

Potencial de oxidación-reducción

1.INTRODUCCIÓN

Mientras que el pH de los alimentos se mide con facilidad y se comprende la significación de su medida, resulta más difícil medir la repetibilidad del potencial de oxidación-reducción (potencial redox) y además no está clara la significación que en la microbiología del producto tienen los valores hallados.

Se piensa que el potencial redox es un importante factor selectivo en todos los ambientes, incluidos los alimentos, que probablemente influye en los tipos de microorganismos presentes y en su metabolismo. Las diferencias observadas en los productos finales del metabolismo, discernibles por el consumidor por diferencias de color o sabor, pueden ser en algunos casos la consecuencia de diferencias redox. En los alimentos picados (e.g., productos cárnicos) o en los productos no homogéneos (e.g., emulsiones), el potencial redox puede variar considerablemente de una parte a otra debido a altas concentraciones localizadas de diversos pares redox o de nutrientes como glucosa, fumarato o malato.

Cuando se encuentra restringida la difusión gaseosa hacia el centro del alimento pueden existir gradientes de potencial redox desde la atmósfera hasta las partes profundas del alimento.

El potencial redox indica las relaciones de oxígeno de los microorganismos vivos y puede ser utilizado para especificar el ambiente en que un microorganismo es

capaz de generar energía y sintetizar nuevas células sin recurrir al oxígeno molecular.

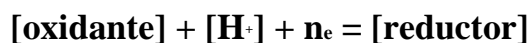
Los microorganismos aerobios necesitan para crecer valores redox positivos mientras que los anaerobios frecuentemente requieren valores redox negativos. En diferentes cultivos microbianos el valor redox puede oscilar dentro de un rango comprendido entre una cifra anaeróbica inferior a unos -420 milivoltios (mV) hasta una cifra aeróbica de aproximadamente +300 mV.

Los procesos de oxidación y de reducción se definen en términos de migraciones electrónicas entre compuestos químicos. La oxidación es la pérdida de electrones mientras que la reducción es la ganancia de electrones. Cuando se oxida una sustancia (i.e., libera electrones) siempre se reduce simultáneamente otra (o sea, capta los electrones liberados). Este concepto electrónico ha sugerido el desarrollo de métodos para estudiar cuantitativamente los procesos de oxidación-reducción reversibles que son vitales para las células vivas.

La medida del potencial de electrodo permite determinar el grado de reducción o de oxidación de una sustancia alimenticia determinada. Esta medida sugiere la posibilidad de clasificar los sistemas oxidantes y reductores de los alimentos en base a su intensidad.

A. Definiciones

Todo proceso redox reversible puede expresarse así:



expresión en la que n_e es el número de electrones transferidos en el proceso. El potencial redox (E_h) de tal proceso viene dado por la ecuación concebida y desarrollada originalmente por Nernst (véase Pirt, 1975):

$$E_h = E_o + (RT/nF) \ln [\text{oxidante}]/[\text{reductor}]$$

en la que E_o es el potencial redox estándar cuando las actividades de todos los reactivos y los productos están a concentración 1 M (normalmente se mide como el potencial redox del punto medio a pH 0 y se supone que su valor es igual al valor teórico de los pares redox en solución acuosa diluida), R es la constante del gas molar, T la temperatura en °K, F la cantidad faraday de electricidad, n el número de electrones transferidos en el proceso y ln el logaritmo natural.

B. Medida del potencial redox

En muchos alimentos es difícil obtener la verdadera medida del potencial redox. Para que el potencial redox de una muestra represente fielmente el del alimento de que fue tomada es esencial que se mantenga inalterado el ambiente gaseoso tanto si el alimento está envasado a vacío, envasado bajo una atmósfera anóxica o envasado en contacto con el aire. Puesto que el potencial redox desciende a consecuencia de la actividad metabólica, el transporte de la muestra deberá realizarse bien en condiciones de refrigeración (0-4°C) o a la temperatura de almacenamiento del alimento. La temperatura y el tiempo del transporte deberán especificarse para ser consideradas en la interpretación de los resultados. El oxígeno es el principal agente que interfiere la medida del potencial redox. En general no deben usarse en la determinación del potencial redox muestras extraídas

porque el oxígeno puede penetrar en la muestra durante el muestreo. Para evitar que el oxígeno contamine las muestras deberá quitarse la capa superior de la muestra de alimento bajo gas inerte para efectuar la medida. Puesto que los valores de potencial medidos dependen del pH, cada medida de potencial redox deberá ir acompañada de la medida del pH. El pH puede cambiar el potencial redox real, pero también para el mismo valor E_h el pH puede crear condiciones favorecedoras de diferentes tipos de metabolismo. Roberts (1970) ha demostrado la influencia del pH sobre el potencial redox limitante del crecimiento de *Clostridium perfringens* mediante la interpretación de los datos de Ranke y Bailey (1945).

El concepto de rH se introdujo para eliminar por cálculo ésta dependencia del pH. Mientras que el rH puede calcularse exactamente cuando todos los iones hidrógeno están completamente disociados a todos los valores pH, cuando el grado de disociación es alterado por el pH se producen inexactitudes. Además, los ácidos monovalentes alteran el potencial redox 30 mV por unidad pH, los ácidos divalentes 57,7 mV y los ácidos de valencia superior hasta 120 mV. Para convertir el E_h (en voltios) en rH puede usarse la siguiente fórmula.

$$E_h = 0,03 (rH - 2 \cdot pH) \text{ o } rH = E_h / 0,03 + 2 \cdot pH$$

El potencial redox se mide con un electrodo de metal inerte (normalmente platino) en un circuito con un electrodo de referencia. Alternativamente pueden utilizarse colorantes que cambian de color a determinados potenciales redox si bien estos indicadores pueden interactuar con los microorganismos y los alimentos obteniéndose falsos valores.

1. Uso de electrodos

El electrodo de platino responderá a cualquier sistema que produzca una reacción electroquímicamente reversible en la superficie del electrodo, siempre que la velocidad de reacción sea rápida en comparación con la captura o liberación de electrones del electrodo medidor.

Con los modernos sistemas de medida de alta impedancia (10^{13} ohmios) pueden medirse potenciales verdaderos a partir de pares redox que producen corrientes de cambio muy bajo. En los sistemas que reaccionan con relativa rapidez tales como el $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ pueden obtenerse medidas cuando la concentración del par es tan baja como 10^{-5}M (Harrison, 1972). La calibración de electrodos redox está relacionada teóricamente al electrodo de hidrógeno estandar, aunque en la práctica se usa un electrodo de calomelano u otro tipo de electrodo de referencia. Si el potencial medido es E_m (mV) y el potencial del electrodo de referencia es E_r (mv), entonces

$$E_h = E_m + E_r$$

En la detallada revisión de Jacob (1970) sobre medidas redox se ofrecen valores típicos del electrodo de referencia. Las ecuaciones (1) y (2) precedentes muestran que el E_h es dependiente del pH y pueden ser reescritas (Pirt, 1975):

$$E_h = E_o + 2,30 \left(\frac{RT}{nF} \right) \log [\text{oxidante}]/[\text{reductor}] - 2,30 \left(\frac{bRT}{nf} \right) \text{pH} \quad (6,5)$$

ecuación en la que b es la concentración ión hidrógeno molar. Si se representa gráficamente el E_h frente al pH, la pendiente de la línea resultante será $-2,30 \frac{bRT}{nF}$, expresión que representa el cambio del E_h por unidad de cambio del pH.

A 30°C, cuando las actividades del reductor y del oxidante son constantes, este cambio es de 58 mV (Pirt, 1975). La lectura del E_h (o potencial redox aparente) depende tanto del tipo de electrodo como de la superficie del electrodo (e .g. pulimentada, ennegrecida; véase Jacob, 1970). Para la medida potenciométrica del potencial redox de muestras de alimentos líquidos se usan los electrodos de platino estandar y de calomelano. Para medidas sobre alimentos sólidos se necesita utilizar electrodos especiales con punta de platino afilada, que tengan escaso diámetro y gruesa pared y puentes de ClK-agar en tubos con punta rellena de fibras de asbestos fundido. A diferencia de los electrodos de pH, los electrodos redox requieren cierto tiempo (dependiente del tipo de muestra) para revelar el potencial redox. Los electrodos redox se pueden descontaminar con peróxido de hidrógeno, manteniendo el electrodo 5 min en solución de H_2O_2 al 5 % y lavandolo después con agua destilada esteril

2. Uso de colorantes

El E_h puede estimarse mediante colorantes indicadores aunque es probable que los propios colorantes interactúen con los alimentos y con los microorganismos (Jacob, 1970). El rango de potenciales redox en el que un colorante experimenta un cambio visible de color puede considerarse referido al azul de metileno (AM) (Pirt, 1975):



y

$$E_h = E_o + 2,30 \left(\frac{RT}{2F} \right) \log \frac{[AM^+]}{[AMH]} - 2,30 \left(\frac{RT}{2F} \right) \text{pH}$$

ó (en mV)

$$E_h = E_o + 29 \log \frac{[AM^+]}{[AMH]} - 29 \text{pH (a } 30^\circ\text{C)}$$

Los potenciales redox estandar de los colorantes (E_o ; i.e., forma [reducida] = [oxidada]) se indican con frecuencia (véase Jacob, 1970). El rango útil de un indicador es el rango de E_h en el que la proporción de la forma oxidada del indicador cambia del 90 al 10 % o sea que $\log [AM]/[AMH]$ cambia por 2. Esto significa que el E_h medido oscila más de unos 60 mV y por tanto el margen E_h del azul de metileno está fijado por el valor E_o a un valor pH determinado, i.e., +170 mV a pH 4, +11 mV a pH 7 y -50 mV a pH 9. La prueba de la reducción del azul de metileno se usa en algunos países para evaluar helados, leche y carne basándose en la suposición de que existe una correlación general entre el tiempo de reducción del azul de metileno y el número de microorganismos presentes, pero en la práctica la correlación es pobre (Anderson y Whitehead, 1974). También se ha sugerido el empleo del cloruro de trifeniltetrazolio (CTT) como compuesto para estimar el número de microorganismos presentes en la superficie de la carne pero, al igual que el azul de metileno, también se ve afectado tanto por el tipo como por el número de bacterias presentes.

3. Problemas de muestreo e interpretación

a. Tamponado. El potencial redox de los alimentos depende de las cantidades relativas de sustancias oxidadas y reducidas que contengan. Los alimentos que

tienen grandes cantidades de tales sustancias son resistentes a los cambios del potencial redox y se llaman "fuertemente tamponados". De aquí que no sea fácil la interpretación de la lectura arrojada por un electrodo redox insertado en un alimento, puesto que el alimento puede estar o no fuertemente tamponado. En los alimentos débilmente tamponados una pequeña población microbiana ($< 10^5/g$) posiblemente puede causar un cambio del potencial redox, mientras que en los alimentos fuertemente tamponados una población microbiana grande ($> 10^5/g$) apenas puede afectar al potencial redox. Para poder juzgar la significación de cualquier cambio del potencial redox de un alimento hay que tener en cuenta el potencial metabólico y el tamaño de la población microbiana en relación con la capacidad tampón redox del alimento.

b. Reacciones colaterales. Las medidas redox tienen la máxima utilidad cuando existen pares reversibles de componentes conocidos que se encuentran en equilibrio. Todo alimento puede contener pares redox pero algunos no se encuentran en equilibrio y otros son irreversibles. Se ha sugerido que la sonda redox puede ser un monitor adecuado de alteraciones o cambios deseables durante el almacenamiento de alimentos envasados a vacío, bajo atmósferas de gas anóxico o enlatados. Se ha visto que indica con exactitud tales cambios profundos en la carne en postrigor (véase Barnes e Ingram, 1956), donde se encuentran relaciones empíricas reproducibles entre los eventos metabólicos y el potencial redox. En tales circunstancias los principales sustratos o productos microbianos muestran alta actividad con el electrodo y pueden enmascarar todas las reacciones colaterales o interferentes de forma tal que el potencial redox medido es la verdadera representación del estado del par redox dominante.

c. Oxígeno. En presencia de oxígeno todos los pares redox de los alimentos tienden hacia el estado totalmente oxidado. Aunque el oxígeno disuelto no influye en la

sonda de platino en presencia de agua pura, en presencia de soluciones salinas (incluyendo alimentos tales como el jamón y las verduras encurtidas) se producen reacciones electrolíticas que pueden sensibilizar la sonda al oxígeno disuelto (Harrison, 1972) haciendo que indique valores redox artificialmente altos positivos). En tales circunstancias el potencial redox aparente será función del logaritmo de la concentración del oxígeno disuelto y por tanto grandes cambios del potencial redox representarán pequeños cambios de la tensión del oxígeno disuelto. Jacob (1970) señaló una caída de 60 mV por el 90 % de reducción de la concentración del oxígeno disuelto. A tensiones de oxígeno disuelto muy bajas las sondas redox pueden exhibir relaciones empíricas entre el oxígeno y los cambios metabólicos (Wimpenny, 1969). Sin embargo, a estos bajos niveles de oxígeno la bioquímica de los microorganismos y los alimentos bioquímicamente activos sufren cambios metabólicos que alteran de forma impredecible estas relaciones. El potencial redox y el pH se pueden controlar en los medios de cultivo, y probablemente en los alimentos, ajustando la concentración de O₂ gaseoso y CO₂ del espacio de cabeza existente sobre el medio (Dobson y Bullen, 1964). Aunque en teoría puede alcanzarse un equilibrio estable entre las concentraciones en las fases de gas y de agua (relativas a la solubilidad de los gases en el medio de cultivo y la temperatura), la captación de O₂ y la liberación de CO₂ por los cultivos microbianos excederá con frecuencia de tales concentraciones.

II. EFECTOS DEL POTENCIAL REDOX SOBRE LOS MICROORGANISMOS

Aunque es virtualmente imposible definir lo que se mide como E_h de un cultivo bacteriano (Morris, 1976), se acepta que las desviaciones de este valor reflejan cambios en el equilibrio entre los agentes oxidantes y reductores que son sus

principales determinantes.

La caída del potencial redox durante el almacenamiento ha sido atribuida a la liberación de H_2 gaseoso y de metabolitos reductores por las enzimas del alimento o microorganismos en crecimiento activo.

La caída más rápida del E_h medida con electrodos de platino frecuentemente coincide con el comienzo de la fase logarítmica de crecimiento de los microorganismos, en la que la intensidad de las actividades metabólicas es máxima (Hewitt, 1950; Oblinger y Kraft, 1973; Douglas y col., 1973). El potencial redox puede reducirse rápidamente durante la germinación y crecimiento de los esporos puesto que, aunque inicialmente sólo germina una pequeña proporción de los esporos, los esporos que germinan y crecen producen nicotinamida adenín dinucleótido reducido (NADH) y otros reductores que reducen la concentración de oxígeno a un nivel no inhibitorio para los esporos remanentes. Esta reducción del nivel de oxígeno y la mayor tensión de H_2 producida por el metabolismo celular se traduce en una gran caída del potencial redox. Los ambientes creados en los alimentos pueden categorizarse a groso modo como aquellos en los que el acceso de oxígeno está restringido y en los que no está restringido. En los que el acceso de oxígeno es limitado los microbios que se desarrollan producen $CO_2 + H_2O$ como principales productos finales; aunque la producción de productos finales tales como ácidos orgánicos no es significativa, entre los metabolitos secundarios pueden incluirse aminas, etc. Cuando el acceso al oxígeno es restringido ocurre la fermentación y pueden impartirse cambios de aroma al alimento antes de que se altere. Antes de que tales cambios sean detectables por el consumidor tiene que alcanzarse un alto número de microorganismos ($> 10^6$ /gm). Algunos microorganismos, como los aerobios estrictos y los anaerobios, sólo poseen un sistema metabólico terminal para obtener energía y en consecuencia sólo son activos dentro de un margen de potencial redox relativamente estrecho. Otros, como los anaerobios facultativos, tienen sistemas alternativos que

pueden ser puestos en marcha o paro por el potencial redox o la presencia o ausencia de oxígeno

A. Aerobios estrictos

Los aerobios estrictos en el habitat de los alimentos (e. g., *Bacillus subtilis*, *B. megaterium*, micrococos, pseudomonas, acinetobacter y moraxellas) usan el oxígeno como el aceptor final de electrones en la respiración. Aunque pueden ser proteolíticos o lipolíticos entre sus metabolitos de desecho se incluyen el agua y el dióxido de carbono. Constituyen una fracción importante de la microflora solamente cuando el O₂ se encuentra facilmente disponible como ocurre en la superficie de las carnes y otros alimentos almacenados al aire. Por ejemplo, en la superficie de la carne puede producirse limo por crecimiento de pseudomonas y el pan se hace filamentoso por crecimiento del *Bacillus subtilis*.

B. Anaerobios facultativos

Los anaerobios facultativos, e.g., Lactobacillaceae, Enterobacteriaceae, Corynebacteriaceae, pueden utilizar el oxígeno como aceptor final de electrones pero en su ausencia también pueden utilizar una diversidad de aceptores de electrones (e.g., NO₃, SO₄²⁻). Dichos organismos crecen en la superficie y en el interior de los alimentos y algunos poseen actividad proteolítica o lipolítica. Con frecuencia sus productos de desecho son ácidos orgánicos. Debido a su profusa distribución, su amplio rango de actividad enzimática y su capacidad para descomponer los compuestos orgánicos, dichos microorganismos pueden competir en una amplia gama de ambientes y con frecuencia son responsables de la

alteración de alimentos de bajo E_h . A esto se debe que sean importantes microorganismos alterativos de los alimentos aunque algunos, como los lactobacilos, puedan causar cambios beneficiosos. Algunos anaerobios facultativos, como las enterobacterias, son organismos de relevancia en relación con la salud pública.

C. Anaerobios obligados

Aquellos clostridios más prevalentes en los alimentos sólo pueden crecer a bajos potenciales redox (aprox -300 mV) y algunos únicamente crecerán en ausencia de oxígeno molecular. Los valores E_h máximos a que crecen los anaerobios oscilan desde +30 a -250 mV para los clostridios (Morris, 1976). En ausencia de oxígeno algunos anaerobios pueden crecer a potenciales redox más altos que en presencia de oxígeno. Por ejemplo, el *Clostridium acetobutylicum* creció a +370 mV en ausencia de O_2 y no lo hizo a +100 mV en presencia de O_2 (O'Brien y Morris, 1971). Los anaerobios que no forman esporos, tales como Bacteroides, con frecuencia no toleran altos potenciales redox, mientras que muchos clostridios pueden sobrevivir durante largos periodos de tiempo a potenciales relativamente altos (+116 mV) en presencia de oxígeno y a veces crecen a potenciales altos (+370 mV) en ausencia de oxígeno. Los anaerobios estrictos suelen crecer como contaminantes de la parte interna de los alimentos no procesados en la que está limitado el acceso libre del oxígeno y juntamente con los anaerobios facultativos constituyen los principales microorganismos de la alteración. Muchos anaerobios no pueden crecer por debajo de aproximadamente 10°C por lo que se utiliza el enfriamiento rápido para inhibir su crecimiento en la carne en post-rigor. Los alimentos enlatados y los alimentos empaquetados en envolturas impermeables a los gases corren mayoritariamente el riesgo de ser contaminados después del

procesado por estos microorganismos. La adición de vitamina C (ácido ascórbico) a los medios de cultivo favorece el crecimiento de los anaerobios tales como el *Clostridium perfringens* en presencia de aire aunque no altera la tensión de oxígeno (Kiigler y Guggenheim, 1938).

III. EL EMPLEO DEL POTENCIAL REDOX EN EL CONTROL DE LOS MICROORGANISMOS DE LOS ALIMENTOS

Aunque generalmente no se reconoce al potencial redox como un parámetro de procesado durante la preparación de los alimentos, es indudable que interactúa con el pH y las atmósferas gaseosas determinando la flora alterativa de muchos alimentos e influenciando probablemente el desarrollo de aromas tanto agradables como desagradables. El potencial redox de las piezas interiores de la carne se encuentra suficiente reducido como para prevenir el crecimiento de los aerobios (e.g., pseudomonas, bacilos u hongos) pero el bajo potencial redox (post-rigor) estimula el crecimiento de enterobacteriaceas y clostridios. La velocidad y extensión de la caída redox (más electronegativa) en los productos alimenticios que carecen de actividad enzimática residual dependen de la velocidad de crecimiento y del tipo fisiológico de bacteria presente. Los tejidos animales, sin embargo, retienen una proporción de su actividad enzimática original durante un considerable periodo de tiempo, hasta de 1 semana post-mortem, dependiente de la temperatura y del procesado. Barnes e Ingram (1955, 1956) demostraron que la iniciación del crecimiento de los clostridios en el músculo de caballo era afectada por su potencial redox. Inmediatamente después de la muerte (pre-rigor) el potencial redox fue de +250 mV y en el músculo exento de bacterias el potencial descendió hasta el margen de +10 a -130 mV post-rigor. Cuando en la muestra estuvieron presentes las bacterias el potencial redox descendió eventualmente a -

250 mV. Los clostridios crecieron en la muestra solamente cuando el potencial redox descendió a -36 mV, hecho que sugiere que los anaerobios naturalmente presentes en la carne no crecen hasta la implantación del rigor mortis debido al alto potencial redox de la carne en pre-rigor. En el músculo en pre-rigor, el potencial redox permanece demasiado alto para el crecimiento de anaerobios durante unas seis horas, si bien la longitud de éste periodo varía según la reserva de oxígeno del músculo. Este periodo de alto potencial redox, en el que el pH también se acidifica hasta un nivel inhibitorio, hace posible el enfriamiento de la canal hasta alcanzarse una temperatura segura ($< 15^{\circ}\text{C}$) antes de que comience el crecimiento de las bacterias anaerobias (Ingram, 1962b, 1972).

Durante el almacenamiento el potencial redox de la carne baja a aprox. -200 mV; la rápida multiplicación de los anaerobios sólo comienza a ser posible cuando el E_h ha caído por debajo de +40 mV. Una vez completado el rigor mortis el potencial redox suele ser de aproximadamente 0 mV. En las carnes frescas picadas que no están compactamente empaquetadas el valor E_h suele ser de unos +200 mV ya que el pequeño tamaño de partícula ($< 3\text{-}4\text{ mm}$ de diámetro) permite la rápida difusión del oxígeno (Jay, 1970). En la carne fresca saturada de oxígeno lista para la picadora el núcleo es desprovisto de oxígeno en cuestión de horas; sin embargo, si el picadillo fresco no se empaqueta compactamente permanecerá saturado de oxígeno durante 1-2 días. En consecuencia, el potencial redox de las carnes procesadas puede controlarse mediante el empaquetado. El potencial redox de los quesos oscila desde -20 a -200 mV. En los productos lácteos, el enranciamiento puede prevenirse mediante el crecimiento de bacterias que reducen el potencial redox y eliminan el oxígeno. Estas manifestaciones oxidativas no aparecen cuando el E_h es inferior a +300 mV a pH 6,5 (Davis, 1932; Davies y col., 1934). Wirth y Leistner (1970) sugirieron que el valor redox inicial óptimo para las carnes

enlatadas se encontraba entre -20 y -150 mV. Durante los largos períodos de almacenamiento el potencial redox de la carne de cerdo y de la carne de vacuno enlatadas puede bajar a -350 mV haciéndolas inadecuadas para el consumo humano. Para incrementar la capacidad tampón del producto y en cierta manera incrementar su vida útil manteniendo el potencial redox dentro de límites aceptables pueden utilizarse aditivos tales como el nitrito (oxidante) o el ácido ascórbico (reductor).

En las carnes los compuestos químicos que contienen grupos -SH mantienen las condiciones reductoras mientras que en frutas, hortalizas y verduras el ácido ascórbico y los azúcares reductores tienen el mismo efecto. Los alimentos vegetales, especialmente los zumos, poseen valores E_h de +300 a +400 mV (pH 4-5) y consecuentemente son alterados por bacterias aerobias y mohos.

IV. EFECTOS COMBINADOS E INTERACCIONES

Todos los microorganismos que crecen en un ambiente sin libre acceso al aire reducen el potencial redox a su valor límite más bajo. Cuando en un alimento existen diferentes tipos de microorganismos sus diversas capacidades para alterar el potencial redox y también para tolerar los valores redox alterados son determinantes importantes de la competición microbiana y del establecimiento de sucesiones microbianas. Por ejemplo, los microorganismos dañados y los que tienen una fase de latencia solo alteran el potencial redox muy lentamente y apenas influyen en el curso de la sucesión microbiana. Normalmente los anaerobios facultativos (e.g., Enterobacteriaceae) no suelen ser inhibidos por el crecimiento de los aerobios estrictos, sino que al contrario, su proliferación puede inhibir el crecimiento de microorganismos aerobios alterativos. Las especies que tienen escasa tolerancia a los bajos potenciales redox

con frecuencia pueden alcanzar su máxima densidad de población antes de que el potencial redox sea reducido por debajo de su límite. La microflora de un alimento puede reducir su potencial redox y por tanto reducir su alteración por gérmenes aerobios. Por ejemplo, en el bacon empaquetado los lactobacilos pueden prevenir la alteración por los micrococos. Es posible observar ciertas relaciones entre los límites redox para el crecimiento de los cultivos y los efectos del oxígeno sobre los anaerobios. Morris (1976) sugirió que los efectos inhibidores del O₂ sobre muchos anaerobios se deben directamente a su presencia y no a su efecto sobre el potencial redox. La toxicidad del oxígeno probablemente se debe a radicales libres del oxígeno, habiéndose sugerido que muchos reductores, como los tioles, actúan como secuestradores de estos radicales libres tóxicos. Por consiguiente, los anaerobios obligados no pueden crecer en presencia de radicales libres superóxido altamente tóxicos (formados durante el metabolismo o por reacciones químicas que tienen lugar en los alimentos), ya que carecen de la superóxido dismutasa que degrada éstos radicales libres a peróxidos. Los últimos pueden ser degradados por peroxidasas, catalasas u otras enzimas tisulares (Morris, 1976). Los bajos potenciales redox proporcionan un ambiente suficientemente libre de radicales libres del oxígeno y de peróxidos para que se produzca el crecimiento de estos microorganismos. Los microorganismos totalmente desprovistos de catalasa/peroxidasa y superóxido dismutasa mueren por procesos enzimáticos y no enzimáticos que producen peróxido de hidrógeno, como por ejemplo el sistema defensivo lactoperoxidasa-tiocianato-peróxido de la leche cruda (Reiter y col., 1964) y los aniones superóxido cuando el oxígeno está presente. En consecuencia, los componentes del alimento que sirven como nutrientes, los reductores o los oxidantes, pueden por sí mismos generar o neutralizar los subproductos tóxicos de las reacciones de radicales libres o peroxidativas.

A veces la total exclusión del oxígeno molecular no es suficiente para asegurar el crecimiento de los anaerobios estrictos puesto que ello sólo puede reducir el potencial redox a +100 mV. Los organismos anaerobios requieren en sus cultivos un bajo E_h que con frecuencia pueden desarrollar y mantener. Los anaerobios crecen mejor bajo las llamadas "condiciones reductoras" en las que hay una demanda mínima de la capacidad reductora del microorganismo, que entonces pueden emplear con mayor productividad para obtener energía o para la biosíntesis. La consecución y mantenimiento de éstas condiciones de equilibrio deseables en muchos alimentos o medios de cultivo que carecen de reductores exige la contribución reductora de los propios microorganismos. Los anaerobios difieren en su capacidad para generar la capacidad reductora excedentaria (disponible) y los alimentos pueden variar en la acción tamponante redox o pares redox intrínsecos; estos interactúan proporcionando un poderoso factor selectivo en el alimento. Aquellos microorganismos que poseen menor capacidad reductora tienen un ciclo altamente acoplado de generación y aceptación de electrones endógenos que apenas permite la diversión de un flujo de electrones para la reducción de oxidantes exógenos. Su crecimiento en los alimentos no prerreducidos será limitado y constituirán las especies más afectadas por la adición de oxidantes al alimento. Por el contrario, su crecimiento será favorecido por el envasado en envolturas impermeables a los gases o la adición de reductores. Probablemente éstas especies se recuperan con dificultad de los alimentos cuando el ambiente se altera pudiendo ser incapaces de crecer en medios que no han sido pretamponados a un bajo E_h . Los agentes reductores que favorecen la creación de un potencial redox bajo (e. g., sulfito y tioglicolato) son útiles contribuyentes de la iniciación del crecimiento de los anaerobios, sobre todo a partir de pequeños inóculos. Los medios de crecimiento de los anaerobios frecuentemente se suplementan con compuestos que contienen grupos -SH (e. g., cisteína) que actúan como agentes reductores,

hallándose probablemente favorecido su crecimiento en aquellos alimentos, como la carne, que son anaeróbicos y contienen tales compuestos. El crecimiento de *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens* resultó inhibido por el KMnO_4 a pesar de que el compuesto incrementó el potencial redox; el crecimiento del *Bacillus* fue estimulado por el $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ (Olczyk, 1968). Por otra parte, el crecimiento de *Torula utilis* fue independiente del E_h . El potencial redox ambiental es un determinante importante del crecimiento microbiano y por ello puede actuar como agente selectivo y como factor que influye en los productos metabólicos de los microorganismos. La forma en que el potencial redox afecta al metabolismo microbiano o selecciona una determinada especie de microbio no es bien conocida en la actualidad y requiere mayor estudio. Como se ha mostrado, es difícil obtener estimaciones exactas del potencial redox y además interpretar tales lecturas una vez efectuadas. La interacción de la superóxido dismutasa y peroxidasa con pares redox particulares y radicales libres tóxicos apenas se comprende; el conocimiento de la significación de estas interacciones en las células puede aportar datos sobre el modo de acción de muchos conservadores y otros inhibidores desconocidos en los alimentos.