

calidad sin, o al menos reduciendo, el pardeamiento enzimático (Valero y cols. 1989).

En este trabajo, la muestra de PPO de uva Monastrell cultivada de forma ecológica y tradicional, fue parcialmente purificada usando una modificación del método descrito por Sánchez-Ferrer et al. (1989), que consiste en la separación de fases con TX-114 (más detalles en materiales y métodos). Mediante este método, la enzima fue extraída en estado latente y pudo ser activada por diferentes métodos (choque ácido, detergentes, proteasas) tal y como había sido descrito en la bibliografía (Sánchez-Ferrer y cols. 1989).

Las muestras de PPO de uva Monastrell ecológica y tradicional fueron sometidas a electroforesis en gel de poliacrilamida, mostrando en ambos casos una sola banda cuando se tiñeron los geles para actividad usando L-Dopa y MBTH como sustratos en ambos casos (Fig 1). Este resultado fue similar al obtenido para PPO soluble de patata (Sánchez-Ferrer y cols. 1993) lechuga iceberg (Chazarra y cols. 1996) plátano (Sojo y cols. 1998) y champiñón (Núñez-Delicado y cols. 2003). Por otra parte, la figura 1 muestra la misma banda electroforética en ambos casos, indicando por tanto la presencia de la misma isoenzima de PPO en uvas Monastrell cultivadas de forma ecológica (Fig. 1B) o tradicional (Fig. 1A).

Cuando se estudió la actividad de PPO usando TBC como sustrato a diferentes valores de pH en ausencia de SDS, ambas enzimas: de uva, ecológica y tradicional, mostraron un óptimo a pH 4.0 (figura 2A, ●, ■). Estos datos coincidieron con el pH óptimo descrito previamente para PPO de uva cultivada por el sistema tradicional (Sánchez-Ferrer, 1989). El bajo pH óptimo fue resultado de la activación de la enzima por choque ácido. Este pH óptimo se desplazó a pH 5.0 en presencia de 3.5 mM de SDS en ambos casos (figura 2A, ○, □). Este efecto de desplazamiento de pH en presencia de SDS ya ha sido descrito anteriormente para PPO de champiñón (Núñez-Delicado y cols. 2003).

La figura 2A también muestra que la actividad de PPO de uva ecológica (Fig. 2A, ●, ○) fue el doble ( $P < 0.05$ ) que la observada para uva tradicional (Fig. 2A, ■, □), tanto en presencia como en ausencia de SDS. El mayor grado de activación se obtuvo a pH 6.0 en ambos casos (figura 2B) con un valor de activación de 8.6 y 7 veces para uva ecológica y tradicional, respectivamente.

Para una mejor caracterización de las diferencias entre los dos tipos de cultivo, se estudió el efecto de la concentración de SDS, a pH 6.0. La figura 3 muestra que el proceso de activación fue saturable, presentando la máxima actividad a 3.5 mM de SDS para ambos tipos de uva: Monastrell ecológica y tradicional. Una vez más, la actividad de PPO en presencia de SDS fue aproximadamente dos veces mayor en uva Monastrell ecológica que tradicional ( $P < 0.001$ ).