

XLIV JORNADAS DE VITICULTURA Y ENOLOGÍA TIERRA DE BARROS

IV Congreso Agroalimentario de Extremadura

CENTRO UNIVERSITARIO SANTA ANA ALMENDRALEJO



Del 3 al 6 de Mayo 2022

XLIV JORNADAS DE VITICULTURA Y ENOLOGÍA
DE LA TIERRA DE BARROS
IV CONGRESO AGROALIMENTARIO DE EXTREMADURA

Edita:

Centro Universitario Santa Ana
C/ IX Marqués de la Encomienda, nº 2
Almendralejo
Tel. 924 661 689
<http://www.univsantana.com>

Colabora: Cajalmendralejo

Ilustración de portada:

© ALBERTO CATILLO

Diseño original:

Tecnigraf S.A.

Maquetación: Virginia Pedrero

ISBN: 978-84-7930-112-0

D.L.:

Imprime: Impresal

Estudio comparativo de aminoácidos y aminas biógenas presentes en el mosto de ocho variedades de uva blanca y tinta cultivadas en clima cálido durante tres años.

ALIAÑO-GONZÁLEZ, M.J.^{1,2}

GUTIÉRREZ-ESCOBAR, R.¹

PUERTAS, B.¹

CANTOS-VILLAR, E.¹

¹ Instituto de Investigación y Formación Agraria, Pesquera, Alimentaria y de la Producción Ecológica (IFAPA), Centro Rancho de la Merced. Ctra. Cañada de la Loba (CA-3102), Km 3.1, Jerez de la Frontera 11471, Cádiz, España.

² Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz, 11510 Cádiz, España.

RESUMEN

El incremento en la concienciación de los consumidores por la composición de muchos alimentos y sus posibles consecuencias para la salud ha llevado a los investigadores al estudio de la composición de muchos de estos productos. El vino es uno de los alimentos más consumidos alrededor del mundo, y entre sus componentes se encuentran compuestos de gran interés para la salud como los polifenoles, estilbenos, minerales, o aminoácidos. Además, los aminoácidos son compuestos de alto impacto en el

perfil organoléptico del vino. Por otro lado, las aminas biógenas, compuestos derivados de los aminoácidos entre otros, y que se encuentran presentes en muchos alimentos fermentados, han demostrado tener importantes efectos nocivos sobre la salud al alcanzar ciertas concentraciones. Por este motivo, el estudio de variables como la variedad de uva o las condiciones climáticas y su influencia en la generación y acumulación de ambos compuestos (aminoácidos y aminas biógenas) es de gran interés para elaborar vinos con un perfil organoléptico específico y asegurar el nivel de seguridad requerido por los consumidores. Durante el presente trabajo se ha llevado a cabo el análisis de 23 aminoácidos, 10 aminas biógenas y el ion amonio en ocho variedades de uva (Cabernet Sauvignon, Syrah, Tempranillo, Tintilla de Rota, Chardonnay, Palomino Fino, Sauvignon Blanc y Vijiriega) durante tres años (2019, 2020, y 2021). Los resultados prueban una clara influencia de la variedad en el contenido de aminoácidos, siendo la especie Sauvignon Blanc la que ha alcanzado la mayor concentración durante los tres años de estudio. Además, el genotipo también ha demostrado su influencia en la acumulación de aminas biógenas en uva. Por otro lado, las condiciones climáticas parecen ser un factor muy influyente para todos los aminoácidos y aminas biógenas estudiadas con *p*-valores menores de 0.001. En concreto, las condiciones climáticas adversas como muy bajas temperaturas, altas radiaciones solares, y escasas lluvias parecen inhibir una alta biosíntesis de aminoácidos.

Palabras clave: aminoácidos, aminas biógenas, mosto, variedades de vid, condiciones climáticas.

ABSTRACT

The increased awareness of consumers about the composition of many foods and their possible health consequences has led researchers to study the composition of many of these products. Wine is one of the most consumed foods around the world, and its components include compounds of great interest for health such as polyphenols, stilbenes, minerals, or amino acids. In addition, amino acids are compounds with a high impact on the organoleptic profile of wine. On the other hand, biogenic amines, compounds derived from amino acids among others, and which are present in many fermented foods, have shown important harmful effects on health when they reach certain concentrations. For this reason, the study of variables such as the grape variety or climatic conditions and their influence on the generation and accumulation of both compounds (amino

acids and biogenic amines) is of great interest to produce wines with a specific organoleptic profile and ensure the level security required by consumers. During the present work, the analysis of 23 amino acids, 10 biogenic amines and the ammonium ion has been carried out in eight grape varieties (Cabernet Sauvignon, Syrah, Tempranillo, Tintilla de Rota, Chardonnay, Palomino Fino, Sauvignon Blanc and Vijiriega) during three years (2019, 2020, and 2021). The results show a clear influence of the variety on the amino acid content, with the Sauvignon Blanc species having reached the highest concentration during the three years of study. In addition, the genotype has also shown its influence on the accumulation of biogenic amines in grapes. On the other hand, climatic conditions seem to be a very influential factor for all amino acids and biogenic amines studied with *p*-values less than 0.001. Specifically, adverse weather conditions such as very low temperatures, high solar radiation, and low rainfall seem to inhibit a high biosynthesis of amino acids.

INTRODUCCIÓN

El vino es uno de los productos más consumidos alrededor del mundo, con un consumo estimado por la Organización Internacional del Vino (OIV) de 237,485,000 hL en 2019 [1]. Sin duda, el vino es un alimento hedonista y su consumo viene determinado por sus propiedades organolépticas. Sin embargo, durante los últimos años, el aumento de la demanda por consumir productos de calidad, sin aditivos y más saludables ha despertado en los consumidores el interés de conocer la composición de los alimentos y sus repercusiones sobre la salud, lo que también ha supuesto un incremento en el interés de la sociedad por la composición de este producto. Y es que, un consumo moderado de vino ha demostrado tener importantes repercusiones en la salud como alta actividad antioxidante, anti-inflamatoria y anti-microbiana, con un papel determinante en la prevención de algunas enfermedades cardiovasculares y neurológicas, cáncer o diabetes [2]. Estos hechos han llevado a muchos investigadores al análisis de la composición química del vino para determinar su calidad, su valor nutricional e incluso su seguridad dentro del marco de la seguridad alimentaria.

Los azúcares y el contenido en nitrógeno (N₂) de las uvas han demostrado jugar un papel decisivo en el crecimiento y metabolismo de las levaduras

durante la fermentación alcohólica (FA), afectando directamente a la calidad final del vino [3]. De hecho, un contenido insuficiente de nitrógeno suele provocar un vino comúnmente conocido como deficiente, con características no deseables. Para conocer el contenido de N_2 se emplea el parámetro "Nitrógeno Fácilmente Asimilable (NFA)", que viene determinado por la suma del contenido en aminoácidos libres, péptidos e iones amino presentes en las uvas [4]. Mostos con NFA por debajo de 140 mg/L pueden presentar paradas fermentativas con graves repercusiones en la calidad final del vino [5].

Los aminoácidos (aa) son compuestos nitrogenados con un alto valor nutritivo, y precursores de muchos compuestos. De hecho, los aa sirven como fuente de nitrógeno para las levaduras siendo responsables de la formación de muchos compuestos volátiles como los ácidos volátiles, alcoholes superiores, esteroides, tioles, o compuestos sulfurados que constituyen el perfil aromático del vino [6, 7]. Es posible concluir que los aa presentes en las uvas tienen una repercusión directa en las características sensoriales del vino final. En este sentido, es importante tener en cuenta que el perfil y el contenido de los aa presentes en las uvas están influenciados por muchos factores como la variedad, el grado de maduración, el clima, etc. [8, 9], por lo que el estudio de estas variables y su influencia sobre la composición aminoacídica de las uvas es decisivo.

Las aminas biogénicas o biógenas (ABs) son compuestos nitrogenados formados a partir de la descarboxilación de aa libres o aminación o transaminación de aldehídos y cetonas [10]. Aunque las ABs son compuestos indispensables para muchas actividades fisiológicas (como respuestas biológicas a procesos de estrés o envejecimiento), su alto consumo produce importantes problemas de salud como dolor de cabeza, hipo- o hipertensión, diarrea, sofocos, náuseas o incluso shock anafilácticos [11]. Además, se ha demostrado que la acumulación de ABs tiene un efecto negativo sobre el aroma y el sabor del vino [12]. Por tanto, es fundamental tener un control estricto del contenido de ABs en las uvas y en el vino por motivos de seguridad y calidad. En resumen, un conocimiento profundo del perfil de aa y ABs de uva/mosto es de gran utilidad para producir vinos con perfiles organolépticos específicos, y reducir los riesgos para la salud del consumidor. En la presente investigación se ha llevado a cabo el análisis de aa y ABs presentes en ocho variedades de uva (Cabernet Sauvignon, Syrah, Tempranillo, Tintilla de Rota, Chardonnay, Palomino Fino, Sauvign-

non Blanc y Vijiriega) durante tres años (2019, 2020, y 2021), siendo el objetivo principal el estudio de la influencia de estas dos variables (variedad y condiciones climáticas) sobre la concentración de estos compuestos, y cómo éstos podrían afectar a las características finales del vino.

MATERIALES Y MÉTODOS

Reactivos

Los patrones primarios de aa (α -alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, β -alanina, cisteína, GABA, ácido glutámico, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, OH-prolina, ornitina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina y valina), iones de amonio y ABs (agmatina, cadaverina, histamina, isoamilamina, fenilalanina, feniletilamina, putrescina, espermidina, triptamina y tiramina) fueron adquiridos de Merck (Steinheim, Alemania) con pureza HPLC. Sus soluciones madre se prepararon individualmente disolviendo los compuestos puros en HCl 0.1 N mientras que las soluciones de calibración se prepararon diluyendo las soluciones madre con agua Milli-Q. El ácido bórico, el ácido L-2-aminoadípico, el DEEMM (dietil etoximetilenmalonato) y la azida sódica también se adquirieron de Merck. Los disolventes ácido acético, acetonitrilo y metanol se adquirieron de Honeywell (Carolina del Norte, Estados Unidos) en grado analítico. Para la generación del agua ultrapura se empleó un sistema de agua Milli-Q (Millipore Corp., Bedford, MA).

Muestras

El primer factor por estudiar dentro de esta investigación fue la influencia de la variedad sobre la concentración de aa y ABs encontrada en mosto. Para ello, se seleccionaron un total de ocho variedades de vid. Las variedades estudiadas fueron: Cabernet Sauvignon ($\times 2$) (CS), Syrah (Sy), Tempranillo (Te), Tintilla de Rota (TR), Chardonnay (Ch), Palomino Fino (PF), Sauvignon Blanc (SB) y Vijiriega (Vi). Estas variedades se plantaron en 1999 en el viñedo experimental del Instituto de Formación Agraria Pesquera y Alimentaria de la producción ecológica (IFAPA) "Rancho de La Merced", situado en Jerez de la Frontera en el suroeste de España (coordenadas: longitud 06:00:58 W y latitud 36:45:29 N) a 17 metros sobre el nivel del mar.

Dichas uvas fueron vendimiadas durante tres cosechas (2019, 2020 y 2021) para evaluar la influencia de las condiciones climáticas en el contenido de aa y ABs. Se recogieron alrededor de 20 kilogramos de cada variedad y se prensaron en prensa manual para obtener el mosto, que se congeló a -20°C hasta su análisis. Un resumen de la información de las variedades seleccionadas se muestra en la Tabla 1. Los datos climáticos anuales (temperaturas máxima, mínima, promedio y pluviometría) fueron proporcionados por los Servicios de Consultoría de Gestión de la Red de Estaciones Meteorológicas de la Junta de Andalucía (https://ifapa.junta-andalucia.es/agriculturaypesca/ifapa/ria/servlet/FrontController?Action=Static&url=coordenadas.jsp&c_provincia=11&c_estacion=2) (Figura 1).

Preparación de la muestra

La derivatización de aa y ABs se realizó según el método de Gómez-Ordóñez et al., [13] con modificaciones. Para ello, se mezcló 1 mL de patrón o muestra con 1.45 mL de tampón borato 1 M ($\text{pH} = 9$), 750 μL de metanol, 20 μL de patrón interno (ácido L-2-aminoadípico, 1 g/L) y 30 μL de DEEMM en un vial tapado que se mezcló manualmente. Los viales se colocaron en un baño de ultrasonidos durante 30 minutos (360 W) y, posteriormente, en un baño a 70°C durante 2 h para permitir la degradación completa del exceso de DEEMM y los subproductos de los reactivos. Las muestras de mosto fueron previamente centrifugadas a 6000 rpm durante 15 minutos, y el sobrenadante fue recogido para el proceso de derivatización con DEEMM. Todas las muestras se filtraron a través de un filtro de membrana con un tamaño medio de poro de 0.45 μm (Millipore) antes de su inyección en el HPLC.

Análisis mediante HPLC

El análisis de aa y ABs se llevó a cabo mediante un sistema HPLC (Waters, Mildford, MA, USA) equipado con un modelo 1525 de bomba binaria y un detector de fotodiodo Waters 2796. La columna utilizada para el análisis fue Luna 5 μm (C18, 100 Å, 250 x 4.6 mm) con una pre-columna del mismo material (C18, 4 x 3 mm) ambas de Phenomenex (California, Estados Unidos) y fijadas a una temperatura de 45°C . La fase móvil A fue un tampón de acetato 25 mM ($\text{pH} 5.8$ ajustado con solución de NaOH 1 M) con azida de sodio al 0.02 %, mientras que la fase móvil B fue una disolución de ace-

tonitrilo-metanol (80:20 v/v). Ambas fases móviles se filtraron a través de un filtro de membrana con un tamaño medio de poro de 0.45 μm (Millipore) antes de su uso. El programa de gradiente fue similar al utilizado por Gómez-Alonso et al., con un tiempo total de separación de 90 minutos. El volumen de inyección fue de 10 μL y la separación se obtuvo a un caudal de 0.9 mL/min. Para la detección se usó un detector de matriz de fotodiodos monitoreado a 269, 280 y 300 nm. Los datos resultantes se expresaron como mg/L.

Tratamiento de datos

Con el objetivo de estudiar la influencia de los factores seleccionados (variedad y condiciones climáticas) se llevó a cabo un análisis de varianza de dos factores (ANOVA) empleando para ello el software estadístico IBM SPSS versión 22.0 (Armonk, NY, USA). Se compararon las medias y se agruparon acorde a la diferencia menos significativa (LSD: *Least Significant Difference*) y al test de Fisher considerando una significancia del 95% ($p\text{-valor} \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los perfiles de aa y ABs para todas las variedades en los tres años se han representado gráficamente en la Figura 2. Tal y como puede observarse, los valores medios de aa totales oscilaron entre 378.22 y 1528.71 mg/L para las variedades CS_1 y SB respectivamente. Estos valores estuvieron dentro de los rangos descritos por otros autores para la variedad CS (313.7 - 4125.3 mg/L), aunque superiores a los rangos descritos habitualmente en SB (313.5 a 1252.8 mg/L) [14]. De hecho, SB fue la variedad con mayor concentración de aa y un contenido de ABs significativamente bajo durante los tres años de estudio. Además, no se detectó una diferencia clara en el contenido de aa si las variedades eran blancas o tintas. Por otro lado, el ion amonio varió de 122.64 a 268.41 mg/L en las variedades PF y Vi respectivamente (datos no mostrados). Estas concentraciones fueron significativamente superiores a las observadas en la bibliografía [15] pero inferiores a la concentración de 541 mg/L considerada tóxica para la vid [16] y que podría dar lugar a un alto desarrollo de determinado tipo de levaduras, afectando al aroma del vino. Estas concentraciones suponen un rango de NFA de 691.72 a 2781.51 mg/L, muy superior al valor de 140 mg/L por debajo de cual puede pararse la fermentación o ralentizarse con efectos desagradables en el vino final [5].

En relación a los compuestos, dentro del periodo de estudio la treonina fue el aa más abundante para la mayoría de las variedades con una concentración promedio de 179.18 mg/L seguida de la arginina con una concentración promedio de 168.74 mg/L. En el caso de la treonina, este valor fue significativamente superior al rango usual observado en la literatura para mosto (7.4 – 117.0 mg/L) mientras que la arginina estuvo dentro del rango usual (7.1 – 665.3 mg/L) [20].

En el caso de las ABs, solo dos de ellas fueron detectadas en los mostos analizados, la espermidina y la putrescina. El contenido total de ABs varió de 5.67 a 29.01 mg/L para las variedades SB y Sy respectivamente. El rango habitual de ABs que se encuentra en el mosto de la variedad SB es de 4.3 – 27.3 mg/L, lo que supone que los datos obtenidos se encuentran entre los valores habitualmente detectados [17]. Sobre la variedad Sy, la concentración de ABs también estuvo en el rango del contenido de ABs observado en la literatura (14.1– 40.6 mg/L) [18]. Actualmente no se ha establecido un límite legal sobre la concentración de ABs permitida en vino, aunque muchas de las recomendaciones dadas por instituciones oficiales se centran únicamente en el contenido de histamina debido a sus consecuencias adversas para la salud. Es por ejemplo, el caso de Alemania que recomienda no superar un contenido de histamina de 2 mg/L, Bélgica de 6 mg/L, o Francia de 8 mg/L [19]. En nuestro estudio, no se detectó histamina en ninguna de las variedades evaluadas, estando siempre las concentraciones por debajo del límite de detección (0.09 mg/L). A pesar de las diferencias encontradas según las variedades, se sabe que otros factores, tales como las condiciones climáticas, influyen en el contenido de aa y ABs en mosto.

Se llevó a cabo un estudio en mayor profundidad de las condiciones climáticas de los tres años de estudio y su posible repercusión en la concentración de aa y ABs en mosto. En la Figura 1 se muestran las características climáticas principales de los tres años de estudio. Se detectó que el 2019 fue el año con el contenido más bajo de la mayoría de aa (contenido total de 1096.20 mg/L) mientras que 2020 y 2021 no presentaron diferencias claras.

En 2019 las temperaturas mínima (11.67 °C), máxima (24.36 °C), y media (17.80 °C) se encontraron por debajo de las alcanzadas en los años 2020 y 2021. Además, la pluviometría de este año (360.6 mm) fue significativamente menor a los otros dos años, lo que combinado con una alta radiación solar (19.23 MJ/m²) en comparación con el resto de años podrían haber provocado una deshidratación y una maduración acelerada de las uvas

inhibiendo la biosíntesis de aa. Estos resultados están en concordancia con lo observado por otros autores [7], en los que bajas temperaturas máximas y mínimas junto con una alta radiación solar provocaron una menor producción de aa. Se detectó un efecto diferente en el caso de las ABs. Por el contrario, 2021 fue el año con menor contenido de ABs totales (9.98 mg/L) con diferencias significativas entre los tres años estudiados. Este año se caracterizó por las máximas temperaturas mínimas y medias pero con valores intermedios de pluviometría, lo que podría dar lugar a las condiciones óptimas para reducir la actividad microbiana en uvas y por tanto evitar una gran acumulación de ABs. Sin embargo, no se ha encontrado una relación clara entre las variables estudiadas y dicha producción, quedando pendiente la extensión de factores a tener en cuenta y la inclusión de otras variables.

Se realizó un ANOVA de dos factores con prueba Fisher ($p \leq 0.05$) con el fin de estudiar en mayor profundidad las diferencias observadas entre la concentración de aa y ABs entre las variedades y años seleccionados, así como una posible interacción entre ellos. Se concluyó una alta influencia de las variedades seleccionadas en el contenido de aa y ABs al obtener p -valores inferiores a 0.001 en todos los casos. Es importante señalar que este efecto no fue el mismo para todos los compuestos estudiados. Algunos de ellos como la lisina (F: 17522.80), ácido aspártico (F: 7327.80) o triptófano (F: 6769.41) demostraron estar más influenciados por el factor genético que el resto de aa. Por otro lado, la espermidina y la putrescina estuvieron influenciados por el factor variedad, pero con valores F similares.

En relación a las condiciones climáticas, los p -valores obtenidos fueron inferiores a 0.001 para todos los aa y BAs. En este caso, la lisina y la treonina fueron los aa más influenciados por el año con valores de F de 18282.71 y 4959.46 respectivamente mientras que la espermidina fue la BA más afectada por el año (F: 4834.55), significativamente superior a la putrescina (F: 1254.30). Finalmente, también se evaluó la interacción entre ambos factores (variedad x año). Todos los compuestos exhibieron un p -valor inferior a 0.001 y un valor de F superior a 1, lo que demuestra la influencia de esta interacción de su contenido. La lisina (F: 8897.18), el ácido aspártico (F: 5247.64) y la tirosina (F: 1892.95) fueron los aa más influenciados por esta interacción. El hecho de que el año influya de manera diferente en cada variedad se puede observar fácilmente en la Figura 2, donde CS_2 y Vi se ven muy afectadas por el año en comparación con otras variedades como Sy o TR.

CONCLUSIONES

Un total de veinte aa y dos ABs han sido identificados y cuantificados en el mosto de ocho variedades de uva, con concentraciones totales de aa entre 378.22 y 1528.71 mg/L y de ión amonio entre 122.64 a 268.41 mg/L, que se corresponde con una concentración de NFA correcta para el crecimiento de las levaduras que permitirían una buena fermentación. Por otro lado, el contenido de ABs varió entre 10.61 y 22.28 mg/L, valores dentro de los rangos habituales de consumo. Además, la histamina no fue detectada en ninguno de los casos, asegurando un buen nivel de seguridad de los mostos seleccionados para la elaboración de los correspondientes vinos.

La variedad de uva ha demostrado ser un factor influyente en la generación de aa en uva con *p*-valores menores a 0.001 en todos los casos siendo la variedad SB la de mayor producción promedia en los tres años de estudio, y con uno de los perfiles de ABs más bajo. Por otro lado, las condiciones climáticas han demostrado también ser un factor influyente para todos los aa y BAs. De forma general se ha observado que las bajas temperaturas acompañadas de alta radiación solar y baja humedad suponen unas condiciones desfavorables para la biosíntesis de aa. Si bien se ha concluido que los factores climáticos afectan significativamente a la acumulación de ABs no se ha podido encontrar una relación clara entre las variables estudiadas y dicha producción, quedando pendiente la extensión de factores a tener en cuenta y la inclusión de otras variables. Se concluye por tanto que ambos factores son determinantes en la generación de aa y ABs en uva y que el conocimiento de cómo estos factores afectan a los mismos facilita la posibilidad de seleccionar perfiles organolépticos específicos de los vinos posteriormente elaborados a la vez que una alta seguridad para el consumidor.

BIBLIOGRAFÍA

1. OIV Advanced Search on Database Available online: <https://www.oiv.int/en/statistiques/recherche> (accessed on 3 January 2022).
2. Vecchio, R.; Decordi, G.; Grésillon, L.; Gugenberger, C.; Mahéo, M.; Jourjon, F. European Consumers' Perception of Moderate Wine Consumption on Health. *Wine Economics and Policy*, 2017, 6, 14–22, doi:10.1016/j.wep.2017.04.001.
3. Fernández-Navales, J.; Garde-Cerdán, T.; Tardáguila, J.; Gutiérrez-Gamboa, G.; Pérez-Álvarez, E.P.; Diago, M.P. Assessment of Amino Acids and Total Soluble Solids in Intact Grape Berries Using Contactless Vis and NIR Spectroscopy during Ripening. *Talanta*, 2019, 199, 244–253, doi:10.1016/j.talanta.2019.02.037.
4. Shopska, V.; Denkova, R.; Lyubenova, V.; Kostov, G. Chapter 13 - Kinetic Characteristics of Alcohol Fermentation in Brewing: State of Art and Control of the Fermentation Process. In *Fermented Beverages*; Grumezescu, A.M., Holban, A.M., Eds.; Woodhead Publishing, 2019; pp. 529–575 ISBN 978-0-12-815271-3.
5. Bell, S.-J.; Henschke, P.A. Implications of Nitrogen Nutrition for Grapes, Fermentation and Wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 2005, 11, 242–295, doi:10.1111/j.1755-0238.2005.tb00028.x.
6. Garde-Cerdán, T.; Ancín-Azpilicueta, C. Effect of the Addition of Different Quantities of Amino Acids to Nitrogen-Deficient Must on the Formation of Esters, Alcohols, and Acids during Wine Alcoholic Fermentation. *LWT - Food Science and Technology*, 2008, 41, 501–510, doi:10.1016/j.lwt.2007.03.018.
7. Gutiérrez-Gamboa, G.; Carrasco-Quiroz, M.; Martínez-Gil, A.M.; Pérez-Álvarez, E.P.; Garde-Cerdán, T.; Moreno-Simunovic, Y. Grape and Wine Amino Acid Composition from Carignan Noir Grapevines Growing under Rainfed Conditions in the Maule Valley, Chile: Effects of Location and Rootstock. *Food Research International*, 2018, 105, 344–352, doi:10.1016/j.foodres.2017.11.021.

8. Yue, X.; Ju, Y.; Tang, Z.; Zhao, Y.; Jiao, X.; Zhang, Z. Effects of the Severity and Timing of Basal Leaf Removal on the Amino Acids Profiles of Sauvignon Blanc Grapes and Wines. *Journal of Integrative Agriculture*, 2019, 18, 2052-2062, doi:10.1016/S2095-3119(19)62666-3.
9. Tangolar, S.; Turan, M.; Tangolar, S.; Ateş, F. Evaluation of Amino Acid Contents and Enzyme Activities of Seeds from Semillon and Carignane Wine Grape Cultivars Grown under Different Irrigation Conditions. *Scientia Horticulturae*, 2019, 251, 181-188, doi:10.1016/j.scienta.2019.02.079.
10. Kelly, M.T.; Blaise, A.; Larroque, M. Rapid Automated High Performance Liquid Chromatography Method for Simultaneous Determination of Amino Acids and Biogenic Amines in Wine, Fruit and Honey. *J Chromatogr A*, 2010, 1217, 7385-7392, doi:10.1016/j.chroma.2010.09.047.
11. Tomera, J.F. Current Knowledge of the Health Benefits and Disadvantages of Wine Consumption. *Trends in Food Science & Technology*, 1999, 10, 129-138, doi:10.1016/S0924-2244(99)00035-7.
12. Ancín-Azpilicueta, C.; González-Marco, A.; Jiménez-Moreno, N. Current Knowledge about the Presence of Amines in Wine. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2008, 48, 257-275, doi:10.1080/10408390701289441.
13. Ordóñez, J.L.; Sainz, F.; Callejón, R.M.; Troncoso, A.M.; Torija, M.J.; García-Parrilla, M.C. Impact of Gluconic Fermentation of Strawberry Using Acetic Acid Bacteria on Amino Acids and Biogenic Amines Profile. *Food Chemistry*, 2015, 178, 221-228, doi:10.1016/j.foodchem.2015.01.085.
14. Gutiérrez-Gamboa, G.; Alañón-Sánchez, N.; Mateluna-Cuadra, R.; Verdugo-Vásquez, N. An Overview about the Impacts of Agricultural Practices on Grape Nitrogen Composition: Current Research Approaches. *Food Research International*, 2020, 136, 109477, doi:10.1016/j.foodres.2020.109477.
15. Oliva, J.; Garde-Cerdán, T.; Martínez-Gil, A.M.; Rosario Salinas, M.; Barba, A. Fungicide Effects on Ammonium and Amino Acids of Monastrell Grapes. *Food Chemistry*, 2011, 129, 1676-1680, doi:10.1016/j.foodchem.2011.06.030.

16. Parish, M.P. “*The Role of Ammonium, Calcium, and Ethylene in the Development of the Physiological Disorder Early Bunch-Stem Necrosis of Vitis Vinifera L. c.v. Cabernet Sauvignon.*” Thesis, Lincoln University, 1996.
17. Del Prete, V.; Costantini, A.; Cecchini, F.; Morassut, M.; Garcia-Moruno, E. “Occurrence of Biogenic Amines in Wine: The Role of Grapes”. *Food Chemistry*, 2009, 112, 474–481, doi:10.1016/j.foodchem.2008.05.102.
18. Restuccia, D.; Sicari, V.; Pellicanò, T.M.; Spizzirri, U.G.; Loizzo, M.R. “The Impact of Cultivar on Polyphenol and Biogenic Amine Profiles in Calabrian Red Grapes during Winemaking”. *Food Res Int*, 2017, 102, 303–312, doi:10.1016/j.foodres.2017.10.012.
19. Lehtonen, P. “Determination of Amines and Amino Acids in Wine - A Review”. *American Journal of Enology and Viticulture*, 1996, 47, 127–133.
20. Chikwanha, O.C.; Raffrenato, E.; Muchenje, V.; Musarurwa, H.T.; Mapiye, C. Varietal Differences in Nutrient, Amino Acid and Mineral “Composition and in Vitro Rumen Digestibility of Grape (*Vitis Vinifera*) Pomace from the Cape Winelands Vineyards in South Africa and Impact of Preservation Techniques”. *Industrial Crops and Products*, 2018, 118, 30–37, doi:10.1016/j.indcrop.2018.03.026.
21. Chen, L.; Capone, D.L.; Nicholson, E.L.; Jeffery, D.W. “Investigation of Intra-regional Variation, Grape Amino Acids, and Pre-Fermentation Freezing on Varietal Thiols and Their Precursors for *Vitis Vinifera* Sauvignon Blanc”. *Food Chem*, 2019, 295, 637–645, doi:10.1016/j.foodchem.2019.05.126.

FIGURAS Y TABLAS

Tabla 1. Variedades de uva, acrónimo, color, y valores fisicoquímicos medidos en el mosto. Brix: grados Brix, pH: valor de pH; AT: acidez total (g/L TH₂), NFA: nitrógeno fácilmente asimilable (mg/L).

Variedad	Acrónimo	Tipo	Brix			pH			AT			NFA		
			2019	2020	2021	2019	2020	2021	2019	2020	2021	2019	2020	2021
Cabernet Sauvignon	CS_1	Tinta	13.80	15.56	19.62	3.57	3.43	3.22	4.52	6.79	14.45	250.60	223.02	234.67
Cabernet Sauvignon	CS_2	Tinta	20.09	17.94	22.47	3.30	3.43	3.22	6.78	4.51	9.60	277.48	189.44	182.00
Syrah	Sy	Tinta	29.16	22.25	22.25	3.67	3.84	3.34	4.33	4.19	5.52	194.04	244.58	230.00
Tempranillo	Te	Tinta	18.58	17.07	24.41	3.35	3.52	3.55	5.45	5.80	4.88	244.58	190.68	190.00
Tintilla de Rota	TR	Tinta	27.43	22.25	21.82	3.44	3.41	3.29	4.93	7.41	8.55	257.74	212.52	216.00

Chardonnay	Ch	Blanca	22.25	21.39	23.98	3.53	3.55	3.51	5.78	6.02	5.17	140.70	253.12	233.00
Palomino Fino	PF	Blanca	23.98	20.09	21.39	3.63	3.83	3.77	3.51	3.56	3.54	223.44	206.64	219.87
Sauvignon Blanc	SB	Blanca	22.81	19.23	24.84	3.25	3.41	3.30	6.34	5.98	7.37	152.74	203.70	210.00
Vijiriega	Vi	Blanca	17.72	17.07	21.17	3.30	3.45	3.46	6.20	5.18	5.87	182.00	205.11	189.00

Figura 1. Condiciones climáticas de los años 2018-2021 obtenidas de la estación meteorológica Jerez de la Frontera. Temp. máx.: promedio de las temperaturas máximas alcanzadas en cada mes en grados Celsius; Temp. media: promedio de la temperatura promedio en cada mes en grados Celsius; Temp. mín.: promedio de las temperaturas mínimas alcanzadas en cada mes en grados Celsius; Precipitación: promedio de mililitros de agua que llovió en cada mes en grados Celsius.

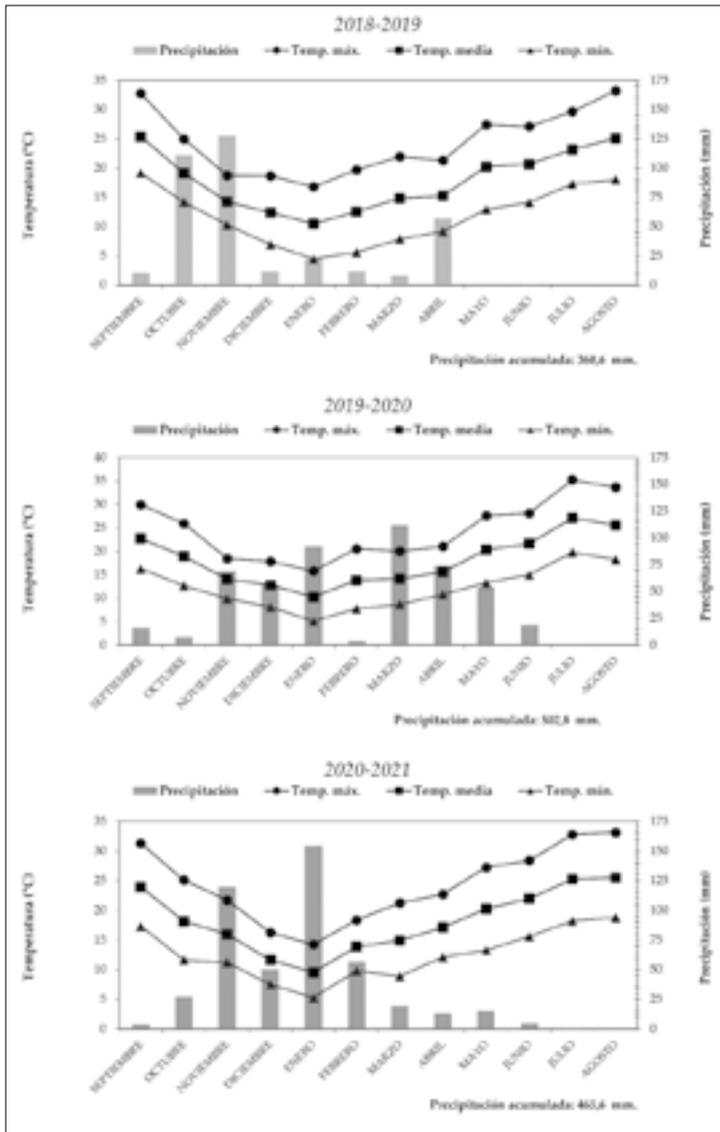


Figura 2. (A) Perfil de aminoácidos y (B) Perfil de aminas biogénicas para cada variedad de uva seleccionada durante los tres años de estudio. CS, Cabernet Sauvignon; Sy, Syrah; Te, Tempranillo; TR, Tintilla de Rota; Ch, Chardonnay; PF, Palomino Fino; SB, Sauvignon Blanc; Vi, Vijiriega.

