

El grado de activación de la enzima también fue dependiente del sustrato utilizado: TBC, 4MC, CGA. Se encontró una alta dependencia entre el grado de activación y la hidrofobicidad del sustrato ($TBC > 4MC > CGA$). Los cambios en la conformación de la enzima provocados por el detergente en el proceso de activación, favorecen el acceso de los sustratos hidrófobos al centro activo de la enzima, tal y como ha sido descrito previamente en la bibliografía para PPO de hoja de patata (Sánchez-Ferrer y cols. 1993).

Finalmente, también se estudió la activación proteolítica de la enzima en presencia de 0.5 mg/mL de tripsina (Fig. 4). El proceso de activación fue dependiente del tiempo, presentando la máxima activación tras 20 minutos de incubación. En el caso de uva ecológica, la enzima latente se activó 29 veces, prácticamente el doble que el grado de activación alcanzado por PPO de uva tradicional (17 veces). La actividad de PPO activada por tripsina de uva ecológica y tradicional fue independiente del pH entre 3.0 y 7.5 (Fig. 5A). El máximo grado de activación proteolítica de ambas PPOs latentes fue encontrado a pH básico (Fig. 5B). En ambos tipos de uva Monastrell, ecológica y tradicional, el grado de activación obtenido usando tripsina como agente activador fue más alto (2 o 3 veces) que con choque ácido y SDS.

En resumen, este estudio revela que PPO de uva Monastrell ecológica y tradicional se extrae en estado latente y puede ser activada por diferentes métodos como pueden ser: choque ácido, SDS y tripsina, siendo el último método de activación el más efectivo (29 vs 17 veces para uva ecológica y tradicional, respectivamente). La alta actividad de PPO presentada en uva Monastrell ecológica comparada, con uva tradicional, podría ser el resultado de los cambios en el metabolismo fenólico de plantas en ausencia de pesticidas sintéticos y fertilizantes minerales fácilmente solubles, especialmente cobre y azufre. Este aumento de la actividad de PPO puede contribuir a crear resistencias a enfermedades en cultivos ecológicos, por rápida oxidación de fenoles a quinonas que inhiben la poligalacturonasa de patógenos (Ohazurike y Arinze 1996).

Como conclusión, los resultados presentados en este artículo sugieren que PPO puede ser considerada como un marcador endógeno específico para la diferenciación de uva Monastrell ecológica y tradicional, tal y como ha sido descrito previamente en melocotón y pera ecológica (Carbonaro y cols. 2001). Estos datos indican que los vinos obtenidos a partir de uva ecológica pueden estar más oxidados que los obtenidos a partir de uva tradicional por la mayor actividad de PPO observada en uvas ecológicas.