La cuantificación del ATP como herramienta de monitorización de la actividad microbiológica

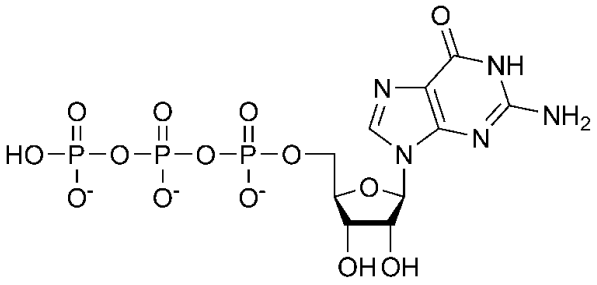
Cynthia Alcántara
Directora Ingeniera Química y Ambiental
KEPLER, INGENIERÍA Y ECOGESTIÓN, S.L.

El ATP o Adenosín TriFosfato es un nucleótido que está presente en todos los organismos, representando su fuente principal de energía para llevar a cabo los procesos celulares (Figura 1). La presencia de esta molécula está asociada a la existencia de células vivas, ya que, una vez que se libera al medio extracelular, el ATP se degrada rápidamente. Por tanto, la medición de ATP se utiliza como un indicador de la biomasa viva en un sistema.

El análisis para la cuantificación de ATP se basa en el principio de bioluminiscencia a través de una reacción enzimática catalizada por la enzima luciferasa, que utiliza la energía química contenida en la molécula de ATP para producir la descarboxilización oxidativa de la luciferina a oxiluciferina (Figura 2).

Como resultado de la desfosforilación del ATP, se emite luz, que es medida en un luminómetro. Los valores se re-

FIGURA 1. Estructura química del ATP



gistran en Unidades Relativas de Luz (URL) y, finalmente, expresadas como unidades de carga microbiológica total (pg/mL). De esta forma, la intensidad lumínica es directamente proporcional a la cantidad de ATP presente en la muestra y, por tanto, a su actividad biológica.

La gran ventaja de esta técnica es la capacidad de cuantificar la actividad de toda la biota presente en la muestra, ofreciendo resultados en minutos a diferencia de las técnicas tradicionales utilizadas para la cuantificación de la carga biológica presente en muestras ambientales, como, por ejemplo, la siembra en placa.

Por ello, la medición de ATP es ampliamente utilizada en la actualidad en la industria alimentaria para verificar la ausencia de actividad biológica sobre superficies, o en aguas de lavado tras procesos de desinfección.

Sin embargo, no existen procedimientos estandarizados para utilizar la medida de ATP en el ámbito ambiental. En los proyectos de biorremediación, lo que se pretende, al contrario de los controles de calidad alimentarios, es un aumento de la concentración de ATP asociado a la estimulación del crecimiento de las poblaciones microbianas involucradas en los procesos de degradación del contaminante objetivo. Por tanto, las muestras presentan cargas microbiológicas muy elevadas, que se salen del rango de medición de los equipos de ATP tradicionales.

En este contexto, el equipo de investigadores de Kepler ha llevado a cabo este último año el desarrollo y validación de un procedimiento interno adaptado a la naturaleza de las muestras ambientales. Dicho procedimiento se basa en un pretratamiento previo con el fin de acondicionar las distintas matrices y eliminar interferencias durante la reacción enzimática. Su validación ha permitido incorporar en el portafolio de servicios del laboratorio biotecnológico de Kepler la cuantificación del ATP como técnica de seguimiento de la actividad microbiológica en procesos de descontaminación.

En este contexto, el seguimiento del rendimiento microbiológico es un parámetro clave durante los proyectos de biorremediación, ya que la actividad metabólica de las bacterias específicas para la degradación del contaminante está directamente relacionada con la tasa de eliminación del mismo (Figura 3). Por tanto, un buen control sobre la actividad de las poblaciones bacterianas involucradas en el proceso de biodegradación permite detectar y corregir de forma rápida desviaciones en la tendencia del rendimiento microbiológico, maximizando la eficiencia de esta biotecnología para cada escenario.

FIGURA 2. Reacción bioluminiscente durante la desfosforilación del ATP

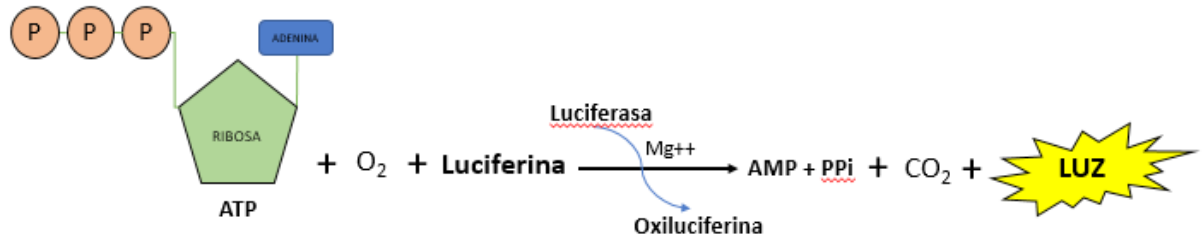
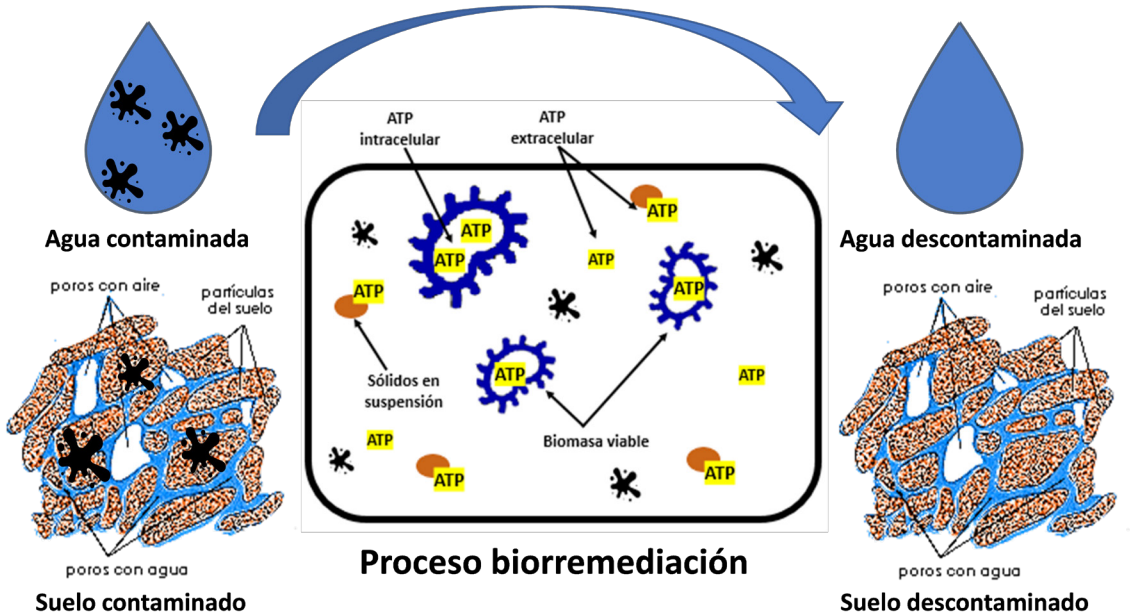



FIGURA 3.