

Mejor Tesis: ESCUELA DE QUÍMICA BIOLÓGICA^a**MONITOREO Y CUANTIFICACIÓN DE COLIFORMES TOTALES, COLIFORMES FECALES Y *Escherichia coli*, EN SIETE MICROCUENCAS DEL LAGO DE AMATITLÁN**Gil P.¹, Herrera K.²

Departamento de Microbiología, Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, Laboratorio Microbiológico de Referencia -LAMIR-

RESUMEN

Se llevó a cabo el monitoreo y diagnóstico de la situación actual de la contaminación bacteriana en siete microcuencas del Lago de Amatitlán (Río San Lucas, Zanjón La Palín, Zanjón El Zacatal, Quebrada Del Fratral, Río Chanquín, Río Pinula y Río Guadrón), se utilizaron indicadores biológicos asociados a materia fecal, como es el grupo coliforme. La calidad del agua existente en las microcuencas fue analizada y cuantificada para coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli*. El procedimiento utilizado para el aislamiento inicial fue el método del Número Más Probable (NMP), se confirmaron estos resultados con medios del cultivo específicos y pruebas bioquímicas para coliformes fecales y *E. coli*. Las muestras fueron tomadas en las zonas que se consideraron como las más contaminadas de las microcuencas, en época seca y época lluviosa. Las muestras de agua analizadas, corresponden a ambas épocas no mostraron diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) en el Número Más Probable. Las altas concentraciones de coliformes y *Escherichia coli*, estuvieron lejos del estándar para la calidad de agua potable según la norma COGUANOR de NMP 10^4 /100 mL, ésta es la única disponible en el país sobre agua, por lo que se consideró que ésta puede ser utilizada para consumo humano. Con el inicio de la época lluviosa disminuyó el NMP para coliformes totales y *E. coli*, mientras que para coliformes fecales se observó un ligero aumento. La microcuenca con la mayor contaminación fue la del Zanjón la Palín con valores NMP agua: 3.3×10^4 /100 mL y 7.9×10^{10} /100 mL y

con el menor grado de contaminación el río Chanquín que registró valores de NMP 3.3×10^4 /100 mL y 2×10^2 /100 mL, aunque las altas concentraciones de coliformes totales, coliformes fecales y *E. coli* cuantificadas revelaron que ninguna microcuenca es apta para desarrollar ninguna actividad en éstas, ya sea recreacional o agrícola.

Con los resultados obtenidos se observó claramente que existió descarga de aguas residuales a las microcuencas, y la contribución de esta manera a la eutroficación de la Cuenca y del lago de Amatitlán. Estos hallazgos se confirmaron y correlacionaron con la medición de parámetros fisicoquímicos realizados simultáneamente por la Autoridad para el Manejo Sustentable de la Cuenca y del Lago de Amatitlán (AMSA) a las microcuencas.

INTRODUCCIÓN

El lago de Amatitlán es uno de los recursos naturales más importantes del sistema hidrológico de Guatemala. El lago es un cuerpo de agua de 15.11 Km². Se encuentra ubicado en la latitud 14°30' norte y 90°35' latitud oeste, en jurisdicción del Municipio de Amatitlán, a 28 kilómetros de la ciudad de Guatemala, y colindante con los Municipios de Villa Canales y Villa Nueva. En el Lago de Amatitlán los efectos de la contaminación acelerada en sus aguas son numerosos y visibles, con una acumulación de nutrientes que hace que el lago por sí mismo no pueda recuperarse, esto se ve reflejado con la proliferación abundante de algas, mal olor y reducción de su

¹ Autor principal de la tesis.² Autor principal de la tesis.³ Autor principal de la tesis.

Autor principal de la tesis. Este trabajo fue reconocido como la mejor tesis de esta escuela

perímetro. Se tomó en consideración que la mayor contaminación proviene de los ríos, riachuelos, quebradas y zanjones de la Cuenca del Lago de Amatitlán que desembocan en él mismo; esto se debe a la deforestación, la agricultura y principalmente la urbanización poblacional e industrial, que están situadas a lo largo de los vertientes que llegan al Lago de Amatitlán y algunos de ellos son Río San Lucas, Zanjón La Palín, Zanjón El Zacatal, Quebrada del Frutal, Río Chanquín, Río Pinula y Río Guadrón, que fueron estudiados. Los efectos de la contaminación se ven reflejados, por un lado, sobre la salud de la población, la mortalidad por causas asociadas a la contaminación de aguas. Por otro lado, se tiene la pérdida del patrimonio ecológico, en la forma de eutroficación del lago y los ríos de la cuenca de Amatitlán, con efectos sobre diversas actividades. Finalmente, la prevalencia de la contaminación del lago afecta las posibilidades de desarrollo de determinadas actividades económicas, especialmente aquellas orientadas a la exportación, que por su naturaleza, enfrentan exigentes restricciones sanitarias en los mercados de destino más atractivo en precio; así como las actividades deportivas, de pesca y turísticas entre otras.

En este estudio se consideraron específicamente los parámetros microbiológicos para determinar la calidad del agua existente en la cuenca del Lago de Amatitlán, se utilizaron indicadores biológicos de contaminación fecal, para lo cual fue realizado un monitoreo y cuantificación de coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli* en las siete microcuencas ya mencionadas, que previamente fueron identificados como puntos críticos en la contaminación del Lago. En los puntos de muestreo seleccionados no se había realizado un monitoreo que determinara si las acciones correctivas que está llevando a cabo AMSA en la Cuenca del Lago, han tenido efectos sobre la carga de estos microorganismos indicadores. El monitoreo se llevó a cabo en época seca y época lluviosa, y se determinaron los cambios que existieron en los niveles de descargas dependiendo de la época.

MATERIALES Y METODOS

El estudio estuvo constituido por 59 muestras

de agua recolectadas en las épocas seca y lluviosa, provenientes de siete microcuencas; Río San Lucas, Zanjón La Palín, Zanjón El Zacatal, Quebrada del Frutal, Río Chanquín, Río Pinula y Río Guadrón, que desembocan en el lago de Amatitlán, en las cuales se investigaron coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli*. Estas microcuencas fueron seleccionados porque proceden de diferentes puntos de la ciudad de Guatemala y se considera que arrastran una gran cantidad de nutrientes.

ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS

Obtención y Recolección de Muestras de Agua

Se recolectó las muestras de agua en o cerca de puntos de descarga como elección primordial para limitar y/o cuantificar el impacto de la contaminación en los sistemas hídricos. Las muestras para los exámenes bacteriológicos fueron recolectadas en recipientes plásticos estériles de boca ancha con tapadera. Antes de la toma de muestra, los recipientes permanecieron un tiempo prudencial dentro del caudal del río antes de obtener la muestra, la cual se rotuló debidamente con la fecha, la procedencia y la hora de toma de muestra. Seguidamente fueron transportadas al Laboratorio Microbiológico de Referencia (LAMIR) en hielera con refrigerantes. Todas las muestras fueron recolectadas con la colaboración de AMSA.

Preparación de las Muestras

En el laboratorio, las muestras recolectadas fueron anotadas en una hoja con su información. la muestra se agitó y fue tomado 25 mL de la muestra recolectada, se midió en una probeta estéril, ésta porción fue agregada en un frasco estéril conteniendo 225 mL de agua peptonada al 1% (diluyente) se obtuvo una dilución 1:10. Esta dilución fue agitada de igual manera que la muestra original y nuevamente se tomó alícuotas de 25 mL de la dilución previa, las cuales fueron agregadas a otros 225 mL de agua peptonada al 1% hasta que fue encontrada la dilución donde se pudo cuantificar el NMP de microorganismos existentes.

Las bacterias indicadoras fueron analizadas por el método del Número Más Probable de tubos múltiples, las pruebas presuntivas de coliformes

totales y las pruebas para confirmar coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli* se realizaron descrito en las técnicas de análisis microbiológico de alimentos y agua del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP) (4).

RESULTADOS

A continuación se presentan en tablas los datos obtenidos, los cuales fueron divididos por época seca y época lluviosa, tanto para coliformes totales, coliformes fecales y *E. coli*. De las siete microcuencas de donde provino la mayor contaminación fue Zanjón la Palín con un máximo reportado de NMP 3.5 X 10¹¹ /100 mL en época lluviosa para coliformes totales, este comportamiento se presentó durante todos los meses muestreados. El río que presentó el menor grado de contaminación es Chanquín con un mínimo de NMP 2.7 X 10³ /100 mL en época lluviosa para coliformes totales. La calidad del agua en todas las microcuencas sobrepasó los límites permisibles, según norma COGUANOR de NMP <2/100 mL y *E. coli* no debe ser aislada.

De manera simultánea AMSA, tomó muestras y midió los parámetros químicos y físicos de las microcuencas y estimó el impacto de éstas sobre el lago de Amatitlán, mediante correlación e integración a los resultados microbiológicos.

En la tabla 1 se muestran las microcuencas con mayor contaminación respecto a coliformes totales durante toda la época seca, las cuales fueron Zanjón la Palín, seguido de El Frutal, para esta época veinticinco muestras diferentes fueron analizadas. Se observó en cada río que no existió variaciones numéricas considerables entre los meses. Los resultados (Tabla 1) muestran que en época seca se observó un aumento con una media estadística de NMP 3.52 X 10¹⁰ / 100 mL en el número de coliformes totales en comparación a la época lluviosa que presentó NMP 3.41 x 10¹⁰ /100 mL como media estadística.

Tabla 1. Coliformes Totales Epoca Seca

Río	99 Marzo	99 Abril	99 Mayo	2000 Marzo
Chanquín	NM	3,3E+04	9.00E+03	2.10E+04
El Frutal	1.40E+10	4.90E+10	1.10E+10	4.90E+10
El Cacamal	4.90E+09	2.00E+08	8.00E+08	3.30E+09
Guastón	NM	7.90E+08	9.40E+08	1.70E+09
Itz'at	NM	5.00E+05	9.00E+05	1.10E+06
San Lucas	7.00E+08	8.00E+07	2.40E+09	7.90E+08
Zanjón La Palín	1.60E+11	1.70E+11	1.70E+11	2.40E+11

--- 1.00E+00: 1X10⁰

--- NM: No Medido

En la Cuenca del Lago de Amatitlán se observó un comportamiento similar o parecido a las cuencas, que tienden a aumentar su contaminación en la época lluviosa a causa de las descargas de materia orgánica e inorgánica arrastrada por el aumento de las rías y el lavado de la cuenca. Se

determinó las concentraciones de coliformes totales en época lluviosa, para esto 34 muestras fueron analizadas. Los resultados (Tabla 2) demostraron que el comportamiento analizado en las siete microcuencas del Lago de Amatitlán difiere con otros lagos, ya que éste tendió a disminuir sus

concentraciones del indicador biológico por un fenómeno de dilución, causado por el aumento del caudal. Lo anterior sugirió que la contaminación de las microcuencas es por descargas de aguas residuales. En la época lluviosa Zanjón la Palín

aumentó en el NMP ($3.50 \times 10^{11}/100$ mL) respecto al NMP de la época seca ($2.40 \times 10^{11}/100$ mL) y alcanzó su pico más alto en el mes de septiembre, a diferencia de los demás ríos que disminuyeron, para coliformes totales.

Tabla 2. Coliformes Totales en Epoca Lluviosa

Ríos	99 Junio	99 Julio	99 Agosto	99 Sept.	99 Oct.
Chanquín	2.40E+04	2.20E+04	7.90E+03	4.90E+03	2.70E+03
El Frutal	1.80E+10	1.40E+10	1.30E+10	2.20E+08	3.30E+08
El Zacatal	4.00E+08	NM	1.70E+08	1.10E+08	2.10E+08
Guadrón	1.60E+10	4.90E+08	1.60E+09	1.60E+09	9.20E+08
Pinula	7.00E+05	1.30E+06	4.90E+05	9.40E+05	2.40E+06
San Lucas	2.60E+08	7.00E+08	2.20E+08	9.20E+08	5.40E+08
Zanjón La Palín	1.30E+11	2.20E+11	1.10E+11	3.50E+11	2.80E+11

- 1.00E+10: 1×10^{10}
- NM: No Medido

En la tabla 3 se observó en los puntos de muestreo, el impacto que la urbanización ejerció en las concentraciones de coliformes fecales, en las 25 muestras analizadas para coliformes totales respecto a coliformes fecales se reportó ningún cambio o variaciones numéricas pequeñas. Esto se confirmó en los datos reportados en las diferentes microcuencas, ya que las seis microcuencas con mayor contaminación atraviesan en su recorrido los municipios de Guatemala, Villa Nueva y Mixco, a

diferencia del río Chanquín que se encuentra alejado del área urbana y la población que posee es reducida, por lo que la mayor contaminación se registró en la microcuenca de Zanjón la Palín (NMP de $2.4 \times 10^{11}/100$ mL). Para coliformes fecales se presentó un ligero aumento en época lluviosa de NMP $3.31 \times 10^{10}/100$ mL y en época seca la media estadística fue de NMP $3.03 \times 10^{10}/100$ mL, pero no existió diferencia significativa.

Tabla 3. Coliformes Fecales en Epoca Seca

Ríos	99 Marzo	99 Abril	99 Mayo	2000 Marzo
Chanquín	NM	5.00E+03	4.00E+03	7.00E+03
El Frutal	2.60E+09	4.90E+10	1.10E+10	3.30E+10
El Zacatal	2.20E+09	2.00E+08	8.00E+08	3.30E+09
Guadrón	NM	7.90E+08	9.40E+08	1.70E+09
Pinula	NM	5.00E+05	9.00E+05	6.30E+05
San Lucas	7.00E+08	5.00E+07	2.40E+09	7.90E+08
Zanjón la Palín	1.60E+11	7.90E+10	1.70E+11	2.40E+11

- 1.00E+10: 1×10^{10}
- NM: No Medido

Se presenta en la tabla 4 el comportamiento de los coliformes fecales en época lluviosa, Zanjón La Palín que continuó con los mayores niveles de contaminación (NMP de 3.5×10^{11} /100 mL) en la

que se observó un ligero aumento en comparación con los de época seca. Mientras que para El Frutal se observó una disminución, al igual que para las otras microcuencas.

Tabla 4. Coliformes Fecales en Epoca Lluviosa

Rio	99 Junio	99 Julio	99 Agosto	99 Sept.	99 Oct.
Chusqueán	1.40E+03	2.20E+04	7.90E+03	2.30E+03	4.00E+02
El Frutal	1.40E+10	1.40E+10	1.10E+09	2.20E+08	2.60E+08
El Zacatal	4.00E+08	NM	1.70E+08	7.00E+07	2.10E+08
Guanábico	2.20E+09	1.70E+08	2.80E+08	3.50E+08	5.40E+08
Musula	5.00E+05	1.30E+06	4.90E+05	2.20E+05	2.40E+06
San Lucas	2.60E+08	1.70E+08	5.00E+07	3.40E+07	7.00E+07
Zanjón La Palín	1.30E+11	2.20E+11	1.10E+11	3.50E+11	2.80E+11

1.00E+10: 1×10^{10}

NM: No Medido

Los niveles de *Escherichia coli* (Tabla 5) para los meses de época seca en los que se observó la mayor contaminación en el mes de marzo a diferencia de los coliformes totales y fecales que mostraron una mayor contaminación siempre en el mes de marzo pero del siguiente año. Zanjón La Palín fue la microcuenca más contaminada (NMP de 1.6×10^{11} / 100 mL).

Finalmente para *E. coli* el comportamiento es igual que los coliformes totales respecto a las épocas, en época seca presentó una media de NMP 2.17×10^{10} / 100 mL y en época lluviosa NMP 1.07×10^{10} / 100 mL. Aunque existe diferencia numérica entre las medias estadísticas, éstas no fueron estadísticamente significativas ($p > 0.05$).

Tabla 5. *E. coli* en Epoca Seca

Rio	Marzo	Abril	Mayo	Marzo
Chusqueán	NM	2.00E+03	2.00E+03	5.00E+03
El Frutal	2.60E+09	4.90E+10	1.10E+10	2.30E+10
El Zacatal	2.20E+09	2.00E+08	5.00E+08	2.30E+09
Guanábico	NM	1.40E+08	2.10E+08	4.60E+08
Musula	NM	2.00E+05	4.00E+05	6.30E+05
San Lucas	7.00E+08	5.00E+07	2.40E+09	7.90E+08
Zanjón La Palín	1.60E+11	7.90E+10	1.30E+11	7.90E+10

1.00E+10: 1×10^{10}

NM: No Medido

La disminución de *Escherichia coli* en época lluviosa (Tabla 6) así como su pico más alto es observado en el mes de julio (NMP DE 1.4×10^{11} / 100 mL) en comparación de coliformes totales y fecales, que los presentaron en septiembre (NMP DE

3.5×10^{11} / 100 mL). Zanjón la Palín se volvió a registrar como la microcuenca con mayor contaminación (NMP DE 1.4×10^{11} / 100 mL) y Chanquín con la menor contaminación (NMP de 2.00×10^2 / 100 mL).

Tabla 6. *E. coli* en Epoca Lluviosa

Ríos	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre
Chanquín	4.00E+02	7.00E+03	3.30E+03	8.00E+02	2.00E+02
El Frutal	7.00E+09	1.40E+10	1.10E+09	1.40E+08	9.00E+07
El Zacatal	2.00E+08	NM	1.10E+08	5.00E+07	7.00E+07
Guadrón	1.10E+08	5.00E+07	2.80E+08	3.50E+08	5.40E+08
Pinula	2.00E+05	5.00E+05	4.90E+05	2.20E+05	1.30E+06
San Lucas	1.40E+08	1.70E+08	5.00E+07	3.40E+07	7.00E+07
Zanjón la Palín	4.90E+10	1.40E+11	7.00E+10	3.40E+10	4.60E+10

- 1.00E+10: 1×10^{10}
- NM: No Medido

Todos los resultados se mostraron correlacionados y con altas concentraciones de las bacterias indicadoras de contaminación fecal en todos los lugares muestreados. Sin embargo los sitios con mayores problemas de contaminación fecal son los que se encontraron en las áreas urbanizadas. Estos resultados mostraron que de las siete microcuencas analizadas del Lago de Amatitlán, la época lluviosa no causó un impacto o cambio drástico en las concentraciones bacterianas, al contrario de las urbanizaciones que fueron las que causaron este comportamiento.

DISCUSION DE RESULTADOS

El peligro más común y difundido relativo al agua es el de su contaminación, sea esta directa o indirecta, causado por el efecto de aguas servidas, de otros desechos o de la excreta del hombre o de los animales.

En este estudio se recolectaron 59 muestras a lo largo de una año (marzo 1999 - marzo 2000) las

cuales fueron analizadas para un monitoreo y cuantificadas para determinar la calidad del agua existente en siete microcuencas que descargan sus aguas al lago de Amatitlán.

El estudio demostró que la calidad del agua en las siete microcuencas sobrepasó los niveles permitidos respecto a la norma COGUANOR para agua potable que indica que tanto coliforme totales como fecales no deben ser NMP $<2/200$ mL y *E. coli* no debe ser aislada. En este estudio se comparan los resultados con esta norma debido a que es la única norma disponible en el país sobre agua, y también se considera que ésta pueda ser utilizada para consumo humano en las microcuencas muestreadas. La importancia de los análisis microbiológicos radica no solamente en la potabilidad del agua para uso doméstico, agrícola o industrial, sino que también tiene enormes aplicaciones en la limnología, debido a que muestras de agua que presentaron valores elevados de coliformes totales, lo que indicó entrada de aguas negras al ecosistema y, por lo tanto, riesgo de eutroficación.

Los coliformes totales se encontraron en un nivel mínimo de NMP 2.7×10^3 /100 mL en la microcuenca del río Chanquín y un valor máximo de NMP 3.5×10^{11} /100 mL en la microcuenca de Zanjón La Palín, los coliformes fecales en un rango de NMP 4×10^8 /100 mL a 3.5×10^{11} /100 mL y *E. coli* en NMP DE 2×10^2 /100 mL a 1.6×10^1 / 100 mL distribuidos en la misma manera que para los coliformes totales. Estos resultados se presentaron en las dos épocas del año y en todas las muestras analizadas, con esto se demostró la mala calidad del agua que arrastran las microcuencas.

Mediante una prueba de hipótesis, se mostró en este estudio tanto para coliformes totales, fecales y *E. coli* que no existió diferencia significativa en el NMP entre la época seca y la época lluviosa ($p > 0.05$).

Los resultados generados por este estudio muestran los altos niveles de contaminación fecal que sufren estas microcuencas y de qué lugares proviene principalmente. El menor grado de contaminación es reportado por el río Chanquín, a pesar de esta, sobrepasó los límites permitidos para agua. Este río se caracteriza porque posee un área mínima de urbanización, al igual para el área industrial que hay ubicada a lo largo de su trayectoria. Las microcuencas Zanjón La Palín, San Lucas, El Pinar, Zacatal, Pinala y Guadrón, reportaron los niveles más altos de contaminación, esto es debido a que a lo largo de su recorrido atraviesan los municipios de Guatemala, Villa Nueva y Mixco, y

descargan sus aguas en el río Villalobos. Los resultados obtenidos en la abundancia de coliformes fecales y *E. coli* mostraron la mayor evidencia de que la contaminación de la Cuenca del lago de Amatitlán en estos lugares por material fecal es debido a las aguas residuales provenientes de las zonas de urbanización y al área industrial que se han instalado sin tomar las medidas preventivas para tratar el agua utilizada.

En la época lluviosa se observó una disminución del número de microorganismos coliformes en comparación con la época seca, esto es debido a un fenómeno de dilución provocado por la lluvia que aumenta el caudal de las microcuencas y de esta forma se ve reducido el número de microorganismos procedentes de las aguas negras, descargas domésticas o industriales, pero como se mencionó estadísticamente no es significativo, con lo que se comprobó que la contaminación de las microcuencas hacia el lago de Amatitlán es constante y durante todo el año.

El problema de contaminación muestra el deterioro que sufre la cuenca y el lago de Amatitlán, no sólo en el agua para uso humano (procesos, riego, recreación, etc), sino también en la vida acuática y los peligros que representan para el consumo humano, ya que la contaminación fecal del agua puede incorporar una variedad de diversos microorganismos patógenos.

REFERENCIAS

1. Basterrechea M. Década e Estudios Limnológicos 1985-1995. Guatemala: Academia de Ciencias Médicas, Físicas y Naturales de Guatemala, 1997. 42p. (p.1-20)
2. Quiroz J. Análisis Económico de la Contaminación de Aguas en América Latina. Chile: Centro Internacional para el Desarrollo Económico (CINDE), 1995. 44p. (p.381-426)
3. Comité del Lago de Amatitlán y Yo. ed. Guatemala: Comité del lago de Amatitlán, 1988. VII+77p. (p.11-37)
4. Cano F, Quán N. Técnicas de Análisis Microbiológico de Alimentos y Agua. Guatemala: Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), 1995. 40p. (p.8-27)
5. Mc.land, Greenberg AE, Taras MJ. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 14 ed. Estados Unidos: American Public Health Association, 1975. (p.904-907)
6. Pepper I, Gerba CP, Brusseau ML. Pollution Science. Canadá: Academic Press, 1996. (p.121-126)
7. Organización Panamericana de la Salud. Guía para la Calidad del Agua Potable: Criterios Relativos a la Salud y otra Información de Base Estados Unidos: Organización Mundial de la Salud Vol.2, 1987. 372p. (p.3-7)
8. Herrera, KL. Indicadores Biológicos de la Calidad del Agua del Río Polochic y de la Integridad Biológica del Lago de Izabal Guatemala: Universidad del Valle de Guatemala (tesis de graduación, Facultad de Ciencias y Humanidades Departamento de Biología) 1999. 96p.
9. Roldán G. Fundamentos de Limnología Neotropical. Colombia: Universidad de Antioquía, 1992. (p.467-479)

Agradecimientos

Al Lic. Hayro García y a Chong Lee Parra por su valiosa colaboración en la recolección de las muestras y su ayuda en la búsqueda de información.