiento (por ejemplo, tratamientos secundarios y terciarios). Además, en el caso de aguas domiciliarias, pueden resultar un buen punto de partida para comunicar a la comunidad los riesgos del uso de sustancias químicas en casa, y trabajar en proyectos de gestión ambiental comunitaria.

En conclusión, ante una falta de la eliminación completa de diferentes sustancias tóxicas en aguas residuales, como consecuencia de la variedad en su composición química y el poco conocimiento del impacto que pueden llegar a ocasionar a nivel de ecosistemas y la salud humana, se propone conocer, analizar e implementar un estudio para evaluar la ecotoxicidad de una planta de tratamiento, con una batería de organismos (nativos) que representan diferentes niveles tróficos de la red de alimentación acuática. Se propone, además, estimar el posible impacto ecológico a través de respuestas biológicas que tendrían las descargas sobre el ecosistema acuático en un cuerpo receptor determinado, considerando los caudales de la planta de tratamiento, así como del cuerpo receptor. Estas pruebas se proponen como complemento a los demás ensayos que se utilizan actualmente como parámetros fisicoquímicos y microbiológicos para la evaluación de la calidad de agua, ayudando a establecer los vacíos de conocimiento que hay actualmente sobre el tema.

## **1.4. Objetivos**

### **1.4.1. Objetivo General**

Determinar la ecotoxicidad de aguas residuales domiciliarias como herramienta potencial para la gestión de la calidad de las descargas de una planta de tratamiento residencial como caso de estudio en San Rafael de Heredia, Costa Rica.

### **1.4.2. Objetivos Específicos**

- Aplicar pruebas de toxicidad a organismos representativos del ecosistema acuático para la determinación de efectos letales y subletales utilizando como muestra ambiental los efluentes de la planta de tratamiento de aguas residuales en San Rafael de Heredia, Costa Rica.
- Estimar los posibles riesgos al ecosistema acuático que implican los porcentajes de toxicidad mediante un análisis de información cuantitativa y cualitativa de las pruebas de toxicidad en el caso de estudio.
- Examinar las posibles necesidades de gestión de sustancias tóxicas a partir de los resultados de las pruebas ecotoxicológicas en el monitoreo de aguas residuales, mediante un diálogo con gestores del agua en el caso de estudio.

### **1.5. Alcances y limitaciones**

El presente estudio se basa en la evaluación de la toxicidad de las aguas residuales domesticas u ordinarias de una planta de tratamiento hacia organismos acuáticos. Mediante pruebas de toxicidad aguda, se busca determinar el riesgo ambiental según los porcentajes de toxicidad encontrados.

Este tipo de análisis brinda los gestores del agua un mayor conocimiento sobre las posibles alteraciones o no en el recurso hídrico que puedan provocar las descargas. Esto como parte de la búsqueda de un equilibrio entre este sistema y las necesidades sociales, económicas y ambientales, así como prevenir o minimizar riesgos causados por fenómenos externos o por la interacción humana en el sistema hídrico.

Además, se busca generar espacios de discusión, a la luz de los resultados, de las limitaciones, necesidades (logísticas, técnicas económicas y de capacitación), así como de las oportunidades que plantea la aplicación de ensayos ecotoxicológicos como parte del monitoreo de vertidos. En adición, se cuenta con el respaldo del Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas (IRET) y de la Empresa de Servicios Públicos de Heredia (ESPH) para la ejecución de este proyecto en las diferentes etapas y actividades que este involucra.

Los análisis de toxicidad solo se realizarán en un determinado periodo de tiempo, lo cual limitará una comparación de los niveles de toxicidad encontrados a lo largo del tiempo y bajo diferentes condiciones climáticas. De la misma forma, las diferentes actividades que se lleven a cabo en el residencial, como, por ejemplo, construcciones, pueden alterar en cierta medida la toxicidad de los efluentes de la planta de tratamiento como producto de las sustancias generadas en estas actividades.

Por otra parte, el análisis no incluye la evaluación directa de la toxicidad encontrada al ser vertidas las aguas al río a lo largo del cauce, sino su estimación teórica mediante la dilución de los caudales. Debido a que a sus alrededores se encuentran viviendas que no cuentan con un sistema adecuado de gestión de las descargas de sus aguas residuales, sus vertidos se incorporan directamente al cauce sin previo tratamiento alterando las condiciones normales del río. Esta condición hace necesario un abordaje de la evaluación toxicológica del sitio de descarga que queda fuera del alcance de esta investigación.

Finalmente, en la legislación nacional actualmente no se contemplan los niveles de toxicidad permitidos de las aguas residuales. Lo cual limita poder realizar una comparación de los resultados obtenidos con base en referencias técnicas legales.

## **1.6. Resumen del reporte**

Para este proyecto se siguen los lineamientos propuestos por Evans et al. (2014).

### **Capítulo 1. Introducción**

En la sección introductoria se encontrará la presentación del proyecto con una visión general de la declaración del problema de este, el contexto, su justificación, los objetivos establecidos y los alcances y limitaciones que implicaría el proyecto.

### **Capítulo 2. Antecedentes**

Se expone el contexto geográfico, la descripción del área de estudio, las generalidades del residencial y la operabilidad de la planta de tratamiento de aguas residuales, además de información de contexto sobre las instituciones involucradas en el proyecto y demás variables de interés.

### **Capítulo 3. Marco teórico**

Se establecen los conceptos clave en relación con el proyecto, vocabulario relacionado, teorías y prácticas de referencia para la ejecución del trabajo.

### **Capítulo 4. Estudios de prefactibilidad**

Se presentan los estudios de prefactibilidad de carácter técnico, financiero, legal, social y ambiental en la fase inicial del proyecto para obtener información base necesaria para conocer la viabilidad del proyecto.

### **Capítulo 5. Metodología**

Se muestra la metodología empleada a lo largo del proyecto para obtener los resultados, sus alcances, la muestra en estudio, herramientas utilizadas, presupuesto y cronograma establecido para la ejecución del proyecto.

## Capítulo 2. Antecedentes

### 2.1. Introducción

El presente capítulo pretende describir la zona de estudio mediante la implementación de mapas de ubicación, figuras y generalidades del residencial y la operabilidad de su planta de tratamiento de aguas residuales. Así mismo, se abordará información de contexto sobre las instituciones involucradas en el proyecto como ESPH e IRET de la Universidad Nacional, Costa Rica.

### 2.2. Descripción de la zona de estudio

#### 2.2.1. Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Residencial como Caso de Estudio

La planta de tratamiento de aguas residuales residencial como caso de estudio (Figura 2.1) se encuentra ubicada en el distrito de Los Ángeles del cantón de San Rafael en Heredia, Costa Rica (Figura 2.2). Esta planta trata las aguas residuales del alcantarillado sanitario provenientes de aproximadamente 107 familias (342 personas) de este residencial y es administrada por la ESPH, sin embargo, está diseñada para tratar las aguas residuales generadas por 797 personas en 177 casas y únicamente trata las aguas residuales de tipo ordinario. De acuerdo con la Autoridad Reguladora de los Servicios Públicos (ARESEP) (2020), la PTAR fue asumida por la ESPH en el año 2015.



Figura 2.1. Planta de Tratamiento de aguas residuales en estudio ubicada en San Rafael de Heredia, Costa Rica.

Fuente: Elaboración propia, 2023.

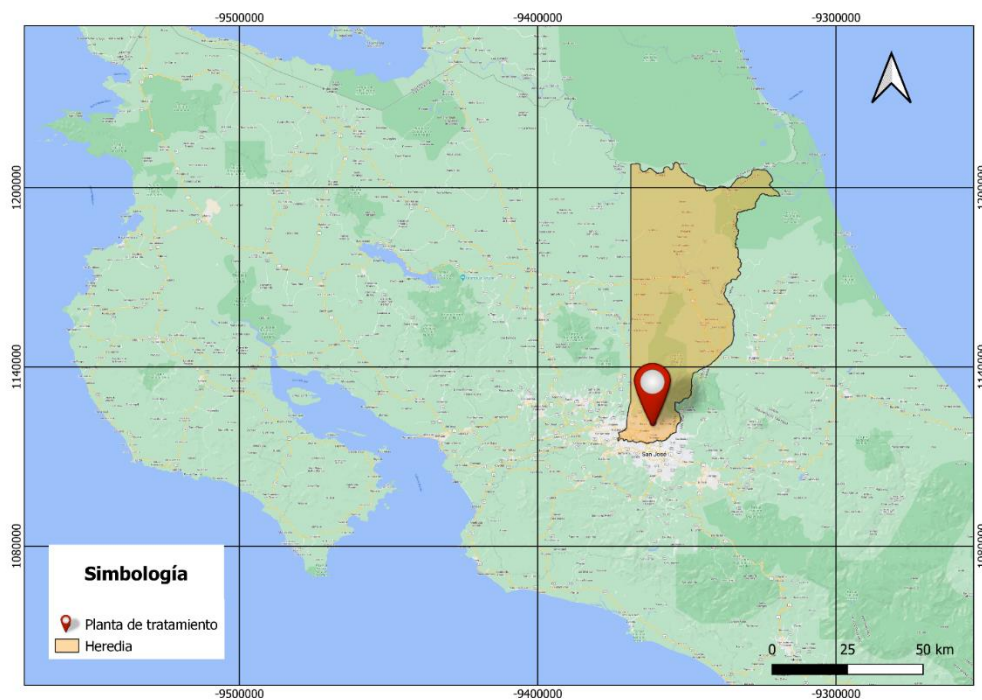


Figura 2.2. Mapa de ubicación de la planta de tratamiento de aguas residuales en estudio en San Rafael de Heredia, Costa Rica.

Fuente: Elaboración propia, 2023.

En el tratamiento de las aguas residuales de esta planta interviene un conjunto de procesos y operaciones unitarias en las etapas de tratamiento preliminar y secundario, en los cuales se implementan desarenador, reactor biológico con aireación (Figura 2.3) y sedimentador secundario (Figura 2.4) respectivamente, además, cuenta con su respectivo digestor de lodos y lecho de secado (Figura 2.5), que complementan el tratamiento de los lodos proveniente del tratamiento secundario.



Figura 2.3. Reactor biológico aerobio de la PTAR.

Fuente: Elaboración propia, 2023.



Figura 2.4. Sedimentador secundario de la PTAR.

Fuente: Elaboración propia, 2023.

El tiempo de retención de sus aguas es de alrededor de 24h con un caudal de ingreso y salida de aproximadamente  $49.45 \text{ m}^3/\text{día}$ . La ESPH reporta de manera trimestral el respectivo Reporte Operacional (ROP) ante el Ministerio de Salud sobre los parámetros

fisicoquímicos de los efluentes del sistema de tratamiento. Sin embargo, en el caso de la planta de tratamiento en estudio, al contar con un caudal inferior a  $100 \text{ m}^3/\text{día}$  y según el Art. 35, Decreto 33601-MINAE-S/2011, de 19 de marzo, su frecuencia de entrega de reportes es de manera semestral.



Figura 2.5. Lecho de secado de lodos de la PTAR.

Fuente: Elaboración propia, 2023.

El punto de descarga de los efluentes la planta de tratamiento es el río Bermúdez (Figura 2.6). Según establecen Gaetan et al. (2006), el río Bermúdez nace al norte de Heredia en el Monte de la Cruz y desemboca en el río Virilla (Cuenca Tárcoles), con una longitud de 26 kilómetros.

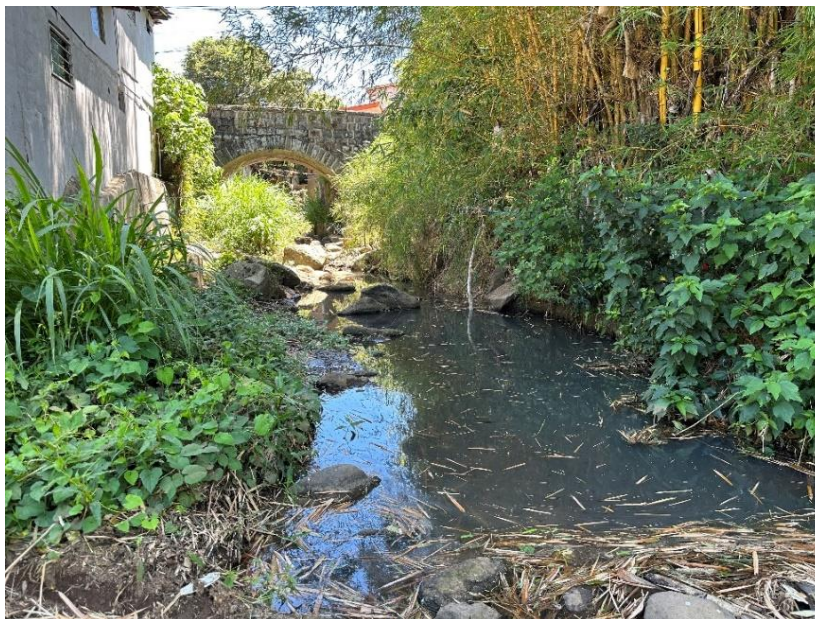


Figura 2.6. Cuerpo receptor de la PTAR.

Fuente: Elaboración propia, 2023.

### **2.3. Empresa de Servicios Públicos de Heredia**

La Empresa de Servicios Públicos de Heredia es una sociedad anónima de utilidad pública de plazo indefinido según lo establecido en la Ley 7789 de la Transformación Empresa de Servicios Públicos de Heredia. Según la ESPH (2018), la institución brinda servicios a más de setenta mil clientes en cuanto a agua potable, energía eléctrica, aguas residuales, infocomunicaciones y alumbrado público. Su cobertura abarca los cantones de Heredia, San Rafael, San Isidro y sectores de San Pablo, Flores y Santa Lucía de Barva de la provincia de Heredia.

De acuerdo con Sulecio (2020), los servicios brindados por la ESPH son regulados por la Autoridad Reguladora de los Servicios Públicos de Costa Rica. Así mismo, dentro del marco del servicio en relación con las aguas residuales, la institución abarca la operación y mantenimiento correctivo y preventivo de seis plantas de tratamiento de aguas residuales, ubicadas cinco de ellas en Heredia y una en San Rafael.

### **2.4. Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas**

El Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas de la Universidad Nacional (IRET-UNA) es un centro dedicado a la investigación con una proyección nacional, internacional y

regional, que se compromete con el desarrollo sostenible, la protección y conservación de los ecosistemas naturales, la calidad de vida de los trabajadores y de la sociedad afectados por las sustancias tóxicas y demás actividades humanas (IRET, 2012). La información generada por este instituto son empleados por entidades gubernamentales y no gubernamentales para temas relacionados con la exposición a sustancias tóxicas y los efectos que estas pueden producir en el ambiente y la salud humana.

Las pruebas aplicadas a los efluentes de la planta de tratamiento de aguas residuales de este proyecto fueron realizadas en el Laboratorio de Estudios Ecotoxicológicos adscrito al área ambiental de esta institución. De acuerdo con IRET (2012), este laboratorio apoya la investigación, docencia, extensión y demás actividades académicas de la Universidad Nacional e instituciones de investigación superior en temas relacionados con la exposición y efectos de los contaminantes ambientales.

### **2.5. Estudios Previos**

Mediante análisis ecotoxicológicos previos realizados por Villegas (2022) en la PTAR en estudio, se cuenta con datos cuantitativos sobre la toxicidad de los efluentes de este sistema. Los cuales permiten a partir de esta información, analizar el comportamiento en las condiciones de calidad del vertido de esta planta al río Bermúdez.

## **Capítulo 3. Marco Teórico**

El presente capítulo expone información de contexto sobre aguas residuales en general, aguas residuales de tipo ordinario, plantas de tratamiento; sus efluentes, cuerpo receptor, contaminantes emergentes de las aguas residuales, el ecosistema y organismos acuáticos. Además de conceptos clave sobre ecotoxicología y pruebas de toxicidad, para evaluar los efectos de los efluentes y estimar los efectos letales y subletales de los organismos acuáticos.

### **3.1. Aguas Residuales**

Las aguas residuales pueden definirse como el restante de todas aquellas actividades que genera el ser humano y que pueden ser de origen domésticas, actividades agrícolas o industriales y que significan una alteración en su composición original al contener nuevas sustancias como la materia orgánica e inorgánica, microorganismos y/o contaminantes (Fernández y Quezada, 2018). Se pueden clasificar las aguas residuales según su origen y composición, por ejemplo, aguas residuales, domésticas, industriales, agrícolas y urbanas.

#### **3.1.1. Aguas residuales domésticas (o aguas de tipo ordinario)**

Las aguas residuales domésticas son aquellas que se originan en las viviendas y son producidas principalmente por el propio metabolismo humano y por las actividades que se generan en el ámbito doméstico. Dentro de las aguas residuales domésticas pueden catalogarse las aguas negras y grises. De acuerdo con Barrantes y Cartín (2017), generalmente se refiere a aguas negras a aquellas que contienen materia fecal y aguas grises a las que provienen de actividades domésticas como los procesos de limpieza y las generadas en la cocina, conteniendo residuos de detergentes, desinfectantes, grasas y aceites.

### **3.2. Planta de Tratamiento de Aguas Residuales**

Las plantas de tratamiento (Figura 3.1) consisten en infraestructuras que buscan resolver las necesidades de saneamiento de agua con el fin de reducir el impacto ambiental. Estas tienen una funcionalidad con base en un sistema complejo, donde una vez que comienza la fase de operación se generan nuevos procesos no previstos y la relación dependiente de sus subprocesos exige su análisis desde la complejidad para encontrar estrategias factibles de resolución a los nuevos impactos sociales y ambientales generados (Morín, 2005). Así mismo, según lo establece el Decreto N° 33601-MINAE-S (2007) sobre el Reglamento de Vertido y Reuso de Aguas

residuales, estos sistemas de tratamiento son un conjunto de procesos físicos, químicos o biológicos, cuya finalidad es mejorar la calidad del agua residual a la que se aplican.



Figura 3.1. Planta de tratamiento de aguas residuales de estudio.

Fuente: Elaboración propia, 2023.

### 3.2.1. Efluente

Las empresas y todas las personas generan residuos todos los días como producto de las actividades del día con día, donde los residuos líquidos son conocidos también como efluentes. Así mismo, una vez que una planta de tratamiento depura las aguas residuales, el resultante son sus efluentes (Figura 3.2) que posteriormente son vertidos a un cuerpo receptor o aprovechadas para diversos fines (reúso). También, puede definirse como un líquido que fluye hacia afuera del espacio confinado que lo contiene, y que en el manejo de aguas residuales se refiere al caudal que sale de la última unidad de tratamiento (MINAE-S, 2007).



Figura 3.2. Punto de muestreo de los efluentes de la planta de tratamiento de estudio.

Fuente: Elaboración propia, 2023.

### 3.2.2. Cuerpo receptor

Según el Decreto N° 33601-MINAE-S (2007) sobre el Reglamento de Vertido y Reuso de Aguas residuales, un cuerpo receptor es todo aquel manantial, zonas de recarga, río, quebrada, arroyo permanente o no, lago, laguna, marisma, embalse natural o artificial, canal artificial, estuario, manglar, turbera, pantano, agua dulce, salobre o salada, donde se vierten aguas residuales.

### 3.3. Contaminantes emergentes

Las aguas residuales quedan cargadas de una serie de contaminantes que pueden afectar al ambiente y en particular a la salud pública (Barrantes y Cartín, 2017). El término de Contaminantes Emergentes (CE) generalmente se utiliza para referirse a compuestos de distinto origen y naturaleza química, cuya presencia en el medio ambiente no se considera significativa en términos de distribución y/o concentración, por lo que pasan inadvertidos, No obstante, ahora están siendo ampliamente detectados y tienen el potencial de acarrear un impacto ecológico, así como efectos adversos sobre la salud (Gil et al, 2012).

Cuando se habla de contaminantes emergentes o productos farmacéuticos de cuidado personal se refiere a cualquier producto utilizado por las personas para el cuidado de la salud, por motivos cosméticos o aquellos productos utilizados para aumentar el crecimiento o la salud de los animales (Peña y Castillo, 2015). Por ejemplo, los medicamentos que se consumen no son absorbidos totalmente por el cuerpo, sino que se excretan y estos pasan a las aguas residuales y posteriormente a aguas superficiales.

El tratamiento de las aguas residuales en su mayoría pretende dar como resultado la eliminación de microorganismos patógenos, evitando así que estos microorganismos lleguen a ríos o a otras fuentes de abastecimiento. Sin embargo, los contaminantes emergentes no son eliminados por completo en estas plantas de tratamiento de agua y los influentes y efluentes contienen estos contaminantes. Algunos contaminantes emergentes en las aguas residuales son los siguientes:

- **Tensoactivos:** Los tensoactivos o comúnmente llamados surfactantes son la principal sustancia activa presente en los detergentes, suavizantes, y demás productos de lavado y limpieza en cualquier tipo de presentación, ya que actúan reduciendo la tensión superficial, disolviendo y emulsionando así las sustancias insolubles en agua. De acuerdo con Carvajal (2011), los tensoactivos constituyen la materia activa de los detergentes y la familia más utilizada de los tensoactivos son los de tipo aniónico.
- **Compuestos de amonio cuaternario:** Los amonios cuaternarios (QACs) son compuestos químicos potentes que se encuentran en productos desinfectantes en distintas presentaciones como aerosoles, toallas o líquidos. Son comúnmente utilizados debido a su alto poder en la inhibición de hongos, virus y bacterias.
- **Fármacos:** Los residuos farmacéuticos son transportados al ciclo del agua por diferentes rutas. Las plantas de tratamiento de aguas residuales actúan como una puerta de entrada de estos productos a los cuerpos de agua, porque muchos de estos compuestos no son realmente retenidos en sus procesos (Gil et al., 2012).

### **3.4. Ecosistema Acuático**

De acuerdo con World Wide Fund for Nature (2018), un ecosistema acuático es un sistema natural formado por un conjunto de seres vivos y un medio que se compone de factores químicos y físicos que interactúan entre sí. En el caso de los ecosistemas acuáticos, este medio es el agua.

### 3.4.1. Organismos acuáticos

Los organismos acuáticos son aquellos los cuales viven ya sea una parte o toda su vida dentro del agua, ya sea dulce o salada. Según Brauer (2015), los organismos acuáticos generalmente se clasifican en tres grandes grupos: plancton, necton y bentos. Varían en cómo se mueven y dónde viven:

- El plancton se refiere a pequeños organismos acuáticos que no pueden moverse por sí solos. Viven en la zona fótica e incluyen fitoplancton y zooplancton. Por su parte, el fitoplancton son bacterias y algas que utilizan la luz solar para hacer alimentos, mientras que el zooplancton se refiere a animales diminutos que se alimentan de fitoplancton.
- El necton, son animales acuáticos que pueden moverse por su cuenta, es decir, nadando a través del agua. Pueden vivir en la zona fótica o afótica y se alimentan de plancton u otro necton. Ejemplos de necton incluyen peces y camarones.
- Los bentos son organismos acuáticos que se arrastran en sedimentos en el fondo de un cuerpo de agua. Muchos son descomponedores e incluyen esponjas, almejas y rape.

### 3.5. Ecotoxicología

La ecotoxicología es la disciplina que estudia las fuentes, transformaciones y los efectos que pueden tener los contaminantes (sustancias y compuestos químicos) en el ambiente. De acuerdo con Spósito (2018), la ecotoxicología está conformada por la integración de tres disciplinas: toxicología, ecología y química ambiental. La toxicología sirve de herramienta para la comprensión de las interacciones entre los contaminantes y los organismos vivos. La ecología es el área integradora de la ecotoxicología, la cual formula las predicciones o evalúa el estado de situación. La química ambiental se encarga de estudiar las transformaciones químicas en el ambiente. Se caracteriza además la ecotoxicología por desarrollar tecnologías y conocimientos científicos que pueden ser utilizados para resolver problemas ambientales específicos (Planes y Fuchs, 2015).

### **3.5.1. Toxicidad**

La toxicidad es el grado al cual un compuesto o mezcla es capaz de causar efectos nocivos a los organismos. Por ejemplo, muerte, inhibición del crecimiento, inhibición de la reproducción (Planes y Fuchs, 2015).

### **3.6. Bioensayos de toxicidad**

Entre las metodologías más conocidas para la evaluación de los efectos tóxicos se encuentran la exposición controlada de organismos a diferentes concentraciones del agente contaminante, denominados bioensayos o ensayos ecotoxicológicos. Estos consisten en determinar los efectos desfavorables de los productos químicos sobre organismos indicadores en función de su concentración, es decir se evalúa la relación entre la exposición (concentración de la sustancia y duración de la exposición) y los efectos (toxicidad sobre los organismos) (Venegas, 2017).

Para aplicar un bioensayo de toxicidad, según establece Planes y Fuchs (2015), se expone a un grupo previamente seleccionado de organismos a concentraciones distintas de compuestos y sustancias químicas, mezclas de sustancias o de una muestra ambiental durante un periodo de tiempo determinado. Estas muestras ambientales pueden originarse de efluentes, suelos o sedimentos y generalmente contienen muchas sustancias químicas diferentes.

#### **3.6.1. Pruebas de toxicidad aguda**

Los ensayos de toxicidad agudos son pruebas de corta duración con el objetivo de medir el efecto de sustancias tóxicas sobre los organismos de prueba durante un periodo corto de su ciclo de vida (Carriquiriborde, 2021). La toxicidad aguda se refiere a los efectos adversos ocurridos dentro de un período de tiempo corto después de la administración de una única dosis. Se suele presentar en forma de dosis o concentración letal media ( $DL_{50}$  o  $CL_{50}$ ), que es la expresión derivada estadísticamente de una dosis o concentración que es letal para el 50% de los organismos de prueba expuestos durante un período definido de tiempo. La  $DL_{50}$  o  $CL_{50}$  depende de la cantidad de la sustancia administrada o absorbida y del tiempo de exposición a ella (IRET, 2023).

#### **3.6.2. Pruebas de toxicidad con efluentes**

Determinar la toxicidad de un efluente resulta complejo, debido a que estos generalmente son una mezcla compleja de diversos compuestos. Según establecen Planes

y Fuchs (2015), los ensayos de toxicidad sobre efluentes se utilizan como herramienta para así, poder detectar la presencia de compuestos tóxicos no analizados químicamente. Además, permiten evaluar el efecto conjunto de todos aquellos compuestos y sustancias químicas presentes en el efluente. Para realizar los ensayos de toxicidad sobre un efluente se exponen los organismos seleccionados a diferentes concentraciones porcentuales del efluente (Figura 3.3). Así mismo, dependiendo de sus componentes, algunos efluentes pueden resultar tóxicos sobre uno u otro organismo, es por esto, que en este caso se deben realizar los ensayos sobre más de una especie.



Figura 3.3. Bioensayo de toxicidad aguda con efluentes de aguas residuales aplicado a la especie *Lemna minor*.

Fuente: Elaboración propia, 2023.

### 3.6.3. Efectos letales y subletales

La exposición de los organismos a compuestos tóxicos da lugar a una serie de cambios morfológicos (efectos subletales) que dependen de la concentración y que pueden producir la muerte de los individuos (efectos letales) (Figura 3.4). Según establece Carriquiriborde (2021), las respuestas obtenidas a partir de la exposición de organismos a diferentes concentraciones de un compuesto químico o una muestra ambiental pueden ser

un fenómeno de todo o nada como lo es la mortalidad, o bien, pueden ser efectos graduales como el crecimiento o rendimiento en la reproducción.

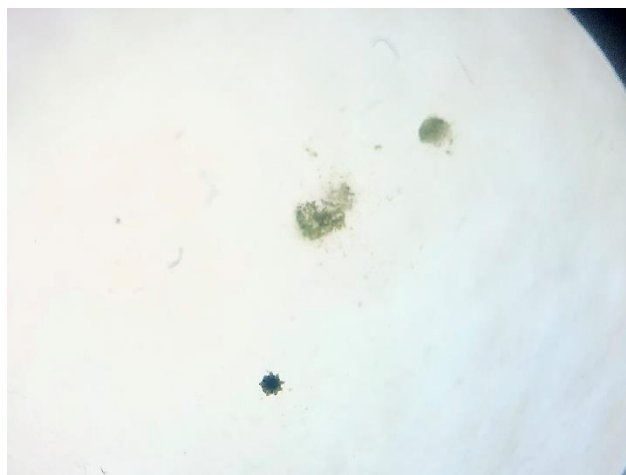


Figura 3.4. Efectos letales y subletales en la especie *Hydra viridissima* ante la exposición a un agente contaminante.

Fuente: Elaboración propia, 2023.

## Capítulo 4. Estudios de Prefactibilidad

El presente capítulo corresponde a las prefactibilidades, con el fin de determinar la viabilidad del proyecto, se utilizó la metodología de Sapag et al (2014) donde se realizan estudios sobre los aspectos, técnicos, organizacional, legal, ambiental, económico, comercial, vial, ética y social. Para el presente proyecto se toma en cuenta la viabilidad técnica, legal, financiera y social.

### 4.1. Estudio técnico

Según Sapag et al., (2014, p.26), el estudio de viabilidad técnica analiza las posibilidades materiales, físicas o químicas de producir el bien o servicio que desea para garantizar la capacidad de su producción. Es por esto, que se contempló la localización geográfica del proyecto y su contexto, capacitaciones necesarias y los requerimientos técnicos para su viabilidad.

#### 4.1.1. Localización geográfica del proyecto y contexto

El proyecto se ubica geográficamente en la comunidad de San Rafael de Heredia, Costa Rica, de categoría residencial. En dicho residencial se ubica la planta de tratamiento en estudio, donde se realizaron visitas de campo y conversatorios (Cuadro 4.1) con los operadores como estrategias para conocer el contexto del sitio en estudio.

Cuadro 4.1. Estrategias para conocer el contexto de la operación de la PTAR.

Objetivo	Estrategias y otros
Conocer el contexto de la PTAR en estudio	Giras de campo
	Conversatorios

Fuente: Elaboración propia, 2023.

#### 4.1.2. Capacitación en laboratorio

Fue necesaria para la ejecución del proyecto obtener una capacitación mediante una pasantía previa en el Laboratorio de Ecotoxicología del IRET-UNA (Cuadro 4.2). Para así, adquirir los conocimientos necesarios sobre la manipulación y ejecución de las pruebas de toxicidad aguda con las muestras de agua residual.

Cuadro 4.2. Estrategias para adquirir conocimientos sobre pruebas de toxicidad aguda en laboratorio.

Objetivo	Estrategias y otros
Adquirir conocimientos sobre pruebas de toxicidad aguda	Pasantía en laboratorio

Fuente: Elaboración propia, 2023.

#### 4.1.3. Procesos de producción y requerimientos técnicos

Para el desarrollo de este proyecto fue necesaria la implementación de herramientas y equipo tecnológico que permitieron alcanzar los objetivos propuestos. Para la obtención de las muestras de agua residual en campo, medición de parámetros fisicoquímicos y de caudal se requirió del equipo suministrado por el IRET-UNA que se detalla a continuación (Cuadro 4.3).

Cuadro 4.3. Equipo de medición necesario para el desarrollo del proyecto.

Medición	Equipo	Cantidad
Georreferenciador	Geolocalizador	1
Parámetros fisicoquímicos	Multiparámetro Sonda Hanna HI98194	1
Caudal	Caudalímetro	1

Fuente: Elaboración propia, 2023.

Por su parte, para la ejecución de las respectivas pruebas de toxicidad fue necesario movilizarse desde el punto de muestreo en San Rafael de Heredia hasta las instalaciones del Laboratorio de Ecotoxicología del IRET-UNA. Mismo lugar donde se encontraban los cultivos de los tres organismos acuáticos a los cuales previamente se les realizó su respectivo mantenimiento, para así aplicar las pruebas. Además del equipo, reactivos y cristalería brindada por este instituto necesaria para llevar a cabo la metodología de estos bioensayos (Cuadro 4.4). Por lo tanto, se determinó que se contaba con las herramientas y

capacidades técnicas para la ejecución del proyecto, siendo así que, existió viabilidad técnica para el proyecto.

Cuadro 4.4. Requerimientos y materiales necesarios para la ejecución de las pruebas de toxicidad aguda.

Requerimientos	Materiales
<b>Cultivos de organismos acuáticos</b>	Cultivo de <i>Macrothrix elegans</i>
	Cultivo de <i>Hydra viridissima</i>
	Cultivo de <i>Lemna minor</i>
<b>Reactivos</b>	Reactivos
<b>Equipo de laboratorio</b>	Incubadora
	Balanza analítica
	Estufa de secado
<b>Cristalería</b>	Cristalería
<b>Sistema de aireación</b>	Sistema de aireación
<b>Muestra de campo</b>	Muestra de agua residual

Fuente: Elaboración propia, 2023.

## 4.2. Estudio financiero

El estudio técnico y financiero actúan en conjunto debido a que el estudio técnico es de importancia a la hora de valorar la factibilidad de un proyecto, especialmente para el análisis de la viabilidad en el aspecto financiero. Ya que este permite que se cuantifiquen los costos de las inversiones y la operación, por ejemplo, mano de obra y recursos materiales que se necesiten para llevar a cabo el proyecto (Sapag et al., 2014). Para el desarrollo de este proyecto, el estudio financiero según lo establecen Sapag et al (2014), se buscó la medición de la rentabilidad que retorna la inversión, todo medido con bases monetarias.

En este estudio se determinaron algunos costos directos para los insumos del proyecto, mientras que los costos indirectos están asociados a los gastos generados por el consumo de bienes y servicios durante la ejecución de este. Se determinaron como costos directos los que resultaron de gran ayuda para la ejecución del proyecto, desde el equipo tecnológico, paquetes de Office,

softwares necesarios, uso de laboratorio y giras de campo, resultando un total de ₡3,486,000.00 (Anexo 4.1), donde ₡686,000.00 fueron asumidos por el Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas de la Universidad Nacional.

Así mismo, se determinaron costos indirectos necesarios para este proyecto, tales como servicios de alimentación y los honorarios profesionales, obteniendo un total de ₡10,432,000.00. Aun así, en el caso de honorarios profesionales se realizaron ad-honorem, por lo tanto, los beneficiados realizaron este proyecto sin obtener beneficios de tipo económico.

Por su parte, se tomaron en cuenta imprevistos de un valor de ₡1,694,220.00 de cualquier eventualidad. Además de gastos administrativos como servicios telefónicos y de internet que fueron de gran utilidad para las giras y la elaboración del mismo proyecto. Esto, resultando un total de ₡224.000.00. Así mismo, se utilizó un 10% como está establecido recientemente en la Ley de Impuesto al Valor Agregado (IVA) N° 6826 de la Asamblea Legislativa de Costa Rica, esto agregándose al total de todos los costos, obteniendo un resultado de ₡15,836,220.00.

#### **4.3. Estudio social**

Según Sapag et al. (2014), para la evaluación social se intenta cuantificar los costos y beneficios sociales directos, indirectos e intangibles, además de las externalidades que el proyecto pueda generar. En dicha evaluación, se ven los actores claves que dependen de dicho proyecto, y su interacción con el mismo.

Para este proyecto se identificaron actores claves, como lo son, las personas habitantes en el residencial que posee la planta de tratamiento de estudio (comunidad), representantes de la Empresa de Servicios Públicos de Heredia (gestores del agua), así como el Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas de la Universidad Nacional (academia). Se realizaron reuniones de manera presencial y remota entre los gestores del agua y academia, dando a conocer la posición de estos actores respecto al proyecto. En este sentido, se mostraron a favor de la ejecución del estudio en la planta de tratamiento y han brindado disposición e interés en colaborar con la ejecución del proyecto. Así mismo, se tomaron en cuenta de forma indirecta a actores secundarios, como el Ministerio de Salud, la Municipalidad de Heredia, Dirección de Aguas, entre otros, que tienen relevancia en el proyecto debido a las diferentes normas y leyes que estos generan hacia las diferentes plantas de tratamiento y sus vertidos.

Mediante el encuentro con estos actores, se determinó que el proyecto generó en los ellos interés por examinar las necesidades de gestión de las sustancias tóxicas domiciliarias, para implementar herramientas ecotoxicológicas en el monitoreo de aguas. A su vez, se debe dar seguimiento a la percepción social que tiene la comunidad aledaña a la planta de tratamiento.

Dados estos argumentos, se logró determinar que este proyecto provee un beneficio para la comunidad tanto de las personas que viven en el residencial, como para aquellas aledañas a la zona de estudio. Por consiguiente, al observar la posición de los actores claves y de los sustentantes, se concluyó que el proyecto posee viabilidad social.

#### **4.4. Estudio legal**

El estudio legal es de suma importancia en la ejecución de un proyecto, pues según lo establecen Sapag et al (2014), las relaciones externas con la institucionalidad, organismos fiscalizadores, entre otros, son administradas por un contrato o un marco regulatorio que genera costos al proyecto, y así mismo, va a influir sobre la cuantificación de sus desembolsos. A continuación (Cuadro 4.5) se describe el marco regulador que rige y tiene una estrecha relación con el proyecto.

Cuadro 4.5. Marco regulador en relación con el análisis de la ecotoxicidad de las aguas residuales de la PTAR en San Rafael de Heredia, Costa Rica.

<b>Marco legal</b>	<b>Aspecto relacionado</b>	<b>Descripción del marco legal y su relación con el proyecto</b>
<b>Reglamento de Vertido y Reuso de Aguas Residuales N° 33601</b>	Ambiente	Artículo 4. Todo ente generador deberá dar tratamiento a sus aguas residuales y evitar así perjuicios al ambiente, a la salud, o al bienestar humano.
<b>Reglamento de Vertido y Reuso de Aguas Residuales N° 33601</b>	Aguas Residuales	Artículo 5. Todo ente generador estará en la obligación de confeccionar reportes operacionales que deberá presentar periódicamente ante el Ministerio de Salud.
<b>Reglamento de Vertido y Reuso de Aguas Residuales N° 33601</b>	Aguas Residuales	Artículo 14. Parámetros universales de análisis obligatorio en aguas residuales de tipo ordinario y especial (Caudal, Demanda Bioquímica de Oxígeno, Demanda Química de Oxígeno, Potencial de hidrógeno, Grasas y aceites, Sólidos sedimentables, Sólidos suspendidos totales, Sustancias activas al azul de metileno y Temperatura).
<b>Reglamento de Vertido y Reuso de Aguas Residuales N° 33601</b>	Aguas Residuales	Artículo 34. Frecuencia mínima de muestreo y análisis de aguas residuales de tipo ordinario (Caudal $\leq 100$ m <sup>3</sup> /día: semestral).
<b>Reglamento de Vertido y Reuso de Aguas Residuales N° 33601</b>	Ambiente	Artículo 63. Se prohíbe el vertido de lodos provenientes de sistemas de tratamiento de aguas residuales, sistemas de potabilización de aguas y de tanques sépticos a los cuerpos de agua y alcantarillado sanitario.
<b>Constitución Política de la República de Costa Rica</b>	Ambiente	Artículo 50. Toda persona tiene derecho a un ambiente sano y ecológicamente equilibrado.

<b>Ley Orgánica del Ambiente N° 7554</b>	Recurso Hídrico	Artículo 51. Proteger, conservar y, en lo posible, recuperar los ecosistemas acuáticos y los elementos que intervienen en el ciclo hidrológico.
<b>Ley Orgánica del Ambiente N° 7554</b>	Recurso Hídrico	Artículo 51. Proteger los ecosistemas que permiten regular el régimen hídrico.
<b>Ley Orgánica del Ambiente N°. 7554</b>	Ambiente	Artículo 65. Las aguas residuales de cualquier origen deberán recibir tratamiento antes de ser descargadas en ríos, además, deberán alcanzar la calidad establecida para el cuerpo receptor.
<b>Ley General de la Salud N°. 5395</b>	Aguas Residuales	Artículo 285. Las excretas, las aguas negras, las servidas y las pluviales, deberán ser eliminadas adecuada y sanitariamente

Fuente: Elaboración propia, 2023.

En relación con el Cuadro 4.5 descrito anteriormente sobre el marco regulador que tiene relación con el proyecto se logró determinar que, no se presentan inconvenientes en materia legal para la ejecución de este. Por su parte, tomando en cuenta el Reglamento de Vertido y Reuso de Aguas Residuales donde se refiere al tratamiento obligatorio de aguas residuales y el Artículo N° 50 de la Constitución Política de la República de Costa Rica (1949) sobre el derecho a un ambiente sano y ecológicamente equilibrado, implementar este tipo de análisis contribuye a la protección conservación de la calidad de los cuerpos de agua y la salud humana. Es por esto, que se determinó que el proyecto cuenta con viabilidad legal.

#### **4.5. Estudio ambiental**

Para el estudio ambiental previo a la ejecución del presente proyecto y considerando la Resolución N. °2373- 2016-SETENA la cual contempla aquellas actividades, obras y proyectos que no requieren ser sometidas a un proceso de evaluación de impacto ambiental debido a su impacto potencial muy bajo como actividades que no generan una significativa alteración negativa sobre el ambiente, se determinó que llevar a cabo este proyecto no causa una alteración

significativa sobre el medio ambiente. Según los acuerdos de la Resolución N. °2373- 2016-SETENA y que pueden relacionarse con el proyecto, este se consideró de muy bajo impacto ambiental potencial. Debido a que, los desechos sólidos generados durante su ejecución son manejados y dispuestos correctamente bajo el marco normativo de la Ley para la Gestión Integral de Residuos.

Además, el proyecto no requirió una Evaluación de Impacto Ambiental, puesto que puede considerarse como estudios o actividades necesarias para obtener información que podría resultar útil en la elaboración de instrumentos o herramientas de evaluación de impacto ambiental. En este sentido, se determinó que la ejecución del proyecto dispone de viabilidad en materia técnica, financiera, social, legal y ambiental, lo cual permitió proseguir hacia el alcance de los objetivos propuestos.

## Capítulo 5. Metodología

### 5.1. Descripción general de la metodología

El proceso de elaboración de la presente propuesta de estudio se basó en un enfoque mixto, uniendo los enfoques cualitativo y cuantitativo. La información cuantitativa se obtuvo a través de la información brindada por parte del operador de la PTAR, parámetros de reportes operacionales y resultados obtenidos de las pruebas aplicadas en laboratorio. La información cualitativa fue adquirida a partir de la identificación de posibles riesgos implicados en el recurso hídrico, ecosistema acuático y la salud humana.

### 5.2. Población y muestra de estudio

En este caso de estudio se utilizó una metodología de investigación por conveniencia, donde, se seleccionó una planta de tratamiento de aguas residuales en San Rafael de Heredia, Costa Rica como única planta como caso de estudio. Esto debido a que es la única planta de tratamiento dentro del residencial. Según Hernández (2021), la muestra se elige de acuerdo con la conveniencia del investigador, le permite elegir de manera arbitraria cuántos participantes puede haber en el estudio, o en este caso el lugar de estudio. Así mismo, se contempló la definición de “caso de estudio”, donde Mohan (2021), establece que los casos de estudios son metodologías de investigación que examinan temáticas, proyectos u organizaciones para contar una historia.

Por esta razón, se aplicó un muestreo de tipo conveniencia o intencionado, debido a la relación del Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas y la Empresa de Servicios Públicos de Heredia. Para analizar así, la toxicidad de los efluentes de tipo ordinario provenientes del residencial de la zona de estudio y generar información que pueda resultar útil en la gestión del recurso hídrico.

### 5.3. Métodos y herramientas seleccionadas

#### 5.3.1. Para obtención de datos

- **Recopilación de información de la PTAR de estudio**

Mediante visitas de campo a la planta de tratamiento de aguas residuales se obtuvieron datos brindados por el operador encargado de esta planta. Para generar una línea base de información sobre la operación de este sistema de tratamiento, así como del residencial de cual provienen las aguas residuales domésticas, el punto de vertido y el

cuerpo de agua receptor. De la misma manera, se obtuvo información cuantitativa mediante una solicitud vía correo electrónico sobre los parámetros medidos y establecidos en los recientes Reportes Operacionales emitidos al Ministerio de Salud.

- **Selección del material experimental**

Las muestras ambientales de agua residual fueron tomadas de forma puntual en los efluentes de la planta de tratamiento de aguas residuales del residencial en Los Ángeles, San Rafael, Heredia, Costa Rica. La muestra de agua residual se analizó sin filtración (completa) y se tomó durante dos meses con una periodicidad semanal. Se decidió tomar muestras los lunes, considerando el tiempo de retención y un posible comportamiento de mayor generación de aguas residuales en las casas durante el fin de semana.

Como organismos de prueba para esta investigación se utilizaron tres especies acuáticas (Figura 5.1), que representan diferentes niveles tróficos de la red alimenticia acuática. El material experimental de los tres organismos de prueba fue brindado por el Laboratorio de Ecotoxicología del Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas.

Primeramente, se seleccionó el hidrozoo *Hydra viridissima* debido a su amplia distribución (Karntanut y Pascoe, 2002), la facilidad de su cultivo en laboratorio, su sensibilidad ante la presencia de metales pesados y contaminación orgánica (Mitchell y Holdway, 2000) y su rápida reproducción por gemación. Así mismo, presentan una estructura primaria que favorece el intercambio intra e intercelular lo cual aumenta su potencial para la detección de tóxicos, su anatomía es simple y bajo condiciones progresivas de intoxicaciones presentan cambios morfológicos evidentes (Laboratorio de Toxicología Ambiental, s.f).

La segunda especie seleccionada fue *Macrothrix elegans*, como organismo indicador del ensayo ecotoxicológico, perteneciente al grupo taxonómico Cladóceras. Debido a que estos son organismos representantes ideales del zooplancton dulceacuícola y ocupan un lugar clave en la red trófica. Además, tienen altas tasas de reproducción, y en laboratorio son fáciles de cultivar. Tienen ciclos de vida cortos y su reproducción asexual permite obtener cultivos monoclonales. También, muestran gran sensibilidad a la presencia de sustancias contaminantes, lo que resulta ventajoso durante su implementación en pruebas de toxicidad (Pérez et al., 2017).

Como tercera especie se utilizó la planta acuática *Lemna minor*, la caracterización de su efecto como indicador de contaminación se midió principalmente en las variaciones generadas en la tasa de crecimiento y la biomasa final. Las evaluaciones cuantitativas de las frondas muestran una tasa de reproducción asexual diferente a concentraciones diferentes del tóxico (Laboratorio de Análisis de Residuos de Plaguicidas, 2004).

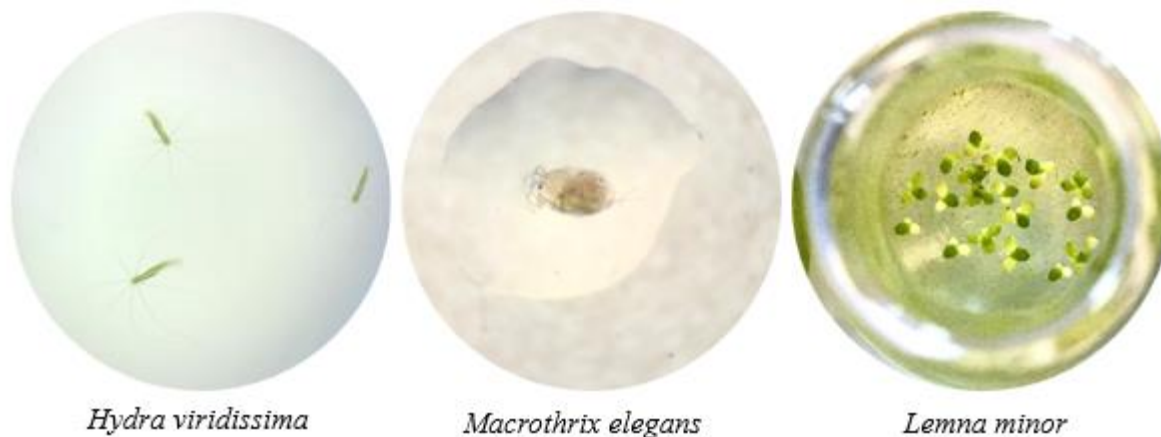


Figura 5.1. Especies representativas del ecosistema acuático seleccionadas como organismos de prueba.

Fuente: Elaboración propia, 2023.

- **Cultivo de los organismos de prueba**

En el siguiente apartado se muestran los procedimientos respectivos para la preparación y mantenimiento de los medios de cultivo de los tres organismos utilizados en las pruebas: i) preparación y mantenimiento del cultivo de *Hydra viridissima*, ii) preparación y mantenimiento del cultivo de *Macrothrix elegans* y iii) preparación y mantenimiento del cultivo de *Lemna minor*. Estos procedimientos son los documentados en el laboratorio ECOTOX del IRET, los cuales se basan en protocolos de Environment Canada y la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE).

- i) **Preparación y mantenimiento del cultivo de *Hydra viridissima***

El medio de cultivo para *Hydra viridissima* se preparó a partir de la mezcla de medio de cultivo para hidras y agua purificada por tratamiento ultravioleta (Agua UV) (Cuadro 5.1), con un volumen de 2500 mL de cada uno para un total de 5000 mL. Este

cultivo fue alimentado con artemia salina (especie de crustáceo) semanalmente los martes, miércoles, jueves y viernes. Para esto, se hizo eclosionar 1g cistos (quistes que contienen embriones de artemia) en un medio salino compuesto por 500 mL de agua purificada de tipo Milli-Q y 5g de cloruro de sodio (NaCl), con aireación constante por 24 horas.

Una vez eclosionados los cistos fueron extraídos y filtrados en un tamiz fino, para posteriormente ser enjuagados durante 15 minutos con una solución a base de medio de cultivo para hidras y ½ pastilla de yodo para disminuir la concentración salina. Posteriormente se realizó un segundo enjuague de 10 minutos únicamente con medio de cultivo. Finalmente, se alimentó el cultivo de *Hydra viridissima* con la artemia y dos horas después fue extraída la misma para cambiar los organismos a un nuevo medio. Ver Anexo 5.1 sobre el procedimiento para mantenimiento del cultivo de *H. viridissima*.

Cuadro 5.1. Componentes de los reactivos requeridos para la preparación del medio de cultivo de *Hydra viridissima*.

Reactivo	Componentes
Medio de cultivo para <i>Hydra viridissima</i>	-Ácido etilendiamintetraacético (EDTA) -Ácido N-tris [hidroximetil] metil 1-2-aminoetanosulfónico (TES) -Cloruro de calcio di-hidratado (CaCl <sub>2</sub> • 2H <sub>2</sub> O) -Hidróxido de sodio (NaOH) -Agua ultrapura (Milli-Q)
Agua UV	Agua purificada por filtro ultravioleta

Fuente: Elaboración propia, 2023.

## ii) Preparación y mantenimiento del cultivo de *Macrothrix elegans*

Se preparó el medio de cultivo para *Macrothrix elegans* en un medio semiduro, a partir de 1000 mL de Agua Reconstituida Dura (ARD) y 1000 mL de agua purificada por filtro ultravioleta (Agua UV). El ARD corresponde a agua desionizada a la que se le fueron agregadas sales inorgánicas, obteniendo así, agua dulce sintética libre de contaminantes. Este medio semiduro fue enriquecido con vitamina B<sub>12</sub>, solución de Se<sup>+2</sup>, YFC (nutriente a base de alimento para peces, levadura y hojas de cereal), cultivo

de alga *Chlorella sp.* y cultivo de alga *Pseudokirchneriella subcapitata* (Cuadro 5.2). Los organismos fueron cultivados y distribuidos según su estadio de crecimiento en tres categorías (A, B y C), identificados como neonatos menores a 7 días, individuos entre 7 y 14 días y adultos entre 14 y 21 días de edad respectivamente. Se cambiaron los organismos a un nuevo medio los lunes, miércoles y viernes.

Cuadro 5.2. Nutrientes requeridos para la preparación de 2L de medio de cultivo para *Macrothrix elegans*.

Nutriente	Volumen (mL)
Vitamina B <sub>12</sub> [55µg/mL]	0,072
Solución Se <sup>+2</sup>	0,00893
YFC	1,00
Cultivo de <i>Chlorella sp.</i> [1,6x10 <sup>8</sup> cel/mL]	1,30
Cultivo de <i>P. subcapitata</i> [1,48x10 <sup>8</sup> cel/mL]	1,41

Fuente: Elaboración propia, 2023.

### iii) Preparación y mantenimiento del cultivo de *Lemna minor*

Para la preparación del medio de *L. minor* se agregaron las soluciones “A”, “B”, “C”, “D” y “E” en las siguientes proporciones (Cuadro 5.3) a un volumen final de 1L, aforando con agua destilada. Las soluciones mencionadas estaban compuestas principalmente por los reactivos mostrados en el Cuadro 5.4. Se agitó por 5 minutos entre cada adición de solución y finalmente fue regulado el pH a 5. Para el mantenimiento de este cultivo se cambiaron los organismos a un nuevo medio dos veces por semana.

Cuadro 5.3. Soluciones requeridas para la preparación de 1L de medio de cultivo para *Lemna minor*.

Solución	Volumen (mL)
A	20
B	1
B	20
D	10
E	1

Fuente: Elaboración propia, 2023.

Cuadro 5.4. Reactivos requeridos para la preparación de 1L de medio de cultivo para *Lemna minor*.

Reactivos
Nitrato de calcio tetrahidratado $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
Nitrato de potasio $\text{KNO}_3$
Dihidrógeno fosfato de potasio $\text{KH}_2\text{PO}_4$
Ácido tartárico $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6$
Cloruro de hierro hexahidratado $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
Ácido etilendiaminotetracético $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
Sulfato de magnesio heptahidratado $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
Ácido bórico $\text{H}_3\text{BO}_3$
Sulfato de zinc heptahidratado $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
Molibdato de sodio dihidratado $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
Sulfato de cobre pentahidratado $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
Cloruro de manganeso tetrahidratado $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

Fuente: Elaboración propia, 2023.

- **Toma de la muestra de agua residual**

La muestra de agua residual fue tomada de manera puntual de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de estudio en San Rafael de Heredia, mediante cuatro muestreos periódicos (cada dos semanas) coordinados con el operador encargado de este sistema de tratamiento. Esto se realizó durante los meses de mayo y junio del 2023. La muestra se tomó en el punto de salida de las aguas de la PTAR (Figura 5.2) y se midieron los respectivos parámetros fisicoquímicos en campo (pH, oxígeno disuelto, conductividad y temperatura) empleando el multiparámetro con sonda Hanna HI98194. Las muestras fueron transportadas en hielera al Laboratorio de Ecotoxicología del IRET-UNA para la ejecución de las pruebas en un plazo menor a las 24 horas.

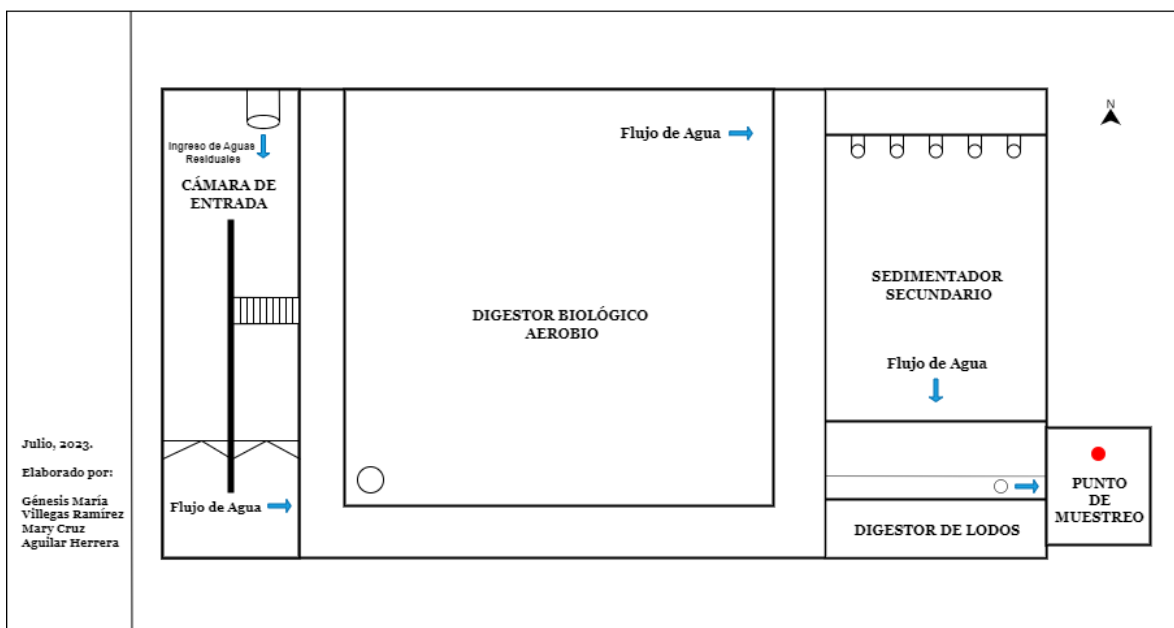


Figura 5.2. Punto de muestreo de las aguas residuales en la PTAR en San Rafael de Heredia.

Fuente: Elaboración propia, 2023.

- **Aplicación de pruebas de toxicidad aguda**

Las pruebas de toxicidad se llevaron a cabo en el Laboratorio de Ecotoxicología del Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas de la Universidad Nacional (IRET-UNA). Mediante la implementación y adaptación de los protocolos: Método de Prueba Biológica -

Método de Referencia para Determinar la Letalidad Aguda de Efluentes a *Daphnia magna* (EPS 1/RM/14) adaptado para *Macrothrix elegans*, el protocolo de Evaluación de la Toxicidad Aguda de Muestras Acuáticas Utilizando un Ensayo con *Hydra attenuata* Basado en Microplaca - Toxicología Ambiental (12, 265-271) con adaptación para *Hydra viridissima* y Método de prueba biológica - Prueba para Medir la Inhibición del Crecimiento Utilizando la Macrófita de Agua Dulce *Lemna minor* (EPS 1/RM/37).

**i) Prueba de toxicidad aguda con *Hydra viridissima***

Se prepararon inicialmente dos soluciones buffer (Cuadro 5.5) a partir de *Ácido N-tris [hidroximetil] metil 1-2- aminoetanosulfónico (TES)* y *Cloruro de calcio (CaCl<sub>2</sub> • 2H<sub>2</sub>O)* respectivamente, diluidos en agua ultrapura (Milli-Q). Posteriormente, se utilizaron 200 mL de la muestra de agua residual a la cual le fueron agregados 0,5 mL de cada una de las soluciones amortiguadoras preparadas previamente.

Cuadro 5.5. Reactivos necesarios para la preparación de soluciones buffer en la prueba de toxicidad con *Hydra viridissima*.

Reactivo	Volumen / Masa
Cloruro de calcio di-hidratado (CaCl <sub>2</sub> • 2H <sub>2</sub> O)	1,167 g
TES (C <sub>6</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>6</sub> S)	0,88 g
Agua ultrapura (Milli-Q)	40 mL

Fuente: Elaboración propia, 2023.

A partir de la solución anterior, se realizó una dilución serial para obtener diferentes concentraciones (Cuadro 5.6) de la muestra de agua residual (100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25% y 3, 125%). Para esto se utilizó como diluyente medio de cultivo para *Hydra viridissima*. Ver Anexo 5.3 sobre el procedimiento para la prueba de toxicidad aguda con *Hydra viridissima*.

Cuadro 5.6. Porcentajes de concentración de la muestra de agua residual para las diferentes soluciones de la prueba de toxicidad aguda para *Hydra viridissima*.

Solución	Concentración de agua residual (%)
1	100
2	50
3	25
4	12,5
5	6,25
6	3,125

Fuente: Elaboración propia, 2023.

Se realizaron, además, controles negativo y positivo como indicadores de validación de la prueba (Cuadro 5.7). Como control negativo se utilizó medio de cultivo y como control positivo se preparó una solución de cromo hexavalente ( $\text{Cr}^{+6}$  1,00  $\mu\text{g}$  / mL) a partir de una solución madre de 10 mg  $\text{Cr}^{+6}$ /mL en un balón aforado de 50 mL.

Cuadro 5.7. Reactivos necesarios para la preparación de los controles positivo y negativo en la prueba de toxicidad con *Hydra viridissima*.

Solución	Reactivo	Diluyente
Control Negativo	No aplica	Medio de cultivo para <i>Hydra viridissima</i>
Control Positivo	10 mg $\text{Cr}^{+6}$ / mL (5 mL)	Medio de cultivo para <i>Hydra viridissima</i>

Fuente: Elaboración propia, 2023.

Se seleccionaron los organismos que no fueron alimentados durante 24 horas previo a la prueba, y se les aplicó un prelavado en placas Petri con cada una de las diferentes concentraciones preparadas de la muestra ambiental. Posteriormente, utilizando placas multiceldas se realizaron tres réplicas por cada concentración, de igual manera con el control positivo y negativo. Finalmente, fueron transferidas tres hidras prelavadas por cada celda, para un total de nueve hidras por cada concentración, se

taparon con una membrana Parafilm y fueron incubadas en condiciones de temperatura constante de 24°C y un nivel de iluminación de aproximadamente 1110 Lux. A las 24h y 48h se realizó la lectura de la prueba examinando a través del estereoscopio el estado y los cambios morfológicos de los organismos.

## ii) Prueba de toxicidad aguda con *Macrothrix elegans*

Se seleccionaron neonatos del cultivo de *Macrothrix elegans* el día de la ejecución de la prueba para ser expuestos a la muestra de agua residual y se colocaron en medio semiduro. Mediante dilución serial fueron preparadas las diferentes concentraciones (Cuadro 5.8) de la muestra de agua residual (100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25% y 3,125%), utilizando como diluyente medio semiduro a base de agua reconstituida dura (ARD) y agua purificada por filtro ultravioleta (Agua UV).

Cuadro 5.8. Porcentajes de concentración de la muestra de agua residual para las diferentes soluciones de la prueba de toxicidad aguda para *Macrothrix elegans*.

Solución	Concentración de agua residual (%)
1	100
2	50
3	25
4	12,5
5	6,25
6	3,125

Fuente: Elaboración propia, 2023.

Como controles negativo y positivo se utilizó medio semiduro y una solución de 0,10  $\mu\text{g Cr}^{+6}/\text{mL}$  a partir de una solución madre de 10  $\mu\text{g Cr}^{+6}/\text{mL}$  respectivamente (Cuadro 5.9). Se realizaron tres réplicas de 25 mL para cada concentración de la muestra de agua residual, así como para ambos controles. Se expusieron diez neonatos de *Macrothrix elegans* por cada réplica y se incubaron en condiciones de temperatura

constante de 24°C y un nivel de iluminación de aproximadamente 1110 Lux. A las 24 y 48 horas se contabilizó el número de individuos vivos por recipiente.

Cuadro 5.9. Reactivos necesarios para la preparación de los controles positivo y negativo en la prueba de toxicidad con *Macrothrix elegans*.

Solución	Reactivo	Diluyente
Control Negativo	No aplica	Medio de cultivo para <i>Macrothrix elegans</i>
Control Positivo	10 µg Cr <sup>+6</sup> / mL (1 mL)	Medio de cultivo para <i>Macrothrix elegans</i>

Fuente: Elaboración propia, 2023.

### iii) Prueba de toxicidad aguda con *Lemna minor*

Se prepararon seis concentraciones diferentes de la muestra de agua residual (Cuadro 5.10) (100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25% y 3,125%), además de los controles positivo y negativo. Como control negativo se utilizó el propio medio de cultivo para *L. minor* y como control positivo una solución de 10µg Zn<sup>+2</sup>/ mL (Cuadro 5.11).

Cuadro 5.10. Reactivos necesarios para la preparación de los controles positivo y negativo en la prueba de toxicidad con *Macrothrix elegans*.

Solución	Concentración de agua residual (%)
1	100
2	50
3	25
4	12,5
5	6,25
6	3,125

Fuente: Elaboración propia, 2023.

Cuadro 5.11. Reactivos necesarios para la preparación de los controles positivo y negativo en la prueba de toxicidad con *Macrothrix elegans*.

Solución	Reactivo	Diluyente
Control Negativo	No aplica	Medio de cultivo para <i>Lemna minor</i>
Control Positivo	10µg Zn <sup>+2</sup> / mL. (7,5 mL)	Medio de cultivo para <i>Lemna minor</i>

Fuente: Elaboración propia, 2023.

Se realizaron tres réplicas por cada solución y se expusieron dos plantas de *Lemna minor* por cada réplica. Se incubaron en condiciones de temperatura constante de 24°C y un nivel de iluminación de aproximadamente 4000-5600 Lux. A los 7 días fue medida la biomasa generada (peso en húmedo), se estufó por 24 horas y se midió de nuevo la biomasa por parte de las plantas (peso en seco).

### 5.3.2. Para procesamiento de datos

- **Primera fase:** Se dio la evaluación teórica inicial del trabajo. Donde se realizó una revisión de artículos científicos, manuales, tesis y otro tipo de literatura con contenido relevante, vinculados a la calidad de aguas residuales.

Además, se implementó una estrategia de búsqueda en diversas fuentes de documentación confiables, como repositorios del país: Universidad Nacional de Costa Rica, Universidad de Costa Rica, artículos científicos internacionales, y a su vez documentación oficial encontrada en el IRET. Dando una delimitación con palabras claves como “ecotoxicidad” y “calidad de las aguas”. Siendo estas utilizadas como base para la formulación de múltiples combinados de palabras.

- **Segunda fase:** Se estudiaron las diferentes características de la zona de estudio y sus índices representativos. Así como los informes operacionales y/o las dimensiones estructurales de la planta de tratamiento.
- **Tercera fase:** Se realizó el mantenimiento de los tres diferentes cultivos de *Macrothrix elegans*, *Hydra viridissima* y *Lemna minor*. Seguidamente, se tomó la muestra ambiental en la PTAR del residencial, para proceder con la puesta en marcha de los bioensayos con los organismos. Así mismo, se determinó el caudal del cuerpo receptor en el punto de vertido de los efluentes de la planta de tratamiento.

- **Cuarta Fase:** Se interpretaron los resultados obtenidos de los bioensayos y se determinó el nivel de toxicidad en las aguas residuales.

### **5.3.3. Para interpretación de datos**

Para la interpretación de los datos se realizaron las visitas de campo. Donde se dieron los registros fotográficos, registros de campo y se tomaron las muestras. Todo esto de manera inductiva, de observaciones individuales y repetitivas donde se generaron principios generales. Seguidamente se llevó a cabo el procesamiento de los análisis de calidad de los vertidos por medio de los bioensayos. Así mismo, se dio una revisión de registros previos durante el año 2023 solicitados a la Empresa de Servicios Públicos de Heredia, sobre información de los Reportes Operacionales, procesos unitarios del sistema de tratamiento de aguas residuales, entre otros.

### **5.3.4. Para validación de datos**

La validación de datos se realizó por medio de la división de etapas en diferentes actividades, con el fin de generar un producto (Figura 5.4). Por consiguiente, se ejecutaron las actividades para la puesta en marcha de inicio hasta el final (Figura 5.3). Donde en la primera etapa fue por medio de revisión bibliográfica de fuentes oficiales. Así mismo, en la ejecución de actividades de laboratorio y muestreo, se dio toda la terminología por medio de validación de datos de reglamentos oficiales de referencia, buscando el mejor referente para el proyecto. Estas etapas y validación de los datos fueron parte vital para la realización de dicho proyecto, permitiendo generar datos confiables tanto para los organizadores del proyecto, como el futuro lector. A continuación, se resume mediante un diagrama de flujo la metodología empleada en esta investigación.



Figura 5.3. Diseño metodológico empleado.

Fuente: Elaboración propia, 2023.

Para una mayor comprensión de la metodología, se presenta con una división por etapas, las diferentes actividades y la generación de los productos esperados. Donde las principales actividades realizadas son: las visitas de campo, revisión bibliográfica, muestreos periódicos, análisis de parámetros fisicoquímicos, ejecución de las pruebas de toxicidad, procesamiento e interpretación de datos y finalmente la validación de información.

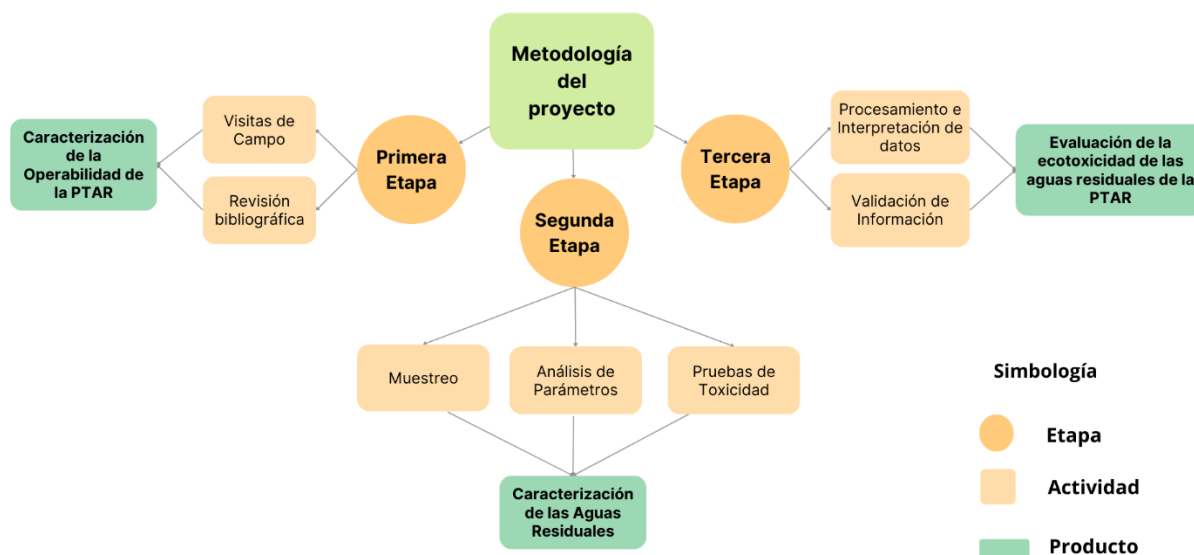


Figura 5.4. Diagrama de la metodología implementada según las etapas del proyecto.

Fuente: Elaboración propia, 2023.

## 5.4. Otros aspectos para considerar

Además de la metodología empleada con anterioridad, es de suma importancia considerar las diferentes actividades claves para la ejecución de este proyecto y su presupuesto, las cuales se presentan en este apartado.

### 5.4.1. Presupuesto

A continuación, se muestra la descripción de actividades en sus diferentes etapas. Desde sus gastos para la iniciación del proyecto, hasta los gastos a lo largo de su implementación (ver Anexo 5.6 para mayor detalle). Esta metodología se dividió en tres etapas y un apartado titulados “otros”.

La primera etapa correspondiente a la revisión bibliográfica fue el inicio del proyecto, permitiendo una formulación y generación de la información y énfasis necesario. Esta se encontró entre los primeros meses desde abril hasta julio. Seguidamente, se presentó la segunda etapa donde se dio la implementación y operación de las actividades necesarias para la creación del proyecto. Desde las giras de campo, hasta el uso de laboratorio para los bioensayos específicos. Esta etapa se encontró entre los meses de abril a julio,

generando en su mayor parte gastos asumidos por el IRET y de alimentación por parte de los beneficiados del proyecto. Consecutivamente, se encontró la tercera etapa, la cual fue prevista para realizarse entre los meses de agosto a noviembre, esta permitió el cierre de la parte práctica del proyecto más la puesta en marcha de la interpretación de resultados.

Por último, en el apartado final se exponen aspectos que están presentes en las tres etapas expuestas con anterioridad. En este contexto, se contemplan honorarios profesionales realizados a ad-honorem, algunos imprevistos que pudieran surgir a lo largo de la puesta marcha del proyecto y gastos administrativos de telefonía e internet, necesarios para el surgimiento del proyecto.

### 5.4.2. Cronograma de actividades

En el siguiente cuadro se muestra el cronograma de actividades requeridas para el presente proyecto.

Cuadro 5.12. Cronograma de actividades del proyecto.

Actividades	Abr				May				Jun				Jul				Ago				Set				Oct				Nov			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
<b>Semanas</b>																																
<i>Reunión de apertura</i>	■	■																														
<i>Redacción de Anteproyecto</i>	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■																				
<i>Preprocesamiento en laboratorio</i>																																
<i>Levantamiento de información técnica</i>			■	■	■	■	■	■																								
<i>Mapas / Esquemas</i>			■	■	■	■	■	■																								
<i>Giras de campo</i>					■	■	■	■	■	■	■	■																				
<i>Análisis de laboratorio</i>					■	■	■	■	■	■	■	■																				
<i>Presentación de anteproyecto</i>											■	■																				
<i>Interpretación de resultados</i>													■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■				
<i>Redacción de Discusión y resultados</i>																							■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
<i>Redacción Conclusiones y recomendaciones</i>																													■	■	■	■
<i>Integración de capítulos para informe unificado</i>																															■	■

Fuente: Elaboración propia, 20

### 5.4.3. Ruta crítica

A continuación, en el Cuadro 5.13 se muestra la distribución de las actividades clasificadas según su importancia. Distinguiendo aquellas tareas *críticas* para la ejecución del proyecto y su porcentaje de progreso hasta la actualidad.

Cuadro 5.13. Ruta crítica del proyecto.

<i>Tareas</i>	<i>Categoría</i>	<i>Progreso</i>	<i>Abr</i>	<i>May</i>	<i>Jun</i>	<i>Jul</i>	<i>Ago</i>	<i>Set</i>	<i>Oct</i>	<i>Nov</i>
<i>Preprocesamiento laboratorio</i>	<b><i>Importante</i></b>	100%								
<i>Levantamiento de información técnica</i>	<b><i>Medio</i></b>	100%								
<i>Giras de campo</i>	<b><i>Importante</i></b>	100%								
<i>Análisis de laboratorio</i>	<b><i>Importante</i></b>	100%								
<i>Interpretación de resultados</i>	<b><i>Importante</i></b>	100%								
<i>Presentación de resultados</i>	<b><i>Importante</i></b>	100%								

Fuente: Elaboración propia, 2023.

### 5.4.4. Ética en la investigación

El presente proyecto se realiza bajo el código ético del Colegio Federado de Ingenieros y de Arquitectos de Costa Rica (CFIA) donde se establece en el Artículo 4 (CFIA, 2023, pág.1): “*Los miembros incorporados al Colegio Federado de Ingenieros y de Arquitectos de Costa Rica reconocen que la seguridad de la vida, la salud, los bienes, la conservación del ambiente y el bienestar público de la sociedad, se encuentran inmersos dentro de las diversas actividades del quehacer profesional. Por lo anterior, los miembros del Colegio Federado tomarán las medidas pertinentes para no poner en riesgo la vida, así como para prevenir daños al entorno social o ambiental en que se desempeñan, aplicando los conocimientos técnicos y científicos que rigen la profesión en que se encuentran incorporados al Colegio Federado.*”

El anterior resulta uno de los artículos presentes en dicho documento el cual el proyecto se basa. Así mismo, los muestreos y análisis en los laboratorios se realizan bajo el Reglamento de Vertido y Reuso de Aguas Residuales, y sus diferentes normativas que lo rigen. El artículo 38, Decreto 33061-MINAE-S/2011, establece: “Para los efectos de este Reglamento, los métodos de referencia para el muestreo y análisis de aguas residuales serán los incluidos en la última edición del *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*” de acuerdo con el Decreto N° 25018-MEIC, publicado en *La Gaceta* N° 59 del 25 de marzo de 1996.

Así mismo, los análisis de laboratorio se deben realizar con el debido cuidado y ética profesional, para generar resultados válidos. Estos análisis se realizaron de acuerdo con el “Artículo 49 del Decreto 33061-MINAE-S/2011 - Laboratorios autorizados para el análisis de aguas residuales. Para los efectos de este Reglamento, los reportes de laboratorio de análisis de aguas residuales deberán provenir de laboratorios habilitados por el Ministerio de Salud”.

## **Capítulo 6. Resultados**

En el presente capítulo se muestran los resultados obtenidos, para de esta manera cumplir con los objetivos planteados en este proyecto. Así como el abordaje de la discusión de los principales hallazgos mediante el análisis de la ecotoxicidad de la planta de tratamiento de aguas residuales de estudio.

### **6.1. Caracterización operativa de la PTAR**

Mediante la metodología propuesta en el apartado 5.3.1. para recopilación de datos, se obtuvo la información característica de la operabilidad y parámetros de diseño del sistema de tratamiento de aguas residuales.

#### **6.1.1. Descripción general del sistema de tratamiento de aguas residuales**

El sistema de tratamiento posee una única fuente de recolección de aguas residuales, siendo esta por medio del residencial. Este sistema ha sido diseñado para tratar únicamente aguas residuales de tipo ordinario, con capacidad de tratamiento para las aguas producidas por 797 personas en 177 casas (Cuadro 6.1). Esta planta de tratamiento se encuentra debidamente inscrita ante los entes requeridos, con las características necesarias para cumplir adecuadamente con los límites máximos permisibles según el Reglamento de Vertido y Reuso de Aguas Residuales.

El sistema posee un proceso biológico, natural y aeróbico llamado “lodos activos con aireación extendida”. El tratamiento es realizado por microorganismos (lodos activados) que se mezclan entre ellos con la inyección de aire, se alimentan de la materia orgánica contaminada del agua residual, crecen, se multiplican y transforman los contaminantes biológicos en biomasa, dióxido de carbono y agua (Figura 6.1).

Cuadro 6.1. Parámetros de diseño de la planta de tratamiento.

Capacidad de Diseño	Tiempo de Retención	Caudales de Diseño	Cuerpo Receptor	Frecuencia de Reportes Operacionales	Procesos Unitarios
177 familias (797 personas)	24 horas	-Caudal promedio diario: 204,248 m <sup>3</sup> /día -Caudal máximo diario: 204 m <sup>3</sup> /día -Caudal máximo horario: 19,1 m <sup>3</sup> /h	Río Bermúdez	Semestral	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cámara de entrada</li> <li>• Tanque aireador</li> <li>• Sedimentador secundario</li> <li>• Digestor de lodos</li> <li>• Lecho de secado de lodos</li> <li>• Caseta de soplador</li> </ul>

Fuente: Elaboración propia con datos suministrados por ESPH, 2023.



Figura 6.1. Ejemplo de toma de muestra del reactor biológico para la medición volumétrica y control de la concentración de biomasa.

Fuente: Elaboración propia, 2023.

El sistema de tratamiento propuesto para esta planta fue desarrollado bajo principios que indican que se puede esperar una eficiencia en la reducción de DBO en un rango de 85% a 98%. Enseguida, se muestran las eficiencias consideradas en el diseño, las concentraciones a obtener del efluente y los valores máximos permisibles según la legislación (Cuadro 6.2).

Cuadro 6.2. Eficiencia del sistema de la planta de tratamiento de estudio.

Parámetro	DQO (mg/L)	DBO (mg/L)	SST (mg/L)	pH	G Y A (mg/L)	Ssed (mL/L/h)	SAAM (mg/L)
<b>Entrada (afuente)</b>	400	300	300	7	50	10	10
<b>Eficiencia esperada</b>	64%	85%	85%	NA	60%	90%	60%
<b>Salida (efluente)</b>	145	45	45	7	20	1	4
<b>Norma de Vertido (límite máximo)</b>	150	50	50	5 a 9	30	1	5

Nota: DQO = Demanda Química de Oxígeno, DBO = Demanda Bioquímica de Oxígeno, SST = Sólidos Suspendidos Totales, pH = potencial de Hidrógeno, G y A = Grasas y Aceites, Ssed = Sólidos Sedimentables, SAAM= Sustancias activas al azul de metileno.

Fuente: Elaboración propia con datos suministrados por ESPH, 2023.

Mediante muestreos periódicos se obtuvieron parámetros fisicoquímicos de los efluentes de planta de tratamiento. En los muestreos se obtuvo un pH que va desde 5,7 hasta 6,68, la conductividad osciló entre 560  $\mu\text{S}/\text{cm}$  y 656  $\mu\text{S}/\text{cm}$  y el oxígeno disuelto entre valores de 3,72 ppm a 4,72 ppm (Cuadro 6.3).

Cuadro 6.3. Parámetros fisicoquímicos medidos en campo de la planta de tratamiento.

Parámetro	T (°C)	pH	Cond ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	OD (ppm)
<i>Muestreo 1</i>	24,2	6,68	623	4,20
<i>Muestreo 2</i>	25,0	6,50	656	4,70
<i>Muestreo 3</i>	25,2	5,70	560	3,72
<i>Muestreo 4</i>	24,9	6,40	617	4,72

Fuente: Elaboración propia, 2023.

### 6.1.2. Caracterización del cuerpo receptor

Como se estableció en la sección 6.1.1. el cuerpo receptor de los efluentes de la planta de tratamiento es el Río Bermúdez, mediante las visitas a este cuerpo de agua se identificó el punto de vertido de los efluentes de agua residual en el río. Donde en términos cualitativos, se puede caracterizar el efluente sin aparente turbiedad y sin olores percibidos (Figura 6.2).



Figura 6.2. Punto de vertido de los efluentes de la planta de tratamiento al Río Bermúdez.

Fuente: Elaboración propia, 2023.

Por otra parte, se determinó que este es un cauce en dónde aguas abajo del punto de vertido de las aguas residuales provenientes del residencial, existen viviendas aledañas al río donde se identificaron puntos de vertido de aguas servidas de manera directa al cauce del río. En adición, se determinó el caudal en tres puntos distribuidos estratégicamente en este río: antes, en el punto de vertido y aguas abajo, obteniendo los valores de  $0,232\text{m}^3/\text{s}$ ,  $0,194\text{m}^3/\text{s}$  y  $0,339\text{m}^3/\text{s}$  respectivamente (Cuadro 6.4).

Cuadro 6.4. Caudales medidos en el cuerpo receptor.

Punto de Medición	Antes del punto de Vertido	Punto de Vertido	Después del punto de Vertido
Caudal ( $\text{m}^3/\text{s}$ )	0,232	0,194	0,339

Fuente: Elaboración propia, 2023.

## 6.2. Resultados de las pruebas de toxicidad aguda

En el presente apartado se muestran los resultados tanto cuantitativos como cualitativos de las pruebas de toxicidad aguda aplicadas a los organismos *Hydra viridissima*, *Macrothrix elegans* y *Lemna minor* utilizados como indicadores.

### 6.2.1. Pruebas de toxicidad aplicadas a *Hydra viridissima*

A partir de las pruebas aplicadas al organismo *Hydra viridissima* con muestras de los efluentes de la planta de tratamiento a diferentes concentraciones (100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25% y 3,125%) durante el periodo de estudio, comprendido por cuatro muestreos periódicos, se determinaron los porcentajes de efectos subletales (cambios morfológicos) y letales (muerte de los individuos) de la muestra de agua residual sobre los organismos en estudio. Resultando para los cuatro muestreos una afectación nula (0%) por parte de las aguas residuales a diferentes concentraciones sobre los organismos vivos, los cuales no presentaron algún cambio morfológico o afectación al ser expuestos a estos efluentes (Cuadro 6.5, 6.6 y Figura 6.3).

Cuadro 6.5. Porcentajes de subletalidad de la muestra de agua residual a diferentes concentraciones de los efluentes de la PTAR para *Hydra viridissima*.

<i>Hydra viridissima</i>								
Concentración de la muestra (%)	Porcentajes de Subletalidad (%)							
	Muestreo 1		Muestreo 2		Muestreo 3		Muestreo 4	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
<b>Control Negativo</b>	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Control Positivo (Cr<sup>+6</sup> 1,00 µg / mL)</b>	33.00	55.55	11.11	100	33.33	100	33.33	88.88
<b>100</b>	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>50</b>	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>25</b>	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>12.5</b>	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>6.25</b>	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>3.125</b>	0	0	0	0	0	0	0	0

Fuente: Elaboración propia, 2023.

Cuadro 6.6. Porcentajes de letalidad de la muestra de agua residual a diferentes concentraciones de los efluentes de la PTAR para *Hydra viridissima*.

<i>Hydra viridissima</i>								
Concentración de la muestra (%)	Porcentajes de Letalidad (%)							
	Muestreo 1		Muestreo 2		Muestreo 3		Muestreo 4	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
<b>Control Negativo</b>	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Control Positivo (Cr<sup>+6</sup> 1,00 µg / mL)</b>	0	0	0	0	0	55.55	0	33.33
<b>100</b>	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>50</b>	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>25</b>	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>12.5</b>	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>6.25</b>	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>3.125</b>	0	0	0	0	0	0	0	0

Fuente: Elaboración propia, 2023.

La validación de estos resultados se comprueba mediante los controles positivos en cada prueba que permiten determinar la confiabilidad de estas y que según Ramírez y Mendoza (2008), permiten confirmar las características específicas de reversión de cada cepa, como parámetro de certeza para una buena eficiencia del sistema de activación. Esto debido a que los organismos fueron expuestos a una concentración de 1,00 µg Cr<sup>+6</sup>/ mL donde presentaron cambios morfológicos como tentáculos abastoados, acortados, y en forma de tulipán (Anexo 6.9). Obteniendo al final de cada prueba (48 horas) porcentajes de efectos subletales de entre 50% y 100% y valores de efectos letales de 55,55% y 33,33% en los muestreos #3 y #4 respectivamente.



Figura 6.3. Organismos de *Hydra viridissima* en estado normal al ser expuestos a las aguas residuales de la PTAR.

Fuente: Elaboración propia, 2023.

### 6.2.2. Pruebas de toxicidad aplicadas a *Macrothrix elegans*

Inicialmente, las pruebas aplicadas al organismo representativo *Macrothrix elegans*, en el primer muestreo, al realizar las lecturas respectivas se determinó inválido el bioensayo. Debido a que los organismos expuestos a los controles negativos como indicadores de la confiabilidad de la prueba, resultaron en porcentajes de mortalidad mayores a un 10% (valor el cual la prueba considera dentro de la incertidumbre que podría aceptarse en el control negativo) con valores de 20% y 47%. De acuerdo con esto y según Peluso (2021), estos controles negativos corresponden a un grupo de organismos expuestos a la misma agua de dilución que el ensayo, pero sin la adición del material a evaluar, y en las mismas condiciones y procedimientos. Se busca que este control sirva para la comparación de las diferentes concentraciones, debido a que en este no se espera una mortalidad, al contrario que en las diferentes concentraciones o el control positivo. Estos resultados pudieron ser provocados por una inadecuada manipulación de los cultivos de los organismos, de la cristalería o los reactivos. Por esta razón, no se logró la determinación de los porcentajes de letalidad para este muestreo.

Para los siguientes tres muestreos de las aguas residuales y la aplicación en las pruebas ecotoxicológica se obtuvieron resultados significativos. En el muestreo #2 se encontró que para el agua residual del alcantarillado sanitario del residencial luego de ser tratada presentó porcentajes

de mortalidad de los organismos en las diferentes concentraciones, existiendo porcentajes mayores en las concentraciones más altas de la muestra con valores de 20% y 13% al finalizar la prueba.

Posteriormente, para el muestreo #3, a las 24 horas todavía no se presentó la muerte de organismos para las concentraciones de la muestra. Sin embargo, a las 48 horas, sí existió mortalidad de los organismos en las concentraciones de 100%, 25%, 12.5% y 6.25% donde el mayor porcentaje fue de 13.33% de efecto letal.

En el muestreo #4, existieron porcentajes de letalidad en la mayoría de las concentraciones de agua residual a excepción de la muestra al 12.5%. Así mismo, el mayor porcentaje de mortalidad se encontró en la solución de agua residual a una concentración del 6.25% con un valor de 13.33%. Todos los resultados descritos con anterioridad de las pruebas aplicadas a *Macrothrix elegans* se muestran enseguida (Cuadro 6.7 y Figura 6.4).

Cuadro 6.7. Porcentajes de letalidad de la muestra de agua residual a diferentes concentraciones de los efluentes de la PTAR para *Macrothrix elegans*.

<i>Macrothrix elegans</i>								
Concentración de la muestra (%)	Porcentajes de Letalidad (%)							
	Muestreo 1		Muestreo 2		Muestreo 3		Muestreo 4	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
<b>Control Negativo</b>	20.00	47.00	0	0	0	0	0	0
<b>Control Positivo (Cr<sup>+6</sup> 0,10 µg/ mL)</b>	-	-	20.00	96.67	-	-	6.67	20.00
<b>100</b>	-	-	16.67	<b>20.00</b>	0	13.33	3.33	3.33
<b>50</b>	-	-	6.67	13.33	0	0	0	3.33
<b>25</b>	-	-	13.33	<b>20.00</b>	0	6.67	3.33	6.67
<b>12,5</b>	-	-	6.67	13.33	0	6.67	0	0
<b>6,25</b>	-	-	3.33	6.67	0	10.00	3.33	13.33
<b>3,125</b>	-	-	0	3.33	-	-	0	6.67

Nota: En negrita se resalta el porcentaje máximo de mortalidad registrado en el estudio.

Fuente: Elaboración propia, 2023.



Figura 6.4. Prueba de toxicidad aplicada a *Macrothrix elegans* con diferentes concentraciones de los efluentes de la PTAR.

Fuente: Elaboración propia, 2023.

### 6.2.3. Pruebas de toxicidad aplicadas a *Lemna minor*

Al realizar las pruebas de toxicidad a *Lemna minor* (Figura 6.5), una vez finalizado el tiempo de ejecución, se determinó para los resultados finales de peso seco de los productores primarios, una amplia variabilidad tanto en los controles positivo y negativo como en las diferentes concentraciones de agua residual. Estos no presentaron un patrón uniforme para todos los muestreos realizados. Mediante esta prueba se determinaron los porcentajes de inhibición de crecimiento de estas especies, al ser expuestas a la mezcla compleja que implican los componentes de las aguas residuales, donde en el caso de los controles positivos resultaron porcentajes de inhibición de hasta 83.1% lo cual valida los resultados al ser un indicador de la inhibición de su producción de biomasa.

En lo que corresponde a la primera prueba aplicada durante el muestreo #1, se obtuvieron porcentajes de inhibición negativos, esto representa el caso contrario a la inhibición del crecimiento de las plantas. En cambio, son indicadores de que existió un aumento en la reproducción de *L. minor*, principalmente en la muestra de concentración de 100%, es decir, la muestra pura de los efluentes de la planta de tratamiento.

Por otra parte, en la segunda prueba de toxicidad en el muestreo #2, se determinaron los porcentajes de inhibición para únicamente tres concentraciones de la muestra de agua residual (100%, 50% y 25%), donde para la mayor concentración se obtuvo un valor negativo de -15,7% (indicativo de estimulación de crecimiento respecto al control). Sin embargo, para las menores concentraciones de 50% y 25% se obtuvieron valores positivos de inhibición, lo anterior indica que fue en estas últimas concentraciones donde sí existió una inhibición en la reproducción de las plantas acuáticas.

Por consiguiente, durante la tercera prueba se obtuvieron únicamente valores positivos de inhibición del crecimiento para todas las concentraciones de los efluentes, siendo 23.3% el mayor valor y 2.5% el menor. Finalmente, durante el cuarto muestreo, al realizar la prueba de toxicidad se obtuvieron resultados variables con respecto a los porcentajes de inhibición de la biomasa de los productores primarios en estudio, donde los valores variaron para todas las concentraciones de la muestra de los efluentes de la planta, existieron tanto valores positivos como negativos (Cuadro 6.8).

Cuadro 6.8. Porcentajes de inhibición del crecimiento de la muestra de agua residual a diferentes concentraciones de los efluentes de la PTAR para *Lemna minor*.

<i>Lemna minor</i>				
Concentración de la muestra (%)	Inhibición del crecimiento (% Biomasa)			
	Muestreo 1	Muestreo 2	Muestreo 3	Muestreo 4
<b>Control negativo</b>	0	0	0	0
<b>Control positivo</b> (Zn <sup>+2</sup> 10 µg / mL)	77.50	83.10	79.20	75.30
<b>100</b>	-93.10	-15.70	23.30	-62.30
<b>50</b>	-15.70	12.40	7.50	45.50
<b>25</b>	-16.70	14.60	0	-50.60
<b>12.5</b>	-15.70	-	2.50	58.40
<b>6.25</b>	-34.30	-	0	-44.20
<b>3.125</b>	-	-	8.30	16.90

Fuente: Elaboración propia, 2023.



Figura 6.5. Prueba de toxicidad aplicada a *Lemna minor* con diferentes concentraciones de los efluentes de la PTAR.

Fuente: Elaboración propia, 2023.

### 6.3. Cálculo de la dilución del efluente en el cuerpo receptor

Debido a que no se cuenta con resultados de la evaluación de la toxicidad en el efluente directamente, se puede hacer un cálculo teórico de la dilución de la descarga en el cuerpo receptor, utilizando por ejemplo la fórmula descrita en Saenz et al (2003):

Concentración del efluente en cuerpo Receptor (CER) =  $(Q_e / (Q_e + Q_{mR}) \times 100$ ; donde:

$Q_e$  = es el caudal del efluente en  $m^3/h$

$Q_{mR}$  = es el caudal mínimo del río

En este caso se puede utilizar el caudal máximo diario de la PTAR como  $Q_e$ , y se puede utilizar el caudal en el punto de descarga al Río Bermúdez como referencia del punto de dilución más cercano que se denominará QR (a utilizar en el lugar de  $Q_{mR}$ ). Se tiene entonces un valor de  $Q_e$  de  $19,1 m^3/h$  (Cuadro 6.1). En el caso del cuerpo receptor se transforma el caudal de  $0,194 m^3/s$  a  $m^3/h$  (Cuadro 6.4) lo que resulta en un valor de  $698,4 m^3/h$ .

$$CER = \frac{19,1 m^3/h}{19,1 m^3/h + 698,4 m^3/h} * 100$$

$$CER = 2,7\%$$

Al aplicar la fórmula  $CER = (Q_e / (Q_e + QR) \times 100$  se estima que la CER es de 2,7%. Es decir, se tiene una dilución de la descarga a un 2,7% en el punto de descarga al río Bermúdez. Este valor se puede comparar con la concentración de efluente (%) que causa el mayor grado de

toxicidad en cada análisis de laboratorio, y así estimar de forma teórica el riesgo de efectos agudos, en este caso.

#### **6.4. Discusión de resultados**

En el siguiente apartado se dispone la discusión de algunos de los principales hallazgos que fueron identificados a lo largo de la ejecución del proyecto. Estos se consideran relevantes tanto en relación directa con los resultados obtenidos a partir de las pruebas ecotoxicológicas, como en aspectos adyacentes a los objetivos planteados.

##### **6.4.1. Discusión de principales hallazgos**

###### a) Sobre porcentajes de toxicidad obtenidos en las pruebas aplicadas a *Hydra viridissima*

Para las cuatro pruebas aplicadas a los organismos de la especie *Hydra viridissima* se obtuvieron valores de 0% de subletalidad y letalidad por parte de los efluentes de la planta de tratamiento en todas las concentraciones de las soluciones preparadas a partir de estas aguas residuales sobre los organismos expuestos de esta especie. Las razones que justifican estos resultados radican principalmente en que la composición de los efluentes del sistema de tratamiento de aguas residuales en estudio no representa alguna afectación inmediata a nivel morfológico ni de mortalidad hacia estas especies acuáticas. Lo anterior debido a no presentar una carga de contaminantes o sustancias tóxicas suficiente para generar efectos de toxicidad aguda a este organismo. Esto quiere decir que las aguas residuales generadas por residencial luego de ser tratadas y pasar por los distintos procesos y operaciones unitarias del sistema de tratamiento, reduce la carga de contaminantes tóxicos de manera que mitiga el impacto a corto plazo que podría implicar sobre los organismos acuáticos.

Complementario a lo anterior y de acuerdo con Fonseca y García (2015), una planta de tratamiento de aguas residuales puede disminuir los contaminantes físicos presentes en el agua efluente del uso humano a partir de los procesos físicos, químicos y biológicos de remoción de los contaminantes. Por lo tanto, debido a los porcentajes obtenidos, se obtiene que la planta de tratamiento tiene un funcionamiento donde las aguas una vez tratadas no contienen una carga de sustancias tóxicas que puede representar riesgos agudos para *H. viridissima* durante el periodo estudiado.

b) Sobre porcentajes de toxicidad obtenidos en las pruebas aplicadas a *Macrothrix elegans*

A través de los resultados obtenidos en las pruebas de toxicidad aplicadas a la especie de crustáceo *M. elegans*, se encontró una variación en los valores de los porcentajes de toxicidad para cada uno de los muestreos realizados. Se encontraron los mayores porcentajes de toxicidad durante el segundo muestreo en comparación con los dos restantes. Donde los efluentes lograron generar mortalidad de hasta un 20% sobre esta especie. Lo anterior sugiere que en esa fecha específica las aguas residuales de la planta de tratamiento tienen un mayor impacto sobre estos organismos acuáticos. Esto podría ser un indicador de la variación en las condiciones de las aguas residuales sobre un periodo de tiempo, causando efectos tóxicos a diferentes magnitudes. Lo anterior podría vincularse con la relación que existe entre las actividades que se lleven a cabo en el residencial o a nivel domiciliario y la composición fisicoquímica y microbiológica de las aguas residuales, como producto de la gestión de diferentes sustancias o compuestos químicos involucrados en estas actividades.

En adición a lo anterior, según Eddy y Metcalf (2003), las aguas residuales domésticas contienen material suspendido y disuelto, éstos son orgánicos e inorgánicos, que de acuerdo con el tipo de constituyente se suele clasificar en: convencionales (sólidos suspendidos y coloidales, materia orgánica carbonácea, nutrientes y microorganismos patógenos), no convencionales (orgánicos refractarios, orgánicos volátiles, surfactantes, metales, sólidos disueltos) y emergentes (medicinas, detergentes sintéticos, antibióticos veterinarios y humanos, hormonas y esteroides, etc.). Es probable que la variación de algunos de estos componentes posiblemente presentes en aguas residuales domiciliarias tenga relación con la variación de los niveles de toxicidad en un determinado periodo de tiempo.

En relación con el punto anterior, cabe resaltar la sensibilidad del consumidor primario *Macrothrix elegans* ante los agentes contaminantes si se compara con los resultados obtenidos con el consumidor secundario *Hidra viridissima*. Donde este último no presentó ningún efecto por toxicidad ante la exposición a la misma muestra de agua residual, tal como se demostró con anterioridad. Además, cabe recordar que para la metodología empleada en esta prueba los organismos seleccionados para la exposición son neonatos con menos de 24 horas de nacidos.

Por otra parte, al encontrar valores de toxicidad mayores en las concentraciones más bajas de la muestra de agua residual (donde la muestra se encuentra más diluida) en comparación con las concentraciones más altas, principalmente en las pruebas ejecutadas durante los muestreos 3 y 4, podría relacionarse con el concepto de biodisponibilidad. Este término está relacionado con la exposición y la facilidad con la que un contaminante puede llegar a ser asimilado por un ser vivo y hace referencia a las tasas de absorción o asimilación de una sustancia determinada por los organismos. Además, implica cuestiones contextuales como la solubilidad, transferencia de masa, movilidad y reactividad que determinan la exposición real al contaminante (De la Cal, 2015).

Para que las sustancias con propiedades tóxicas puedan causar un daño sobre un organismo, es necesario que pueda llegar a algún sitio donde tengan la capacidad de provocar una respuesta biológica, y por lo tanto deben poder ser asimiladas por el organismo vivo. Además, la exposición que se suele expresar en términos de concentración no depende únicamente de la cantidad del contaminante en el medio, sino, también de cómo este contaminante se distribuye tanto espacial como temporalmente en el medio. Esto va a determinar qué cantidad del contaminante es accesible para los organismos (De la Cal, 2015). En este sentido, los contaminantes pueden distribuirse entre la fase disuelta y la fase particulada o sedimentaria según las interacciones físicas y químicas del medio, y es esta distribución entre la fase acuosa y particulada uno de los fenómenos más influyentes sobre la exposición ambiental a los contaminantes en el medio acuático. Lo anterior se debe a que el contaminante unido a partículas o incorporado a la materia biológica en la columna de agua, con el tiempo y en función del régimen hidrológico, tienden a asentarse en el fondo llegando a incorporarse con el sedimento, ya sea unido al material orgánico o inorgánico o disuelto en el agua intersticial. Este proceso implica una transferencia neta de los contaminantes al fondo (Romagnoli y Doody, 2001).

Ahora bien, de acuerdo con Ogram et al. (1985), como norma general el contaminante debe estar disuelto para que se produzca una absorción del organismo receptor por medio de la membrana. Debido a que la capacidad de los seres vivos para asimilar un compuesto químico es mayor cuando se encuentra disuelto libremente. Por lo tanto, al unirse los contaminantes a la materia orgánica presente en las aguas, generalmente los hace menos tóxicos para la biota. Sin embargo, al menos una parte de la sustancia contaminante unida al material sólido también puede

ser asimilada. Pero es la fracción del contaminante que está disuelta en el agua la que está disponible de manera más inmediata en comparación con la que se une a la materia sólida.

Los porcentajes de efectos tóxicos encontrados en algunas de las concentraciones más bajas de los efluentes de la planta de tratamiento en estudio, de forma consistente en varios muestreos, pueden relacionarse con un tema de biodisponibilidad de los contaminantes al realizarse la dilución seriada de la muestra, Donde a medida que disminuye su concentración, las cantidades de material sólido disminuyen también. Sin embargo, la confirmación de esta hipótesis debe ser comprobada experimentalmente. Esto puede hacerse determinando la concentración de posibles contaminantes en la muestra y sus sólidos suspendidos, o comparando la toxicidad del componente de sólidos vs el de disueltos.

c) Sobre porcentajes de toxicidad obtenidos en las pruebas aplicadas a *Lemna minor*

Los resultados de las pruebas de toxicidad aplicadas al productor primario *Lemna minor* muestran una variación tanto en magnitud como en valores positivos y negativos. En este tipo de prueba, al determinar la medida en que la mezcla de aguas residuales inhibe el crecimiento de estas plantas acuáticas, los porcentajes de inhibición negativos obtenidos muestran el caso contrario. Es decir, en estos casos los efluentes y sus componentes promueven el crecimiento de las plantas (Figura 6.6). En este escenario, cabe resaltar que en las aguas residuales dentro de sus componentes se encuentran nutrientes que podrían estimular el crecimiento de estos productores.

De acuerdo con Taipicaña (2019), estos nutrientes mencionados presentes en las aguas residuales provienen de las excretas a través de las heces y orina, sumado a los residuos orgánicos domésticos y el uso de detergentes. Lo cual aumenta la carga de nitrógeno y de algunos compuestos del fósforo. Estos nutrientes son necesarios para el crecimiento de las plantas.

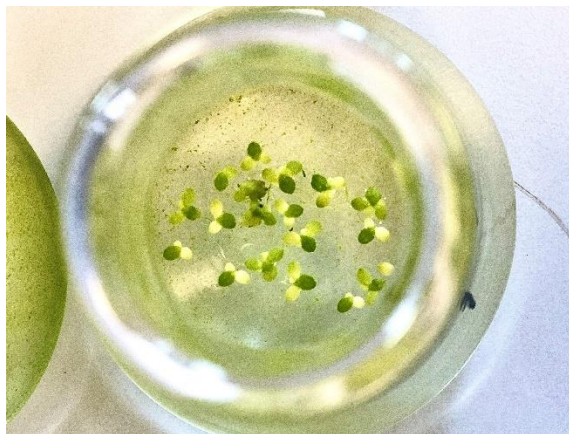


Figura 6.6. Reproducción de *Lemna minor* ante la exposición a los efluentes de la PTAR.

Fuente: Elaboración propia, 2023.

Por otra parte, cabe mencionar que, en casos donde las concentraciones de nutrientes en aguas residuales sean altas, podrían tener un impacto en el equilibrio del medio acuático donde sean vertidos los efluentes. Pues las concentraciones de nitrógeno y fósforo pueden promover el proceso de eutrofización, lo cual a su vez conlleva procesos de reducción del oxígeno disuelto en el medio. Es por esto, que es importante mantener equilibrados los niveles de estos nutrientes en las aguas residuales.

d) Sobre porcentajes de toxicidad en estudios previos y riesgo para cuerpo receptor

Mediante la recopilación de información sobre pruebas de toxicidad aplicadas previamente a las aguas residuales de la planta de tratamiento de estudio, se consideran los resultados encontrados. De acuerdo con Villegas (2022), los efluentes del sistema de depuración de aguas residuales presentaron niveles de toxicidad principalmente en las concentraciones más altas de la muestra (Cuadros 6.9 y 6.10).

Cuadro 6.9. Comparación de porcentajes de toxicidad en estudios previos para *Hydra viridissima* respecto a resultados actuales.

<i>Hydra viridissima</i>					
Concentración de la muestra (%)	Porcentajes de subletalidad (%)				
	2022	2023 Muestreo 1	2023 Muestreo 2	2023 Muestreo 3	2023 Muestreo 4
100	100	0	0	0	0
50	0	0	0	0	0
25	11,00	0	0	0	0
12.5	0	0	0	0	0
6.25	0	0	0	0	0
3.125	0	0	0	0	0
<i>Hydra viridissima</i>					
Concentración de la muestra (%)	Porcentajes de letalidad (%)				
	2022	2023 Muestreo 1	2023 Muestreo 2	2023 Muestreo 3	2023 Muestreo 4
100	0	0	0	0	0
50	0	0	0	0	0
25	0	0	0	0	0
12.5	0	0	0	0	0
6.25	0	0	0	0	0
3.125	0	0	0	0	0

Nota: En negrita se resalta el porcentaje de mortalidad registrado en el estudio en 2022.

Fuente: Elaboración propia, 2023.

Cuadro 6.10. Comparación de porcentajes de toxicidad para *Macrothrix elegans* en estudios previos respecto a resultados actuales.

<i>Macrothrix elegans</i>					
Concentración de la muestra (%)	Porcentajes de letalidad (%)				
	2022	2023 Muestreo 1	2023 Muestreo 2	2023 Muestreo 3	2023 Muestreo 4
100	<b>33,00</b>	-	-	16.67	20.00
50	<b>33,00</b>	-	-	6.67	13.33
25	<b>47,00</b>	-	-	13.33	20.00
12.5	-	-	-	6.67	13.33
6.25	-	-	-	3.33	6.67
3.125	-	-	-	0.00	3.33

Nota: En negrita se resalta el porcentaje de mortalidad registrado en el estudio en 2022.

Fuente: Elaboración propia, 2023.

Mediante esta comparativa de los porcentajes de toxicidad de las aguas residuales obtenidos en las pruebas realizadas en el año 2022, respecto a los resultados de la presente investigación, se demuestra que existe una proporción de reducción en los porcentajes de toxicidad sobre los organismos *Hydra viridissima* y *Macrothrix elegans* de los resultados actuales respecto al muestreo previo. Lo anterior podría deberse a la actividad dentro del residencial durante la fecha específica del muestreo de los estudios, ya que según Villegas (2022), durante la toma de la muestra de agua residual en el respectivo estudio se detectó presencia de residuos de pintura en los afluentes, debido a que se informó que se encontraba una vivienda en proceso de construcción dentro del residencial. Lo cual pudo haber alterado la composición de las aguas residuales y por ende implicar mayor toxicidad sobre los organismos.

e) Sobre la caracterización del cuerpo receptor y potenciales riesgos de las descargas de la PTAR

En cuanto a la estimación del riesgo de los porcentajes de toxicidad encontrados, y considerando las concentraciones con mayor porcentaje de efecto, tanto en 2022 como en 2023, se estima que la dilución de la descarga en el punto de muestreo bajo las condiciones de caudal determinadas en 2023 generaría un impacto de una toxicidad aguda menor a un 10%. Esto pues se

generaría una dilución hasta tener menos de un 3% de la descarga en el punto donde esta entra en contacto con el río. Sin embargo, esto puede ser diferente para otros tipos de efectos crónicos. La posibilidad de medir directamente la toxicidad de las aguas del cuerpo receptor debe en este caso considerar que este recibe otras descargas en apariencia sin tratar, punto del que se discute a continuación en este apartado. Por ello no podría relacionarse tan fácilmente la toxicidad encontrada en el río con aquella de la descarga. Para ello se tendría que medir al menos la toxicidad en el punto antes de la descarga para tener como base.

Como se mencionó en el apartado 6.1.2 de la sección de resultados, mediante las visitas de campo realizadas al río Bermúdez, se logró identificar información cualitativa respecto a este cuerpo receptor en el tramo adyacente a la zona de estudio. Tal como el vertido directo de efluentes por parte de viviendas cercanas al río (Figura 6.7) y la presencia de residuos sólidos ordinarios en el cauce (Figura 6.8). Lo cual implica un riesgo socio ambiental, pues el vertimiento de las aguas residuales a un cuerpo de agua superficial sin un previo tratamiento puede alterar en mayor proporción la calidad del agua, el ecosistema acuático e implicar incluso un riesgo para la salud pública.



Figura 6.7. Punto de vertido directo por parte de viviendas aledañas en el cuerpo receptor.

Fuente: Elaboración propia, 2023.



Figura 6.8. Punto de contaminación identificado en el cauce del cuerpo receptor.

Fuente: Elaboración propia, 2023.

f) Sobre los reportes operacionales y la legislación nacional

En el apartado 6.1.1. se demostró la descripción general del sistema de tratamiento, donde se logró evidenciar que dicha planta con base en el Reglamento de Vertido y Reuso de Aguas Residuales N° 33601, cumple con los parámetros de vertido a un cuerpo receptor. Contando con resultados menores a los límites máximos permitidos. Así mismo, se identificaron las eficiencias esperadas del sistema, lo cual permite evidenciar que dicha planta cuenta con un diseño, mantenimiento y funcionamiento adecuado por el ente encargado. Estos hallazgos son clave en la puesta en marcha de dicho proyecto, permitiendo conocer todos los panoramas para una interpretación adecuada.

En adición, mediante información brindada por el ente operacional de la planta de tratamiento en estudio se obtuvieron valores de los parámetros fisicoquímicos de los efluentes del sistema en fechas cercanas a los muestreos llevados a cabo (Cuadro 6.11). Lo que permiten realizar una comparativa con la legislación nacional mediante el Reglamento de Vertido y Reuso de Aguas Residuales N° 33601. Donde es posible identificar el cumplimiento respectivo con los límites máximos permisibles de los valores obtenidos de parámetros como: demanda química de oxígeno,

demanda bioquímica de oxígeno, sólidos suspendidos totales, potencial de hidrógeno y sólidos sedimentables.

Cuadro 6.11. Parámetros fisicoquímicos de los efluentes de la PTAR de estudio respecto a los límites establecidos en la legislación nacional.

Parámetro	DQO (mg/L)	DBO (mg/L)	SST (mg/L)	pH	Ssed (mL/L/h)
10/5/2023	80	6,3	3	8,58	0,1
8/6/2023	37	5	1	6,27	0,1
<b>Límite máximo permisible</b>	150	50	50	5 a 9	1
<b>Cumple</b>	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí

Nota: DQO = Demanda Química de Oxígeno, DBO = Demanda Bioquímica de Oxígeno, SST = Sólidos Suspendidos Totales, pH = potencial de Hidrógeno, Ssed = Sólidos Sedimentables.

Fuente: Elaboración propia, 2023.

En este sentido, aunque se requiere considerar demás parámetros contemplados en la legislación, a partir de los valores obtenidos se puede deducir un buen funcionamiento del sistema de depuración de las aguas del residencial. Se puede indicar a partir de esta investigación que esta planta de tamaño relativamente pequeño resulta en una disminución considerable de la carga de toxicidad aguda por contaminantes en las aguas residuales.

#### g) Posibles Riesgos en el Ecosistema

En las aguas residuales de tipo ordinario es común encontrar sustancias o compuestos que se derivan de los distintos productos regularmente utilizados en los hogares. Y aunque para la presente investigación se consideró el efluente de la planta de tratamiento como una mezcla compleja de sus compuestos, y sus efectos tóxicos sobre los distintos organismos acuáticos de prueba fueron relativamente bajos y nulos en algunos casos, resulta importante mencionar algunos de los compuestos y sustancias químicas que comúnmente se encuentran presentes en las aguas residuales domiciliarias.

Una de estas principales sustancias encontradas en aguas residuales son los tensoactivos, también conocidos como surfactantes. Los cuales constituyen el principal activo en detergentes, jabones, suavizantes, geles de baño y demás productos de lavado y limpieza en diferentes

presentaciones. Esto debido a su capacidad para modificar la tensión superficial y emulsionar y disolver aquellas sustancias que son insolubles en agua. Existen tensoactivos de tipo aniónico, catiónico, no iónico y anfótero. De acuerdo con Carvajal (2011), los tensoactivos aniónicos implican un especial interés actualmente, debido a que constituyen una fuente importante en el deterioro de la calidad de los cuerpos de agua superficial y subterránea. Estos compuestos pueden inhibir la degradación biológica de otras sustancias presentes en el agua, disminuyen la capacidad de autodepuración del cuerpo de agua, generan espumas que pueden alterar los procesos de dilución de oxígeno y termodinámicos y pueden alterar las concentraciones de fósforo, nitrógeno y azufre. Lo cual podría implicar procesos de eutrofización y esto eventualmente, acelera el crecimiento de microalgas, plantas acuáticas y demás especies que demandan un mayor consumo del oxígeno disuelto y hacen que los niveles disminuyan y sean inferiores a los requeridos para la vida de especies animales y vegetales. Así mismo, la disminución del oxígeno disuelto resulta en condiciones anaerobias que pueden generar malos olores.

Por otra parte, los compuestos de amonio cuaternario (QACs por sus siglas en inglés "Quaternary Ammonium Compounds") también se pueden encontrar en los efluentes residuales. Estos son un conjunto de compuestos que representan una familia de productos químicos de desinfección, debido a que tienen un alto poder en la inhibición de hongos, virus y bacterias. Se clasifican dentro del grupo de los tensoactivos catiónicos y se pueden encontrar en distintas presentaciones como líquidos, aerosoles, toallas desinfectantes, entre otros. De acuerdo con Bergero (2016), alrededor de un 75% de los compuestos de amonio cuaternario que se utilizan cada año se liberan en las plantas de tratamiento de aguas residuales, mientras que el resto se vierte de manera directa al ambiente en niveles que ponen en peligro el tratamiento biológico y los sistemas ambientales. Los QACs en el ambiente pueden implicar problemas ecológicos importantes. Como la formación de espuma que inhibe los procesos de depuración, concentra las impurezas y puede diseminar virus o bacterias y aumentar el contenido de fosfatos en la cuenca hídrica (Bergero, 2016). Así mismo, según menciona Lazo (2022), en un estudio realizado por el Núcleo Milenio para la Investigación Colaborativa en Resistencia Antimicrobiana (MICROB-R) se comprobó el daño que pueden provocar los compuestos de amonio cuaternario tanto en el medioambiente como en la salud. Este indica que podrían alterar negativamente dos tipos de bacterias, siendo estas del ambiente y microbiota. De manera que se generan bacterias resistentes

y que se adaptan a estos productos. Además, cuando contaminan ambientes naturales pueden eliminar bacterias y hongos beneficiosos, causando graves daños en el equilibrio del ambiente.

Otro de los contaminantes emergentes en aguas residuales que comúnmente se encuentran presentes y tienen la capacidad de producir efectos fisiológicos incluso a concentraciones bajas, son los residuos de productos farmacéuticos. La presencia de estos productos farmacéuticos puede considerarse un riesgo debido a los efectos negativos que pueden producir tanto en el agua como en la salud humana y animales. De acuerdo con Checa et al. (2021), los productos farmacéuticos son contaminantes emergentes que a concentraciones muy bajas pueden inducir efectos fisiológicos en los seres humanos y potenciales efectos adversos en la vida silvestre acuática. Estos residuos de fármacos generalmente ingresan a los sistemas acuáticos por medio de la ingestión y posterior excreción como compuestos no metabolizados o como metabolitos. No todos los productos farmacéuticos son removidos por completo en los sistemas de tratamiento de aguas residuales, por lo que pueden estar presentes en los efluentes de estos sistemas de tratamiento y en los cuerpos de agua (Quesada et al., 2009).

Según afirman Quesada et al. (2009), los medicamentos son diseñados con determinadas características. Por ejemplo, algunos de ellos son lipofílicos, es decir, que se disuelven en grasa, pero no en el agua, lo cual les permite atravesar la membrana de las células y actuar dentro de ellas. Lo que a su vez significa que, una vez que entran a los cuerpos de agua también pueden entrar en la cadena alimentaria. Así mismo, estos productos se diseñan para ser resistentes, lo que implica que tienen la capacidad de mantener su estructura química por un mayor tiempo, y que una vez que se encuentran en los cuerpos de agua, persisten. Una vez que los productos farmacéuticos llegan al medio ambiente pueden producir efectos secundarios indeseables, como afectar órganos, tejidos o células de los animales, así como también generar resistencia antimicrobiana. Sin embargo, aunque existen innumerables reportes sobre la toxicidad aguda de los medicamentos sobre distintos organismos, estos datos no son suficientes para determinar el impacto de los fármacos sobre el medio ambiente (Quesada et al., 2009). En este mismo sentido, Checa et al. (2021), afirman que la presencia de productos farmacéuticos en el ambiente acuático preocupa por su persistencia, bioacumulación, la toxicidad y la creación de resistencia a antibióticos de muchos microorganismos, entre otras consecuencias aún no estudiadas en el ambiente acuático. La bioacumulación de una sustancia o un compuesto químico se produce

cuando la cantidad que ingresa a un organismo es mayor que la que el organismo elimina. Como resultado de este proceso, la concentración del contaminante en el organismo es más elevada que la concentración en la fuente (Planes y Fuchs, 2015).

#### h) Posibles Necesidades de Gestión de Sustancias Tóxicas

- Aporte de los bioensayos a la gestión de las aguas residuales y su importancia en el contexto nacional

A través de entrevistas llevadas a cabo con los actores involucrados en el proyecto y gestores del agua, se formularon preguntas fundamentales sobre la aplicación de bioensayos en la gestión de aguas residuales y su relevancia a nivel nacional. La evaluación ecotoxicológica realizada en el transcurso de esta investigación, junto con los resultados obtenidos del análisis correspondiente al año 2022 para la planta de tratamiento en estudio, evidencia una disminución en la toxicidad de las aguas residuales después de haber sido sometida al proceso de tratamiento. Los bioindicadores utilizados en las pruebas nos brindan información de que el sistema opera en las condiciones necesarias para depurar las aguas de materia orgánica, y que al mismo tiempo se disminuyan los niveles de toxicidad letal y subletal para organismos acuáticos de diferentes niveles tróficos. Esto considerando que, los parámetros fisicoquímicos en el periodo de estudio se encuentran dentro del rango establecido en el Reglamento de Vertido y Reuso de Aguas Residuales N° 33601 para ser devuelta al medio natural.

No obstante, es importante destacar que, en nuestro país no existe un reglamento que considere la ecotoxicidad de los contaminantes en los sistemas de tratamiento de aguas residuales sobre el ecosistema acuático, como sí lo existen en otras regiones como Norteamérica, Suramérica y la Unión Europea (CONAMA, 2005; Finlayson et al., 2022). El Decreto N° 33903-MINAES sobre el Reglamento para la Evaluación y Clasificación de la Calidad de Cuerpos de Agua Superficiales es el único reglamento existente en Costa Rica en relación con bioindicadores que contempla los organismos del ecosistema acuático para la evaluación y clasificación de la calidad de los cuerpos de agua mediante la aplicación del índice BMWP (Biological Monitoring Working Party).

Es relevante discutir la inclusión en los reglamentos de los análisis ecotoxicológicos, para evaluar de manera más completa los contaminantes emergentes y

el riesgo que estos implican sobre la calidad de los cuerpos receptores. Aunque sí existen pruebas de toxicidad de sustancias que son comunes a aguas residuales, existen vacíos de información y escaso conocimiento a nivel regulatorio y por parte del público en general principalmente sobre la mezcla de contaminantes emergentes en efluentes y su efecto en el agua, el ecosistema y la salud pública.

En este sentido, los bioensayos de toxicidad sobre efluentes pueden aplicarse como una estrategia regulatoria que permita detectar la presencia de aguas residuales con potencial tóxico, y poder evaluar de esta forma el efecto sinérgico de todas estas sustancias y compuestos químicos. De acuerdo con Planes y Fuchs (2015), son estos estudios ecotoxicológicos los que brindan la información científica que luego puede traducirse en legislaciones con distinto alcance según el tipo de proceso de depuración, como regulaciones para las descargas de efluentes, autorizaciones para la aplicación deliberada de compuestos químicos y evaluación y remediación de sitios contaminados. En este mismo sentido, con base en pruebas ecotoxicológicas, se pueden establecer límites de cumplimiento, donde la magnitud de este parámetro dependa de los caudales tanto del efluente como del cuerpo receptor. De manera que los contaminantes en el efluente una vez diluidos en el cuerpo receptor, no superen los niveles de calidad del agua para su uso determinado, garantice la calidad del ecosistema y la sostenibilidad del recurso hídrico.

- Consideraciones de las pruebas de toxicidad de efluentes para la valoración del servicio de plantas de tratamiento de aguas residuales en general por parte del ente gestor

De acuerdo con el valor económico estimado para las pruebas de toxicidad detallados en el Anexo 23, respecto a otros parámetros fisicoquímicos contemplados en la legislación para el vertido de aguas residuales a un cuerpo receptor, y los criterios de los gestores de la planta de tratamiento en estudio en relación con las pruebas ecotoxicológicas a partir de los resultados de este proyecto, se determinan las posibles ventajas y aportes de la implementación de pruebas de toxicidad.

En un principio, se planteó la interrogante sobre la viabilidad de la aplicación de bioensayos, considerando los resultados obtenidos en las pruebas específicas de este proyecto. Los involucrados del proyecto, indicaron la necesidad de considerar que la

gestión de aguas residuales debe darse bajo un criterio de requerimientos claramente definidos por una legislación o reglamento. Además de las pruebas contempladas en la legislación nacional sobre los reportes operacionales de aguas residuales, estas pruebas de bioensayos se podrían tomar en cuenta siempre que sea para corroborar la calidad del vertido, y en función de disponibilidad de fondos regulados por entidades del Estado.

Como segunda interrogante, se plantearon las ventajas que se pueden derivar de la implementación de dichos bioensayos. En este contexto, se destacaron las percepciones compartidas sobre los beneficios inherentes a estas pruebas, en el cual estos mencionaron como ventaja, que se pueden aprovechar para determinar las características del agua en tratamiento. En particular, para las PTAR administradas y operadas ESPH S.A., que se caracterizan en su mayoría por ser del tipo de sistema de lodos activos por aireación extendida, al comprender el nivel de toxicidad facilita un manejo más específico de los microorganismos, no solo conociendo su adaptabilidad, sino que también poder mantener las condiciones y variables que garanticen de los lodos en el sistema de tratamiento.

Con respecto a la última interrogante, se examinó el aporte de estas pruebas específicas, en la valoración del servicio de saneamiento de aguas residuales en su conjunto. En el contexto de la empresa gestora de la planta de tratamiento, sus objetivos con respecto a los vertidos de aguas residuales tratadas se centran en cumplir con los estándares de calidad establecidos, donde se busca minimizar el impacto en el ecosistema y garantizar que no se conviertan en un foco de infecciones o propagaciones. Las pruebas de ecotoxicidad pueden desempeñar un papel valioso como indicador adicional de calidad sobre el servicio brindado por la institución en el tratamiento de aguas residuales. Aunque de momento no se presenta un reuso del que se deba controlar la toxicidad del agua vertida estos análisis muestran la capacidad del sistema de tratamiento para eliminar los niveles de toxicidad del agua tratada adicionalmente a la disminución de cargas orgánicas y contaminantes en el vertido que afecten al ecosistema.

## 6.5. Discusión de resultados en función de los objetivos del proyecto

En el presente apartado se describirán los niveles de cumplimiento de los objetivos.

- Objetivo 1: Por medio de la aplicación de los bioensayos de toxicidad aguda se logró la determinación de los porcentajes de letalidad y subletalidad de las aguas residuales domiciliarias de la planta en estudio sobre los tres organismos representativos del ecosistema acuático. Este objetivo se considera cumplido según lo esperado dado a que se tomaron las muestras del efluente de la PTAR (ver sección 3.2.1 y Figura 3.2). Así sí como también se ejecutaron todos los análisis de ecotoxicidad como se muestra en la sección 6.2.1 para *H. viridissima*, sección 6.2.2 para *M. elegans* y sección 6.2.3 para *L. minor*. Así mismo, se muestra en los Anexos 6.1 a 6.19.
- Objetivo 2: Mediante el análisis de información cuantitativa (sección 6.1.1; Cuadro 6.3 y sección 6.2; Cuadros 6.5, 6.6, 6.7 y 6.8) y cualitativa (sección 6.1.1, sección 6.4.1; incisos a), b) y c), y Figuras 6.2, 6.3, 6.5 y 6.6) se logró estimar los posibles riesgos al ecosistema acuático que implican los porcentajes de toxicidad estimados con anterioridad, como se discute en la sección 6.4.1 inciso g).
- Objetivo 3: Se examinó por medio de un diálogo con los gestores del agua (ver Anexo 4.2 y Anexo 6.22) las diferentes necesidades de gestión de sustancias tóxicas domiciliarias presentadas en la sección 6.4.1 inciso h).

## 6.6. Discusión de resultados en función de la metodología implementada

El diseño metodológico empleado para el desarrollo del presente proyecto logró cumplir con los objetivos planteados. Sin embargo, se logró identificar oportunidades de mejora.

- De acuerdo con Peluso (2021), la actividad humana genera grandes cantidades de desechos tóxicos que son liberados al ambiente, ingresando a los diferentes compartimentos de los ecosistemas, ya sea aire, agua, suelo o biota, dependiendo su destino de las propiedades fisicoquímicas, movilidad y persistencia de los compuestos que la integran. Los cuerpos de agua reciben directa o indirectamente descargas de contaminantes como consecuencia de las diferentes actividades antrópicas que tienen lugar en las cercanías de estos. Es por esto, que es fundamental realizar un estudio más amplio que implique una mayor

frecuencia en las visitas de campo. Para lograr así, una mejor caracterización del lugar de estudio, especialmente en términos de parámetros cualitativos. Incluyendo tales como olor, sustancias domiciliarias usadas en un momento específico, etc. Estos permitirían conocer a mayor detalle las actividades y características que pueden afectar en cierta medida la toxicidad de los efluentes de la planta de tratamiento como producto de las sustancias generadas en las diferentes actividades.

- La extensión de ejecución del proyecto se convierte en un elemento crucial, ya que al realizarse en un periodo de tiempo determinado limita una comparación extensa de los niveles de toxicidad encontrados. Además, es esencial tener en cuenta las variaciones por las condiciones climáticas y demás aspectos que puedan intervenir en los resultados. Un mayor tiempo de ejecución del proyecto o de exposición tal como destaca Peluso (2021) tiene una gran relevancia para un entorno de campo, donde las estimaciones de la concentración química ambiental y el tiempo de exposición proporcionan la base para la estimación del riesgo cuando se combinan con datos de laboratorio y otras exposiciones controladas.
- Para llevar a cabo una caracterización de las descargas al cuerpo receptor, es imperativo realizar un estudio detallado de toda la cuenca hidrográfica asociada al cuerpo receptor con mayor detenimiento. Esta aproximación permitiría una evaluación más completa de los niveles de toxicidad de los efluentes. Así mismo, tomando en cuenta de manera específica los demás sistemas de gestión de descargas que se dan en el río sin tener adecuado tratamiento previo, en relación con la perspectiva de Peluso (2021) sobre que los efectos disruptivos de los humanos en el ecosistema deben ser vistos dentro del contexto de variaciones físicas y químicas naturales dentro del medio ambiente, como los efectos climatológicos. Además, los organismos pueden adaptarse a la contaminación provocada por el hombre de la misma manera que pueden adaptarse a muchas otras variables ambientales, como la temperatura, la salinidad y la disponibilidad de alimentos y oxígeno. Por esta razón, se identifica de importancia de la caracterización del cuerpo receptor y todo lo que con lleva, desde lo climático hasta sus fuentes de contaminación.
- Los ensayos de tipo crónicos fueron diseñados para evaluar los efectos de los tóxicos durante una porción significativa del ciclo de vida de los organismos, en general un 10% o más del total del ciclo de vida., en donde dichos efectos suelen observarse cuando un

químico produce efectos adversos luego de una exposición a largo plazo a niveles bajos de uno o más tóxicos, y estos efectos pueden ser letales o subletales (Peluso, 2021). Es por esto, que se identifica la necesidad de incluir estudios de disrupción endocrina y efectos crónicos para una caracterización más completa y precisa del riesgo ecológico.

## **Capítulo 7. Conclusiones y recomendaciones**

El presente capítulo expone las conclusiones y recomendaciones derivadas a partir de la ejecución del proyecto y en relación con los objetivos planteados que originó esta investigación y sus resultados.

### **7.1. Conclusiones generales**

Mediante la aplicación de pruebas de toxicidad aguda a los tres organismos representativos del ecosistema acuático seleccionados, se determinaron los efectos letales y subletales de los efluentes de la planta de tratamiento en estudio. Los cuales mostraron una variación de porcentajes tanto entre las distintas especies como durante los diferentes muestreos en el periodo de estudio.

Los parámetros fisicoquímicos medidos en campo en cada muestreo, así como los obtenidos por ente operador se encuentran dentro de los límites máximos permisibles establecidos en el Reglamento de Vertido y Reuso de Aguas Residuales para ser descargados en el río Bermúdez. Disminuyendo el impacto en la calidad del cuerpo receptor y garantizar la salud pública y ambiental.

Se identificaron mediante las visitas de campo al tramo del cuerpo receptor adyacente a la planta el tratamiento, que existen puntos de contaminación directa de sólidos ordinarios y aguas residuales sin previo tratamiento por parte de las viviendas aledañas al río. Lo cual puede implicar un riesgo socioambiental.

Se determina mediante el análisis cualitativo que, tanto en la operación del sistema de tratamiento como en el punto de salida de los efluentes tratados para entrar en contacto con el cuerpo receptor, no se presentan olores perceptibles. Así como también, una caracterización de los efluentes sin turbiedad aparente al ser vertida al cuerpo de agua superficial.

El tratamiento de las aguas residuales disminuye considerablemente la carga de contaminantes en las aguas derivadas de las actividades del residencial. Sin embargo, y dados los resultados de los bioensayos, se estima que en los efluentes tratados aún puede existir presencia de contaminantes emergentes o residuos de sustancias con potencial de causar algún grado toxicidad aguda sobre algunos organismos acuáticos. Esta toxicidad si bien se estima es reducida en el caudal receptor por un efecto de dilución, no descarta la necesidad de aplicar un análisis de otros tipos de efecto.

Existe una proporción de reducción de la toxicidad aguda de los efluentes de la planta de tratamiento en los estudios de la presente investigación con respecto a los porcentajes medidos en estudios previos para el mismo sistema de depuración.

Se destaca la importancia de realizar una evaluación de los efectos crónicos o bien, extender el plazo de las pruebas. Esto puesto que, aunque en niveles bajos, sí se encontró algún grado de toxicidad en las pruebas realizadas. Además, según literatura reciente se indica que los contaminantes emergentes típicos de descargas domiciliarias tienen perfiles toxicológicos que son menos evidentes cuando se aplican pruebas tradicionales de toxicidad aguda. Tal es el caso por ejemplo del efecto de disrupción endocrina.

### **7.1.1. Conclusiones por objetivos específicos**

Los resultados de las pruebas de toxicidad con los efluentes de la planta de tratamiento sobre la especie *Hydra viridissima* demuestran que no se genera mortalidad ni ningún cambio morfológico sobre el organismo, resultando en valores de 0% para los cuatros muestreos realizados. Lo cual refleja una reducción en la carga de contaminantes y sustancias tóxicas suficiente para mitigar el impacto negativo a corto plazo sobre este consumidor secundario durante el periodo de estudio.

Los resultados de las pruebas de toxicidad aplicadas a la especie *Macrothrix elegans* evidencian efectos de toxicidad letal de los efluentes sobre este organismo en las cuatro pruebas realizadas. Indicando la presencia de posibles agentes tóxicos para este consumidor primario. De manera que, se obtienen porcentajes de toxicidad mayores durante el segundo muestreo. Lo cual podría relacionarse con diferentes actividades que se lleven a cabo desde los hogares dentro del residencial que podrían variar la composición de las aguas residuales.

Los porcentajes de toxicidad significativos encontrados en las concentraciones más bajas de la muestra de agua residual en las pruebas de toxicidad sobre *Macrothrix elegans* puede estar relacionado con la biodisponibilidad de los contaminantes. Donde estos se adhieren al material sólido particulado y hace que la fracción de contaminantes diluidos disminuya y sea menos disponible para el bioindicador.

El organismo *Macrothrix elegans* es el más afectado por toxicidad de los efluentes en comparación con las especies restantes. Demostrando una mayor sensibilidad a la carga de contaminantes presentes en las aguas residuales tratadas.

Los valores negativos de la inhibición del crecimiento sobre *Lemna minor* en las pruebas de toxicidad indican la presencia de nutrientes en los efluentes de planta de tratamiento. Los cuales estimulan el crecimiento de esta planta y favorece su producción de biomasa.

La presencia de posibles residuos de sustancias comúnmente utilizadas en los hogares, como los agentes tensoactivos, podría implicar una fuente en el deterioro de la calidad de los cuerpos de agua. Inhibiendo la degradación biológica de otras sustancias, generando espumas que alteran los procesos de oxígeno disuelto y disminuyendo su capacidad de autodepuración.

La presencia de posibles residuos de compuestos de amonio cuaternario podría implicar problemas ecológicos. Como la inhibición de los procesos de depuración del cuerpo de agua, generar resistencia bacteriana a estos compuestos y alterar el equilibrio del ecosistema.

La presencia de residuos de productos farmacéuticos que no son removidos por completo en los sistemas de tratamiento puede provocar efectos adversos los organismos acuáticos y la salud pública. Esto debido a su capacidad de entrar en la cadena alimentaria, su persistencia, bioacumulación y creación de resistencia a antibióticos.

## **7.2. Recomendaciones generales**

Los resultados de las pruebas de toxicidad reflejan una variación de las condiciones del efluente en el tiempo. Se recomienda dar continuidad y ampliar el periodo de estudio, realizando muestreos y pruebas durante todo el año, considerando época seca y lluviosa. También es importante contemplar las condiciones climáticas y las diferentes actividades que se lleven a cabo en el residencial que podrían tener un impacto en la calidad del efluente, a fin de obtener información específica sobre las posibles causas de esta variación.

Se recomienda realizar mediciones de los parámetros fisicoquímicos en los efluentes con mayor frecuencia, para obtener un panorama más completo de las condiciones de las aguas

residuales a lo largo del tiempo. Para examinar así, si existen variaciones que podrían alterar su calidad.

Los puntos de contaminación identificados en las cercanías del cuerpo receptor reflejan una necesidad de gestión de las aguas residuales en la zona de estudio. Para ello se recomienda dar seguimiento a este aspecto, mediante una comunicación directa con las personas responsables de estas viviendas que vierten sus desechos y efluentes sin previo tratamiento aparente al cauce. Esta investigación y otros recursos pueden utilizarse para generar concientización sobre el impacto negativo que esto implica en la calidad del cuerpo de agua y la salud pública. Se recomienda también, involucrar a los gobiernos locales y distintos actores encargados de la gestión del recurso hídrico en conjunto con la comunidad, a la creación de posibles campañas de limpieza en el río.

Se recomienda tomar en cuenta las diferentes fuentes de contaminación existentes en el cuerpo receptor por parte de otras infraestructuras. Realizando un análisis más exhaustivo, donde se considere toda la cuenca de estudio, para una mejor estimación de los niveles de toxicidad en el río.

Se recomienda la evaluación de efectos crónicos mediante pruebas de este tipo. Para así determinar si existe alguna afectación en los organismos en cuanto a la reproducción, comportamiento, cambios bioquímicos, metabolismo, entre otros aspectos que comúnmente no se identifican en las pruebas de toxicidad aguda.

Resalta la importancia de la implementación de un sistema de tratamiento de las aguas residuales. Y que tal como lo demuestran los resultados obtenidos en las pruebas realizadas en el presente proyecto, tenga la capacidad de disminuir la carga de contaminantes y posibles sustancias tóxicas provenientes de las actividades domésticas antes de ser vertidas al medio ambiente. Para así, evitar posibles daños en el ecosistema acuático y garantizar la calidad hídrica y la salud humana.

#### **7.2.1. Recomendaciones por objetivos específicos**

Para poder determinar las causas de la variación en los porcentajes de toxicidad sobre el organismo *Macrothrix elegans* durante un muestreo específico respecto a los demás valores obtenidos, se requiere contemplar lo que sucede previo al tratamiento de las aguas residuales. Por lo que se recomienda para cada muestreo examinar si se realizan

actividades extraordinarias dentro del residencial que puedan alterar la composición de los efluentes.

Para determinar con mayor exactitud sobre la disponibilidad de los contaminantes se recomienda realizar análisis en sedimentos para poder proyectar el comportamiento de estos contaminantes emergentes una vez en el medio natural. Estimando así, en qué proporción se encuentran accesibles para los organismos del ecosistema.

Para estimar las concentraciones de nutrientes presentes en los efluentes se recomienda realizar análisis de este tipo dentro de la investigación. Para así determinar la presencia de compuestos de fósforo y nitrógeno que favorecen el crecimiento de las plantas. Evitando así posibles procesos de eutrofización en el ecosistema.

Se recomienda realizar análisis específicos de sustancias derivadas de los compuestos comúnmente utilizados en los hogares. Como tensoactivos, compuestos de amonio cuaternario, fármacos, entre otros, que permitan estimar en qué proporción se encuentran presente en las aguas residuales e identificar posibles necesidades de regulación del uso de estos compuestos para mitigar su impacto en el ambiente.

## Referencias

- Anchía Leitón, D. (2021). *Caracterización y diagnóstico de la calidad de agua en la cuenca alta del Río Bermúdez, Heredia, Costa Rica*. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. <https://repositorio.catie.ac.cr/handle/11554/11052>
- Barrantes Barrantes, E. A., & Cartín Núñez, M. (2017). "Eficacia del tratamiento de aguas residuales de la Universidad de Costa Rica en la Sede de Occidente, San Ramón, Costa Rica". *Revista UNED de Investigación / Cuadernos de Investigación UNED*, Vol. 9, núm.1, pp.193-197 [Consultado: 27 de mayo de 2023]. ISSN: 1659-4266. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=515653587026>
- Bergero Fernanda M. (2016). "Degradación de Compuestos de Amonio Cuaternario Sintéticos por *P. pulida* A (ATCC 12633) libres e inmovilizadas en diferentes polímeros". Tesis doctoral. Universidad Nacional de Rio Cuarto, Rio Cuarto, Córdoba, Argentina. <https://repositorio.unrc.edu.ar/xmlui/handle/123456789/75221>
- Braeur August. (2015). *Organismos acuáticos*. Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México. Consultado el 28 de mayo del 2023.
- Carriquiriborde, Pedro. (2021). *Principios de Ecotoxicología*, Universidad Nacional de la Plata, Buenos Aires, Argentina. Consultado el 24 de mayo del 2023.
- Carvajal Muñoz, J. S. (2011). *Fotocatálisis heterogénea para el abatimiento de tensoactivos aniónicos en aguas residuales*. *Producción + Limpia*, Vol.6, No.2 - 92•107. [https://www.researchgate.net/publication/262545763\\_Fotocatalisis\\_heterogenea\\_para\\_el\\_abatimiento\\_de\\_tensoactivos\\_anionicos\\_en\\_aguas\\_residuales](https://www.researchgate.net/publication/262545763_Fotocatalisis_heterogenea_para_el_abatimiento_de_tensoactivos_anionicos_en_aguas_residuales) Consultado: 27 de mayo del 2023.
- Checa Artos Miriam, Sosa del Castillo Daynet, Ruiz Barzola Omar y Barcos-Arias Milton. (2021). *Presencia de productos farmacéuticos en el agua y su impacto en el ambiente*. *Revista Bionatura*. DOI. 10.21931/RB/2021.06.01.27
- Colegio Federado de Ingenieros y Arquitectos-CFIA. Código de ética profesional del Colegio de Federados e Ingenieros y Arquitectos de Costa Rica. Disponible en

<https://cfia.or.cr/legal/archivos/Codigo%20de%20Etica.pdf>. Consultado el 16 de junio del 2023.

Conama. (2005). Resolución CONAMA n° 357/2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes; e dá outras providências. Disponible en [https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Resolucao/2005/res\\_conama\\_357\\_2005\\_classificacao\\_corpos\\_agua\\_rtfda\\_altrd\\_res\\_393\\_2007\\_397\\_2008\\_410\\_2009\\_430\\_2011.pdf](https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Resolucao/2005/res_conama_357_2005_classificacao_corpos_agua_rtfda_altrd_res_393_2007_397_2008_410_2009_430_2011.pdf) Consultado el 18 de noviembre del 2023.

Constitución Política de la República de Costa Rica. Art. 50, 8 de noviembre de 1949 (Costa Rica).

Costa Rica. Decreto N° 33601-MINAE-S/2007, 19 de marzo, de *Reglamento de vertido y reúso de aguas residuales*. Disponible en <https://www.fao.org/faolex/results/details/es/c/LEX-FAOC071694/> Consultado 25 de mayo del 2023.

Costa Rica. Decreto N°33903-MINAE-S/2007,17 de septiembre de Reglamento evaluación y clasificación de los cuerpos de agua. Disponible en <https://www.aya.go.cr/centroDocumetacion/catalogoGeneral/Reglamento%20evaluaci%C3%B3n%20y%20clasificaci%C3%B3n%20de%20calidad%20de%20cuerpos%20de%20agua%20superficiales.pdf>. Consultado el 26 de Julio del 2023.

De la Cal Rodríguez, Agustina. (2015). “*Análisis, biodisponibilidad y vigilancia de contaminantes orgánicos hidrofóbicos en el medio acuático*”. Tesis doctoral. Universitat de Barcelona, Barcelona. <http://hdl.handle.net/2445/98186>

Eddy, H., y Metcalf, L. (2003). *Ingeniería de Aguas Residuales: tratamiento, eliminación y reutilización*. España: McGraw Hill.

Empresa de Servicios Públicos de Heredia. (2018). *ESPH*. [en línea] disponible en <https://www.aedcr.com/sites/default/files/docs/esph.pdf> [consulta: 18 mayo 2023].

*Evaluación de la fitotoxicidad de efluentes industriales*. Sáenz, M.E., M.C. Tortorelli y L.R. Freyre. 2003. 22. 2. 137-146. Icono PDF limnetica-22-2-p-137

- Fernández de Córdova, D. & Quezada, A. (2018). Diseño de una Edar Urbana: Tratamiento de Aguas Residuales. Universidad Politécnica Salesiana. [https://www.researchgate.net/publication/338763715\\_TRATAMIENTO\\_DE\\_AGUAS\\_RESIDUALES](https://www.researchgate.net/publication/338763715_TRATAMIENTO_DE_AGUAS_RESIDUALES) Consultado el 18 de mayo del 2023.
- Finlayson Kimberly A., Leusch Frederic D. L. y van de Merwe Jason P. (2022). *Revisión de bioensayos in vitro* ecológicamente relevantes para complementar las pruebas *in vivo* actuales para las pruebas de toxicidad de efluentes completos - Parte 1: Criterios de valoración apicales. *Science of The Total Environment*, Vol (851), Parte 1, 10 diciembre 2022, 157817. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969722049166?via%3Dihub>
- Fonseca J & García C. (2015). *Evaluación técnica de la planta de tratamiento de aguas residuales "QUINTA BRASILIA" ubicada en el Municipio de Honda-Tolima*. Tesis de grado, Universidad Distrital Francisco José de Caldas. <https://repository.udistrital.edu.co/bitstream/handle/11349/3482/EVALUACI%D3N%20T;jsessionid=0943300E33C7867977A71DB507317CDC?sequence=1>
- Gaetan, B., Marine, D., Raynolds Vargas, J., & Torres Corral, L. (2006). Capacidad potencial de las franjas ribereñas del río Bermúdez para reducir la erosión. *Recursos Naturales y Ambiente*, no. 51-52:175-183. Disponible en <https://repositorio.catie.ac.cr/handle/11554/5856> Consultado el 18 de mayo del 2023.
- Gil, M. J., Soto, A. M., Usma, J. I. & Gutiérrez, J. D. (2012). Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos. *Producción + Limpia*, Vol.7 (2) - 52-73. <http://repository.unilasallista.edu.co/dspace/handle/10567/85>. Consultado el 28 de mayo del 2023.
- Glynn, H. & Heinke, G. (1999). Ingeniería ambiental. México: PRENTICE HALL.
- Hernández Gonzales O. (2021). Aproximación a los distintos tipos de muestreo no probabilístico que existen. 3a ed. Chile: universidad de talca. Vol. 37.
- Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas. (2012). *IRET-UNA* [en línea] disponible en <http://www.iret.una.ac.cr/index.php/presentacion> [consulta: 21 mayo 2013].

- Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas (2023). *Manual de Plaguicidas de Centroamérica*. Accedido 27 mayo, 2023, <<http://www.plaguicidasdecentroamerica.una.ac.cr>>
- Karntanut W., Pascoe D. (2002). *The toxicity of copper, cadmium and zinc to four different Hydra (Cnidaria: Hydrozoa)*. Chemosphere. 47: 1059-1064.
- Laboratorio de Análisis de Residuos de Plaguicidas (LAREP). (2004). Bioensayos Usando *Lemna minor*. Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas.
- Laboratorio de Toxicología Ambiental. (S.f.). *Práctica 7: Bioensayo de toxicidad aguda (efectos letales y subletales) con hidra rosada e hidra verde*. Escuela de Ciencias Ambientales, Universidad Nacional.
- Lazo Jackson. (2022). Amonio Cuaternario Usos y Peligro. TECNOSOLUCIONES. <https://tecnosolucionescr.net/blog/591-amonio-cuaternario-usos-y-peligro>
- Macloni D. (2014). DISEÑO DE PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES PARA EL MUNICIPIO DE SAN JUAN CHAMELCO, ALTA VERAPAZ. Universidad Rafael Landívar.
- MINAE-S. (2007). Reglamento para la evaluación y clasificación de la calidad de cuerpos de agua superficiales. Decreto, No. 33903, La Gaceta No. 178. San José, Costa Rica.
- Mitchell F. M., Holdway D. A. (2000). The acute and chronic toxicity of the dispersants Corexit 9527 and 9500, water accommodated fraction (WAF) of crude oil, and dispersant enhanced WAF (DAWAF) to *Hydra viridissima* (green hydra). Wat. Res. 34 (1): 343-348.
- Morin E. (2005). Introducción al pensamiento complejo. España, GEDISA Editorial. Página 167. Consulta 28 de mayo del 2023.
- Mohan, R. (2021). ¿Qué es un caso de estudio? [en línea]. *Vennngage*. [Consultado el 21 de junio de 2023]. Disponible en: <https://es.venngage.com/blog/que-es-un-caso-de-estudio/>
- Ogram, A. V., Jessup, R. E., Ou, L. T., & Rao, P. S. (1985). Effects of sorption on biological degradation rates of (2,4-dichlorophenoxy) acetic acid in soils. *Applied and environmental microbiology*, 49(3), 582–587. <https://doi.org/10.1128/aem.49.3.582-587.1985>

- Peluso L. (2021). "Bioensayos de toxicidad". En Carriquiriborde Principios de ecotoxicología. 1°ed. Buenos Aires, Argentina. Pag 268-304.
- Peña-Álvarez, A. & Castillo-Alanís, A. (2015). Identificación y Cuantificación de Contaminantes Emergentes en Aguas Residuales por Microextracción en fase Sólida-Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas (MEFS\_CG\_EM). *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, Vol. 18 (1):29-42. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.recqb.2015.05.003>
- Pérez-Legaspi, Ignacio Alejandro., Garatachia-Vargas, Mariana., García-Villar, Adriana Marisol., & Rubio-Franchini, Isidoro. (2017), "EVALUACIÓN DE LA SENSIBILIDAD DEL CLADÓCERO TROPICAL *Ceriodaphnia cornuta* A METALES PESADOS." *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, Vol. 33, núm.1, pp.49-56 [Consultado: 24 de enero de 2024]. ISSN: 0188-4999. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=37050971004>
- Planes Estela I. y Fuchs Julio Silvio. (2015). Cuáles son los aportes de la ecotoxicología a las regulaciones ambientales. Asociación Argentina para el Progreso de las Ciencias; *Ciencia e Investigación*; 65 (2) 6-2015; 45-62. <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/48860>
- Quesada Peñate Isariebel, Jáuregui Haza Ulises Javier, Wilhelm Anne-Marie y Delmas Henri. (2009). Contaminación de las aguas con productos farmacéuticos. Estrategias para enfrentar la problemática. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, vol. 40, (3), pp. 173-179. DOI: 10.21931/RB/2021.06.01.27.
- Ramírez Romero P y Mendoza Cantú A. (2008). *Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo*. La experiencia en México. Secretaria de medio ambiente y recursos naturales (SEMARNAT). ISBN: 978-968-817-882-9. [http://centro.paot.org.mx/documentos/semarnat/ensayo\\_toxicologico.pdf](http://centro.paot.org.mx/documentos/semarnat/ensayo_toxicologico.pdf)
- Rojas, Nazareth. (2011). Estudio de Cuencas Hidrográficas de Costa Rica. *MIENAE-IMN*. Disponible en <http://cglobal.imn.ac.cr/index.php/publications/estudio-de-las-cuencas-hidrograficas-de-costarica/>

- Romagnoli, Robert, y J. Paul Doody. "An evaluation of environmental dredging for remediation of contaminated sediment." *Dredging'02: Key Technologies for Global Prosperity*. 2003. 1-14.
- Sánchez-Bayo, F., P. J. van den Brink. & R. M. Mann. (2011). Ecological Impacts of Toxic Chemicals. *Bentham Science Publishers*. DOI:10.2174/97816080512121110101
- Sapag, N., Sapag, R., & Sapag, J. (2014). Preparación y Evaluación de Proyectos (Sexta edición). McGraw Hill.
- Schwarzenbach, R. P., et al. (2006). The challenge of micropollutants in aquatic systems. *Science* (New York, N.Y.), 313(5790), 1072–1077. <https://doi.org/10.1126/science.1127291>
- Spósito, Martín. (2018). ¿Qué es la ECOTOXICIDAD y para qué sirven los BIOENSAYOS? Disponible en [http://labio.uv/wp-content/uploads/2018/12/Bioensayos-CNR\\_VI\\_PDF.pdf](http://labio.uv/wp-content/uploads/2018/12/Bioensayos-CNR_VI_PDF.pdf) [consulta: 27 mayo, 2023].
- Sulecio Castillo y Gina P. (2020). *Prácticas de disposición de residuos sólidos de las personas usuarias de la planta de tratamiento de aguas residuales de La Aurora de Heredia*. San José, Costa Rica: Universidad Estatal a Distancia.
- Taipicana Proaño, D<sup>a</sup> Deysi Maricela. (2019). EL AGUA RESIDUAL COMO RECURSO DE NUTRIENTES. Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares. [https://ebuah.uah.es/dspace/bitstream/handle/10017/41950/TFM\\_Taipicana\\_Proano\\_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://ebuah.uah.es/dspace/bitstream/handle/10017/41950/TFM_Taipicana_Proano_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Venegas Alvarado, J. M. (2017). Estandarización de las condiciones óptimas para la reproducción y cultivo de *Macrothrix elegans* e *Ilyocryptus spinifer* (Cladóceras) como indicadores de calidad de aguas en pruebas ecotoxicológicas. Universidad Nacional (Costa Rica). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Heredia, Costa Rica.
- Villegas Ramírez, Génesis María. (2022). *Análisis de ecotoxicidad en aguas residuales de la planta de tratamiento en San Rafael de Heredia*. Universidad Nacional, Costa Rica.
- World Wide Fund For Nature-WWF. (2018). Glosario ambiental: ecosistemas acuáticos, todo un mundo por descubrir. Disponible en [https://wwf.panda.org/wwf\\_news/?335350/Glosario-](https://wwf.panda.org/wwf_news/?335350/Glosario-)



## Anexos

### Capítulo 4

#### Anexo 4.1. Costos directos, indirectos y otros del proyecto.

Tipo	Descripción de actividad	Precio Unitario	Cantidad	Unidades	Total	Observación
Directo	Equipo tecnológico	€700,000.00	4		€2,800,000.00	Computadoras y teléfonos de alta Gama.
	Pruebas de toxicidad	€162,000.00	12		€486,000.00	Costos asumidos por el IRET-UNA.
	Giras de campo	€50,000	4		€200,000.00	Costos asumidos por el IRET-UNA.
<b>Total Costos Directos</b>					<b>€3,486,000.00</b>	
Indirecto	Honorarios profesionales	€1.252,000.00	8		€10,016,000.00	Tarifa según Decreto N° 43848-MTSS para trabajador calificado como bachiller universitario.
	Alimentación	€26,000 por gira	16		€416,000.00	Alimentación para giras.
<b>Total Costos Indirectos</b>					<b>€10,432,000.00</b>	
Otros	Imprevistos	0.1			€1.694,220.00	
	Gastos administrativos	2			€224.000,00	Servicios de telefonía e internet dados por una compañía telefónica.
<b>Total</b>					<b>€15,836,220.00</b>	

Fuente: Elaboración propia, 2023.

## Anexo 4.2. Reunión mediante modalidad remota con actores clave del proyecto.

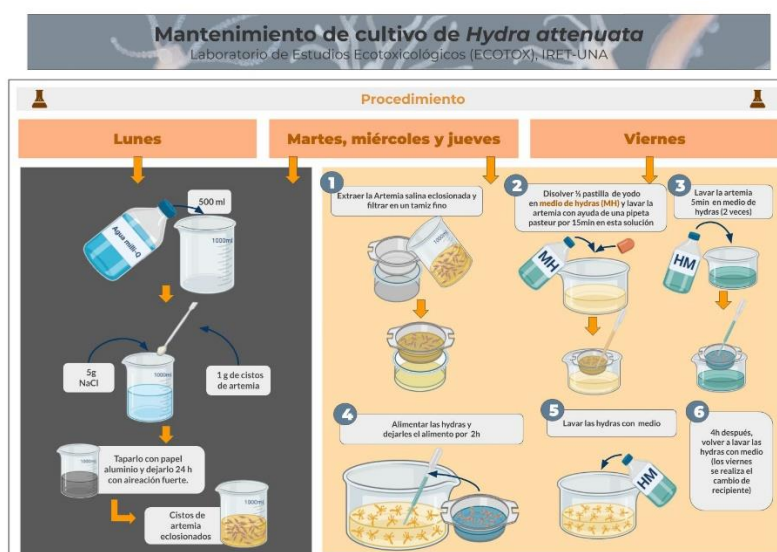
**Seguimiento**

- Monitoreo en el tiempo! Considerar comportamientos de fin de semana/media semana? (considerar tiempo de retención 24 h)
- Calcular impacto en cuerpo receptor/ Factor de Toxicidad (Rio Bermudez)
- Valoración (económica, social, ecológica) del tratamiento de aguas
- Necesidades para la implementación de ensayos en PTARs en Costa Rica

Fuente: Elaboración propia, 2023.

## Capítulo 5

### Anexo 5.1. Procedimiento para el mantenimiento del cultivo de *Hydra attenuata* adaptado para *Hydra viridissima*.



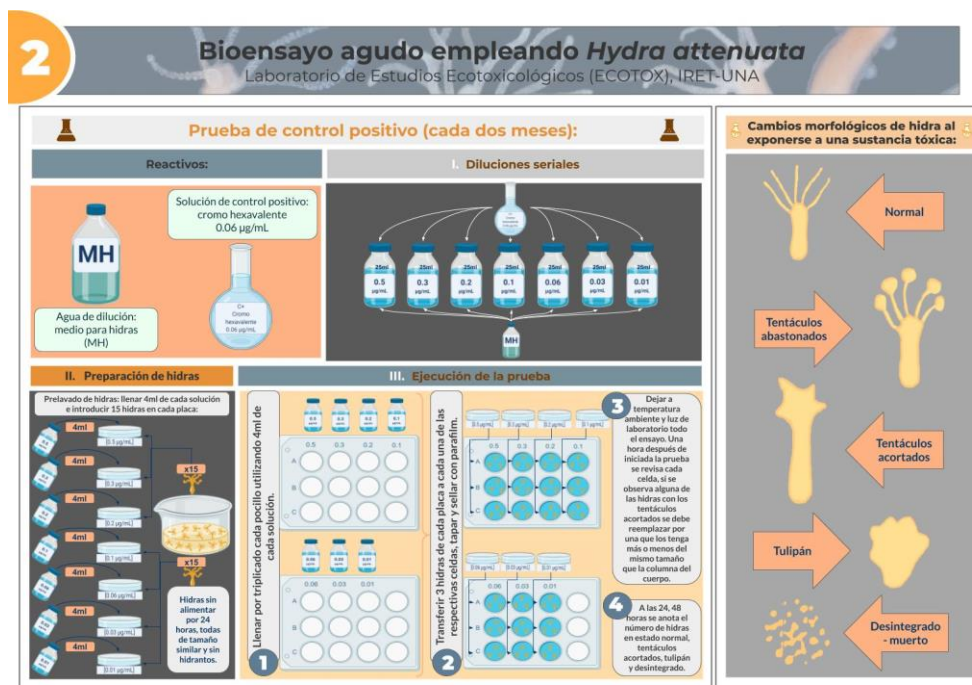
Fuente: Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas, 2023.

## Anexo 5.2. Nutrientes requeridos para la preparación de medio de cultivo para *Macrothrix elegans*.



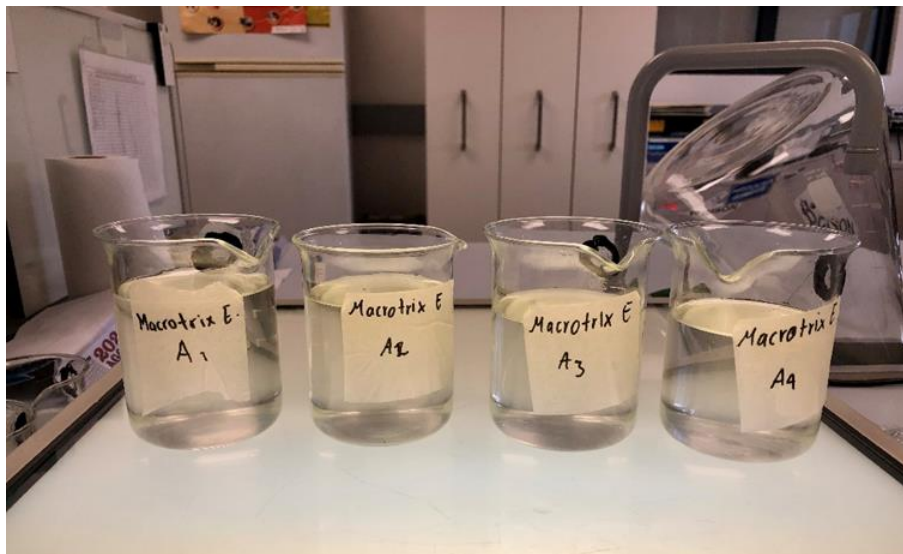
Fuente: Elaboración propia, 2023.

## Anexo 5.3. Procedimiento para la aplicación de una prueba de toxicidad aguda con *Hydra attenuata* adaptado para *Hydra viridissima*.



Fuente: Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas, 2023.

Anexo 5.4. Cultivo de *Macrothrix elegans* para ser empleado en pruebas toxicidad.



Fuente: Elaboración propia, 2023.

Anexo 5.5. Cultivo de *Lemna minor* para ser empleado en pruebas toxicidad.



Fuente: Elaboración propia, 2023.

## Anexo 5.6. Presupuesto del proyecto distribuido por etapas.

<b>Primera Etapa: Revisión Bibliográfica</b>	<b>ABRIL</b>	<b>MAYO</b>	<b>JUNIO</b>	<b>JULIO</b>	<b>TOTAL</b>	<b>OBSERVACIÓN</b>
Equipo tecnológico	₪700,000.00	₪700,000.00	₪700,000.00	₪700,000.00	₪2,800,000.00	Computadoras y teléfonos de alta GAMA
Paquete Office	0	0	0	0	0	Licencia estudiantil UNA
Software Qgis	0	0	0	0	0	Software Open-source
<b>Segunda Etapa: Generación de Resultados</b>	<b>ABRIL</b>	<b>MAYO</b>	<b>JUNIO</b>	<b>JULIO</b>	<b>TOTAL</b>	<b>OBSERVACIÓN</b>
Giras de campo	₪50,000	₪50,000	₪50,000	₪50,000	₪200,000.00	Costos asumidos por el IRET-UNA
Uso de laboratorio	0	₪162,000.00	₪162,000.00	₪162,000.00	₪486,000.00	Costos asumidos por el IRET-UNA
Alimentación	₪26,000 por gira	₪26,000 por gira	₪26,000 por gira	₪26,000 por gira	₪416,000.00	Alimentación para gira.
<b>Tercera Etapa: Interpretación de Resultados</b>	<b>AGOSTO</b>	<b>SETIEMBRE</b>	<b>OCTUBRE</b>	<b>NOVIEMBRE</b>	<b>TOTAL</b>	<b>OBSERVACIÓN</b>
Equipo tecnológico	₪700,000.00	₪700,000.00	₪700,000.00	₪700,000.00	₪2,800,000.00	Computadoras y teléfonos de alta GAMA
Paquete office	0	0	0	0	0	Licencia estudiantil UNA
Software Qgis	0	0	0	0	0	Software open-source

<b>OTROS:</b> Están presentes en todas las etapas	<b>ABRIL-MAYO</b>	<b>JUNIO-JULIO</b>	<b>AGOSTO- SETIEMBRE</b>	<b>OCTUBRE- NOVIEMBRE</b>	<b>TOTAL</b>	<b>OBSERVACIÓN</b>
Honorarios profesionales	₡1,252,000.00 por mes	₡1,252,000.00 por mes	₡1,252,000.00 por mes	₡1,252,000.00 por mes	₡10,016,000.00	Tarifa según decreto N°43849-MTSS, contemplando los honorarios de las dos profesionales.
Imprevistos	0.10	0.10	0.10	0.10	₡1,694,220.00	
Gastos Administrativos	₡ 28,000 por mes	₡ 28,000 por mes	₡ 28,000 por mes	₡ 28,000 por mes	₡224,000.00	Telefonía e internet por mes

Fuente: Elaboración propia, 2023.

## Capítulo 6

Anexo 6.1. Resultados después de 24h de la prueba de toxicidad aguda para *Hydra viridissima* con la muestra tomada de los efluentes de la PTAR en Muestreo #1.

Fecha de inicio: 09/05/2023		Fecha de finalización: 11/05/2023					Duración: 24h					Muestra: PTAR		Organismo: <i>Hydra viridissima</i>				
Muestra	Conc. /Dilución	Réplica N°1					Réplica N°2					Réplica N°3						
		N	B	S	T	D	N	B	S	T	D	N	B	S	T	D		
Control (-)	Medio Cultivo	3					3					3						
Control (+)	Cr <sup>+6</sup>	3					2	1				1	2					
	100%	3					3					3						
	50%	3					3					3						
	25%	3					3					3						
	12,5%	3					3					3						
	6,25%	3					3					3						
	3,125%	3					3					3						

Nota: N = hidra normal, B= tentáculos abastionados, S= tentáculos acortados, T = tulipán (pérdida de tentáculos), D = muerte (desintegración).

Fuente: Elaboración propia, 2023.

Anexo 6.2. Resultados después de 48h de la prueba de toxicidad aguda para *Hydra viridissima* con la muestra tomada de los efluentes de la PTAR en Muestreo #1.

Fecha de inicio: 09/05/2023		Fecha de finalización: 11/05/2023					Duración: 48h					Muestra: PTAR		Organismo: <i>Hydra viridissima</i>				
Muestra	Conc. /Dilución	Réplica N°1					Réplica N°2					Réplica N°3						
		N	B	S	T	D	N	B	S	T	D	N	B	S	T	D		
Control (-)	Medio Cultivo	3					3					3						
Control (+)	Cr <sup>+6</sup>	1		2			2	1				1	2					
	100%	3					3					3						
	50%	3					3					3						
	25%	3					3					3						
	12,5%	3					3					3						
	6,25%	3					3					3						
	3,125%	3					3					3						

Nota: N = hidra normal, B= tentáculos abastionados, S= tentáculos acortados, T = tulipán (pérdida de tentáculos), D = muerte (desintegración).

Fuente: Elaboración propia, 2023.

Anexo 6.3. Resultados después de 24h de la prueba de toxicidad aguda para *Hydra viridissima* con la muestra tomada de los efluentes de la PTAR en Muestreo #2.

Fecha de inicio: 23/05/2023		Fecha de finalización: 25/05/2023					Duración: 24h					Muestra: PTAR		Organismo: <i>Hydra viridissima</i>				
Muestra	Conc. /Dilución	Réplica N°1					Réplica N°2					Réplica N°3						
		N	B	S	T	D	N	B	S	T	D	N	B	S	T	D		
Control (-)	Medio Cultivo	3					3					3						
Control (+)	Cr <sup>+6</sup>	3					4	1				3						
	100%	3					3					3						
	50%	3					3					3						
	25%	3					3					3						
	12,5%	3					3					3						
	6,25%	3					3					3						
	3,125%	3					3					3						

Nota: N = hidra normal, B= tentáculos abastionados, S= tentáculos acortados, T = tulipán (pérdida de tentáculos), D = muerte (desintegración).

Fuente: Elaboración propia, 2023.

Anexo 6.4. Resultados después de 48h de la prueba de toxicidad aguda para *Hydra viridissima* con la muestra tomada de los efluentes de la PTAR en Muestreo #2.

Fecha de inicio: 23/05/2023		Fecha de finalización: 25/05/2023					Duración: 48h					Muestra: PTAR		Organismo: <i>Hydra viridissima</i>				
Muestra	Conc. /Dilución	Réplica N°1					Réplica N°2					Réplica N°3						
		N	B	S	T	D	N	B	S	T	D	N	B	S	T	D		
Control (-)	Medio Cultivo	3					3					3						
Control (+)	Cr <sup>+6</sup>			3					5					3				
	100%	3					3					5						
	50%	3					3					4						
	25%	3					3					5						
	12,5%	6					3					4						
	6,25%	6					5					4						
	3,125%	5					5					3						

Nota: N = hidra normal, B= tentáculos abastionados, S= tentáculos acortados, T = tulipán (pérdida de tentáculos), D = muerte (desintegración).

Fuente: Elaboración propia, 2023.

Anexo 6.5. Resultados después de 24h de la prueba de toxicidad aguda para *Hydra viridissima* con la muestra tomada de los efluentes de la PTAR en el muestreo #3.

Fecha de inicio: 06/06/2023		Fecha de finalización: 08/06/2023					Duración: 24h					Muestra: PTAR		Organismo: <i>Hydra viridissima</i>				
Muestra	Conc. /Dilución	Réplica N°1					Réplica N°2					Réplica N°3						
		N	B	S	T	D	N	B	S	T	D	N	B	S	T	D		
Control (-)	Medio Cultivo	5					4					4						
Control (+)	Cr <sup>+6</sup>	3		2			4					3		1				
	100%	3					3					3						
	50%	4					3					3						
	25%	4					4					4						
	12,5%	5					4					4						
	6,25%	4					6					4						
	3,125%	5					4					4						

Nota: N = hidra normal, B= tentáculos abastionados, S= tentáculos acortados, T = tulipán (pérdida de tentáculos), D = muerte (desintegración).

Fuente: Elaboración propia, 2023.

Anexo 6.6. Resultados después de 48h de la prueba de toxicidad aguda para *Hydra viridissima* con la muestra tomada de los efluentes de la PTAR en el muestreo #3.

Fecha de inicio: 06/06/2023		Fecha de finalización: 08/06/2023					Duración: 48h					Muestra: PTAR		Organismo: <i>Hydra viridissima</i>				
Muestra	Conc. /Dilución	Réplica N°1					Réplica N°2					Réplica N°3						
		N	B	S	T	D	N	B	S	T	D	N	B	S	T	D		
Control (-)	Medio Cultivo	5					5					5						
Control (+)	Cr <sup>+6</sup>			3	2	1			3	1		1		2	1			
	100%	3					4					3						
	50%	4					3					3						
	25%	4					4					4						
	12,5%	6					4					4						
	6,25%	4					7					4						
	3,125%	5					5					4						

Nota: N = hidra normal, B= tentáculos abastados, S= tentáculos acortados, T = tulipán (pérdida de tentáculos), D = muerte (desintegración).

Fuente: Elaboración propia, 2023.

Anexo 6.7. Resultados después de 24h de la prueba de toxicidad aguda para *Hydra viridissima* con la muestra tomada de los efluentes de la PTAR en el muestreo #4.

Fecha de inicio: 20/06/2023		Fecha de finalización: 22/06/2023					Duración: 24h					Muestra: PTAR		Organismo: <i>Hydra viridissima</i>				
Muestra	Conc. /Dilución	Réplica N°1					Réplica N°2					Réplica N°3						
		N	B	S	T	D	N	B	S	T	D	N	B	S	T	D		
Control (-)	Medio Cultivo	4					3					3						
Control (+)	Cr <sup>+6</sup>	2	1				3					1	1	1				
	100%	4					6					3						
	50%	4					4					5						
	25%	5					4					3						
	12,5%	3					4					4						
	6,25%	3					3					6						
	3,125%	3					4					5						

Nota: N = hidra normal, B= tentáculos abastionados, S= tentáculos acortados, T = tulipán (pérdida de tentáculos), D = muerte (desintegración).

Fuente: Elaboración propia, 2023.

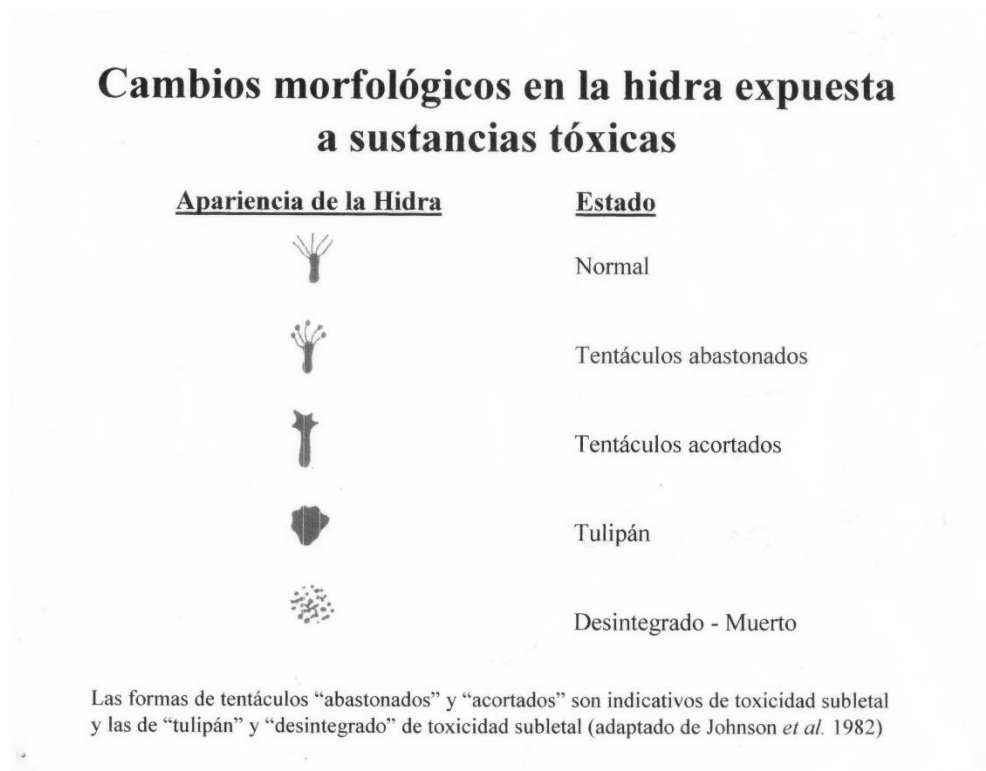
Anexo 6.8. Resultados después de 48h de la prueba de toxicidad aguda para *Hydra viridissima* con la muestra tomada de los efluentes de la PTAR en el muestreo #4.

Fecha de inicio: 20/06/2023		Fecha de finalización: 22/06/2023					Duración: 48h					Muestra: PTAR		Organismo: <i>Hydra viridissima</i>				
Muestra	Conc. /Dilución	Réplica N°1					Réplica N°2					Réplica N°3						
		N	B	S	T	D	N	B	S	T	D	N	B	S	T	D		
Control (-)	Medio Cultivo	5					3					4						
Control (+)	Cr <sup>+6</sup>			2	1		1		1	1				2	1			
	100%	4					8					3						
	50%	4					4					5						
	25%	5					4					4						
	12,5%	3					4					5						
	6,25%	3					3					6						
	3,125%	4					6					6						

Nota: N = hidra normal, B= tentáculos abastionados, S= tentáculos acortados, T = tulipán (pérdida de tentáculos), D = muerte (desintegración).

Fuente: Elaboración propia, 2023.

Anexo 6.9. Cambios morfológicos en *Hydra viridissima* ante la exposición a sustancias tóxicas.



Fuente: Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas, 2023.

Anexo 6.10. Resultados después de 24h de la prueba de toxicidad aguda para *Macrothrix elegans* con la muestra tomada de los efluentes de la PTAR en el muestreo #2.

<b>Fecha de inicio:</b> 23/05/2023		<b>Fecha de finalización:</b> 25/05/2023		<b>Duración:</b> 24h		<b>Muestra:</b> PTAR		<b>Organismo:</b> <i>Macrothrix elegans</i>	
<b>Muestra</b>	<b>Conc. /Dilución</b>	<b>Réplica N°1</b>		<b>Réplica N°2</b>		<b>Réplica N°3</b>			
		N° inicial	N° final	N° inicial	N° final	N° inicial	N° final		
Control (-)	ARD	10	10	10	10	10	10		
Control (+)	Cr <sup>+6</sup>	10	8	10	9	10	7		
	100%	10	10	10	7	10	8		
	50%	10	9	10	9	10	10		
	25%	10	9	10	9	10	8		
	12,5%	10	9	10	10	10	9		
	6,25%	10	10	10	9	10	10		
	3,125%	10	10	10	10	10	10		

Nota: N° corresponde al número de organismos vivos.

Fuente: Elaboración propia, 2023.

Anexo 6.11. Resultados después de 48h de la prueba de toxicidad aguda para *Macrothrix elegans* con la muestra tomada de los efluentes de la PTAR en el muestreo #2.

<b>Fecha de inicio:</b> 23/05/2023		<b>Fecha de finalización:</b> 25/05/2023		<b>Duración:</b> 48h	<b>Muestra:</b> PTAR	<b>Organismo:</b> <i>Macrothrix elegans</i>	
<b>Muestra</b>	<b>Conc. /Dilución</b>	<b>Réplica N°1</b>		<b>Réplica N°2</b>		<b>Réplica N°3</b>	
		N° inicial	N° final	N° inicial	N° final	N° inicial	N° final
Control (-)	ARD	10	10	10	10	10	10
Control (+)	Cr <sup>+6</sup>	10	0	10	0	10	1
	100%	10	10	10	6	10	8
	50%	10	9	10	8	10	9
	25%	10	8	10	8	10	8
	12,5%	10	9	10	9	10	8
	6,25%	10	10	10	9	10	9
	3,125%	10	10	10	10	10	9

Nota: N° corresponde al número de organismos vivos.

Fuente: Elaboración propia, 2023.

Anexo 6.12. Resultados después de 24h de la prueba de toxicidad aguda para *Macrothrix elegans* con la muestra tomada de los efluentes de la PTAR en el muestreo #3.

<b>Fecha de inicio:</b> 06/06/2023		<b>Fecha de finalización:</b> 08/06/2023		<b>Duración:</b> 24h		<b>Muestra:</b> PTAR		<b>Organismo:</b> <i>Macrothrix elegans</i>	
<b>Muestra</b>	<b>Conc. /Dilución</b>	<b>Réplica N°1</b>		<b>Réplica N°2</b>		<b>Réplica N°3</b>			
		N° inicial	N° final	N° inicial	N° final	N° inicial	N° final		
Control (-)	ARD	10	10	10	10	10	10		
	100%	10	10	10	10	10	10		
	50%	10	10	10	10	10	10		
	25%	10	10	10	10	10	10		
	12,5%	10	10	10	10	10	10		
	6,25%	10	10	10	10	10	10		

Nota: N° corresponde al número de organismos vivos.

Fuente: Elaboración propia, 2023.

Anexo 6.13. Resultados después de 48h de la prueba de toxicidad aguda para *Macrothrix elegans* con la muestra tomada de los efluentes de la PTAR en el muestreo #3.

<b>Fecha de inicio:</b> 06/06/2023		<b>Fecha de finalización:</b> 08/06/2023		<b>Duración:</b> 48h		<b>Muestra:</b> PTAR		<b>Organismo:</b> <i>Macrothrix elegans</i>	
<b>Muestra</b>	<b>Conc. /Dilución</b>	<b>Réplica N°1</b>		<b>Réplica N°2</b>		<b>Réplica N°3</b>			
		N° inicial	N° final	N° inicial	N° final	N° inicial	N° final		
Control (-)	ARD	10	10	10	10	10	10		
	100%	10	10	10	8	10	8		
	50%	10	10	10	10	10	10		
	25%	10	9	10	10	10	9		
	12,5%	10	10	10	10	10	8		
	6,25%	10	8	10	10	10	9		

Nota: N° corresponde al número de organismos vivos.

Fuente: Elaboración propia, 2023.

Anexo 6.14. Resultados después de 24h de la prueba de toxicidad aguda para *Macrothrix elegans* con la muestra tomada de los efluentes de la PTAR en el muestreo #4.

<b>Fecha de inicio:</b> 20/06/2023		<b>Fecha de finalización:</b> 22/06/2023		<b>Duración:</b> 24h		<b>Muestra:</b> PTAR		<b>Organismo:</b> <i>Macrothrix elegans</i>	
<b>Muestra</b>	<b>Conc. /Dilución</b>	<b>Réplica N°1</b>		<b>Réplica N°2</b>		<b>Réplica N°3</b>			
		N° inicial	N° final	N° inicial	N° final	N° inicial	N° final		
Control (-)	ARD	10	10	10	10	10	10		
Control (+)	Cr <sup>+6</sup>	10	9	10	9	10	10		
	100%	10	10	10	9	10	10		
	50%	10	10	10	10	10	10		
	25%	10	10	10	10	10	10	9	
	12,5%	10	10	10	10	10	10	10	
	6,25%	10	10	10	10	10	10	9	
	3,125%	10	10	10	10	10	10	10	

Nota: N° corresponde al número de organismos vivos.

Fuente: Elaboración propia, 2023.

Anexo 6.15. Resultados después de 48h de la prueba de toxicidad aguda para *Macrothrix elegans* con la muestra tomada de los efluentes de la PTAR en el muestreo #4.

<b>Fecha de inicio:</b> 20/06/2023		<b>Fecha de finalización:</b> 22/06/2023		<b>Duración:</b> 48h	<b>Muestra:</b> PTAR	<b>Organismo:</b> <i>Macrothrix elegans</i>	
<b>Muestra</b>	<b>Conc. /Dilución</b>	<b>Réplica N°1</b>		<b>Réplica N°2</b>		<b>Réplica N°3</b>	
		N° inicial	N° final	N° inicial	N° final	N° inicial	N° final
Control (-)	ARD	10	10	10	10	10	10
Control (+)	Cr <sup>+6</sup>	10	8	10	8	10	8
	100%	10	10	10	9	10	10
	50%	10	10	10	10	10	9
	25%	10	9	10	10	10	9
	12,5%	10	10	10	10	10	10
	6,25%	10	9	10	9	10	8
	3,125%	10	10	10	9	10	9

Nota: N° corresponde al número de organismos vivos.

Fuente: Elaboración propia, 2023.

Anexo 6.16. Resultados de la prueba de toxicidad aguda para *Lemna minor* en el muestreo #1.

Muestras Ensayo #1	Réplica	Peso (g) cápsula	Peso húmedo (g)	Peso seco (g)	Peso seco final(g)	Peso seco final(mg)	Promedio de peso seco (g)	Desv. Estándar	CV %	Inhibición del crecimiento
		Papel aluminio	Plantas húmedas + Cápsulas	Plantas + cápsula	Peso seco - peso cápsula	Peso seco - peso cápsula (mg)				Biomasa%
Control (-)	1	0.0917	0.1261	0.094	0.002	2	3.400	1	31.0%	0.0%
	2	0.0931	0.1283	0.0966	0.004	4				
	3	0.0877	0.159	0.0921	0.004	4				
6,25%	1	0.103	0.1652	0.107	0.004	4	4.567	1	21.3%	-34.3%
	2	0.0762	0.1555	0.081	0.005	5				
	3	0.0815	0.1856	0.0869	0.005	5				
12,5%	1	0.0886	0.1671	0.0933	0.005	5	3.933	2	38.2%	-15.7%
	2	0.0973	0.1929	0.1022	0.005	5				
	3	0.0988	0.1373	0.101	0.002	2				
25%	1	0.0789	0.1648	0.0833	0.004	4	3.967	1	35.3%	-16.7%
	2	0.0887	0.1159	0.0911	0.002	2				
	3	0.0687	0.1646	0.0738	0.005	5				
50%	1	0.0858	0.1762	0.092	0.006	6	3.933	2	54.9%	-15.7%
	2	0.0927	0.125	0.0946	0.002	2				
	3	0.0661	0.1438	0.0698	0.004	4				
100%	1	0.094	0.1624	0.0978	0.004	4	6.567	4	61.5%	-93.1%
	2	0.0645	0.1541	0.0692	0.005	5				
	3	0.0889	0.166	0.1001	0.011	11				
Control (+)	1	0.1045	0.1145	0.1055	0.001	1	0.767	0	27.2%	77.5%
	2	0.0731	0.0808	0.0738	0.001	1				
	3	0.0787	0.0883	0.0793	0.001	1				

Fuente: Elaboración propia, 2023.

Anexo 6.17. Resultados de la prueba de toxicidad aguda para *Lemna minor* en el muestreo #2.

Muestras Ensayo #2	Réplica	Peso (g) cápsula	Peso húmedo (g)	Peso seco (g)	Peso seco final(g)	Peso seco final(mg)	Promedio de peso seco (g)	Desv. Estándar	CV %	Inhibición del crecimiento
		Papel aluminio	Plantas húmedas + Cápsulas	Plantas + cápsula	Peso seco - peso cápsula	Peso seco - peso cápsula (mg)				Biomasa%
Control (-)	1	0.1821	0.2403	0.1847	0.003	3	2.967	0	10.8%	<b>0.0%</b>
	2	0.1687	0.2351	0.1719	0.003	3				
	3	0.1775	0.2495	0.1806	0.003	3				
25%	1	0.1375	0.1953	0.141	0.003	3	2.533	2	59.4%	<b>14.6%</b>
	2	0.1325	0.2008	0.1358	0.003	3				
	3	0.1235	0.1851	0.1243	0.001	1				
50%	1	0.1191	0.1811	0.123	0.003	3	2.600	1	37.9%	<b>12.4%</b>
	2	0.1271	0.1639	0.1286	0.002	2				
	3	0.1311	0.1864	0.134	0.003	3				
100%	1	0.1523	0.2162	0.1561	0.004	4	3.433	0	9.4%	<b>-15.7%</b>
	2	0.1461	0.2003	0.1494	0.003	3				
	3	0.156	0.207	0.1592	0.003	3				
Control (+)	1	0.1209	0.1289	0.1211	0.000	0	0.500	0	60.0%	<b>83.1%</b>
	2	0.1229	0.1325	0.1234	0.001	1				
	3	0.1125	0.12	0.1133	0.001	1				

Fuente: Elaboración propia, 2023.

Anexo 6.18. Resultados de la prueba de toxicidad aguda para *Lemna minor* en el muestreo #3.

Muestras Ensayo #3	Réplica	Peso (g) cápsula	Peso húmedo (g)	Peso seco (g)	Peso seco final(g)	Peso seco final(mg)	Promedio de peso seco (g)	Desv. Estándar	CV %	Inhibición del crecimiento
		Papel aluminio	Plantas húmedas + Cápsulas	Plantas + cápsula	Peso seco - peso cápsula	Peso seco - peso cápsula (mg)				Biomasa%
Control (-)	1	0.1247	0.1879	0.1307	0.006	6	4.000	2	57.3%	<b>0.0%</b>
	2	0.1266	0.209	0.1281	0.002	2				
	3	0.1071	0.1863	0.1116	0.005	5				
3,125%	1	0.141	0.2092	0.144	0.003	3	3.667	1	22.7%	<b>8.3%</b>
	2	0.1504	0.2245	0.155	0.005	5				
	3	0.1939	0.2624	0.1969	0.003	3				
6,25%	1	0.1614	0.2169	0.165	0.003	3	4.000	1	18.9%	<b>0.0%</b>
	2	0.1404	0.233	0.1451	0.005	5				
	3	0.1471	0.2319	0.1512	0.004	4				
12,5%	1	0.2146	0.2728	0.221	0.006	6	3.900	2	57.3%	<b>2.5%</b>
	2	0.1897	0.2522	0.1929	0.003	3				
	3	0.1529	0.1938	0.155	0.002	2				
25%	1	0.1791	0.2463	0.1828	0.004	4	4.000	0	7.5%	<b>0.0%</b>
	2	0.1868	0.2667	0.1911	0.004	4				
	3	0.1739	0.2544	0.1779	0.004	4				
50%	1	0.0938	0.1389	0.096	0.002	2	3.700	1	36.6%	<b>7.5%</b>
	2	0.0954	0.103	0.099	0.004	4				
	3	0.0915	0.1922	0.0966	0.005	5				
100%	1	0.1147	0.1567	0.1186	0.004	4	3.067	1	24.0%	<b>23.3%</b>
	2	0.1775	0.1576	0.1803	0.003	3				
	3	0.0926	0.2052	0.0951	0.003	3				
Control (+)	1	0.1362	0.1711	0.1368	0.001	1	0.833	0	25.0%	<b>79.2%</b>
	2	0.1489	0.1567	0.1499	0.001	1				
	3	0.145	0.1576	0.1459	0.001	1				

Fuente: Elaboración propia, 2023.

Anexo 6.19. Resultados de la prueba de toxicidad aguda para *Lemna minor* en el muestreo #4.

Muestras Ensayo #3	Réplica	Peso (g) cápsula	Peso húmedo (g)	Peso seco (g)	Peso seco final(g)	Peso seco final(mg)	Promedio de peso seco (g)	Desv. Estándar	CV %	Inhibición del crecimiento
		Papel aluminio	Plantas húmedas + Cápsulas	Plantas + cápsula	Peso seco - peso cápsula	Peso seco - peso cápsula (mg)				Biomasa%
Control (-)	1	0.2085	0.2776	0.21	0.002	2	2.567	3	107.5%	0.0%
	2	0.2253	0.2751	0.2258	0.001	1				
	3	0.2432	0.3485	0.2489	0.006	6				
3,125%	1	0.178	0.2484	0.1807	0.003	3	2.133	0	23.1%	16.9%
	2	0.2266	0.2991	0.2284	0.002	2				
	3	0.2509	0.3224	0.2528	0.002	2				
6,25%	1	0.3122	0.3781	0.314	0.002	2	3.700	4	114.4%	-44.2%
	2	0.2601	0.2727	0.2686	0.009	9				
	3	0.2509	0.2968	0.2514	0.001	1				
12,5%	1	0.2296	0.2791	0.2307	0.001	1	1.067	1	61.0%	58.4%
	2	0.2967	0.3383	0.2971	0.000	0				
	3	0.2581	0.281	0.2598	0.002	2				
25%	1	0.2479	0.2946	0.249	0.001	1	3.867	3	73.8%	-50.6%
	2	0.2483	0.2808	0.252	0.004	4				
	3	0.2512	0.2988	0.258	0.007	7				
50%	1	0.1836	0.2452	0.185	0.001	1	1.400	0	18.9%	45.5%
	2	0.2089	0.2689	0.2105	0.002	2				
	3	0.2572	0.3055	0.2583	0.001	1				
100%	1	0.1937	0.2317	0.2051	0.011	11	4.167	6	151.7%	-62.3%
	2	0.1936	0.2169	0.1933	0.000	0				
	3	0.1925	0.245	0.1939	0.001	1				
Control (+)	1	0.2205	0.2277	0.2213	0.001	1	0.633	0	45.6%	75.3%
	2	0.2142	0.2212	0.2145	0.000	0				
	3	0.2165	0.226	0.2173	0.001	1				

Fuente: Elaboración propia, 2023.

Anexo 6.20. Puntos de contaminación identificados en el tramo del río Bermúdez cercano al punto de vertido de la PTAR.



Fuente: Elaboración propia, 2023.

Anexo 6.21. Puntos de vertido directo de aguas residuales domiciliarias identificados en el tramo del río Bermúdez cercano al punto de vertido de la PTAR.



Fuente: Elaboración propia, 2023.

Anexo 6.22. Reunión en modalidad remota con actores clave del proyecto de la Empresa de Servicios Públicos de Heredia para actualización de resultados y discusión para el cumplimiento del objetivo tres.



Fuente: Elaboración propia, 2023.

Anexo 6.23. Precio unitario en dólares aproximado para bioensayo.

Cantidad	Descripción	Unidad	Precio unitario (en dólares USA)
1	Ejecución de un bioensayo de toxicidad aguda (48 horas) <i>Macrothrix elegans</i>	Bioensayo	\$150
1	Ejecución de un bioensayo de toxicidad aguda (48 horas) <i>Hydra viridissima</i>	Bioensayo	\$150
1	Ejecución de un bioensayo de toxicidad aguda (21 días) <i>Lemna minor</i>	Bioensayo	\$150

Nota: No incluye impuesto al valor agregado (I.V.A).

Fuente: IRET, 2023.