

A cura di:



Alberto De Iseppi¹



Matteo Marangon¹



Simone Vincenzi^{1,2}



Giovanna Lomolino¹



Andrea Curioni^{1,2}



Benoit Divol³

¹ Dipartimento di Agronomia, Animali, Alimenti, Risorse Naturali e Ambiente (DAFNAE), Università di Padova Legnaro (PD)

² Centro di Ricerca in Viticoltura ed Enologia (CIRVE), Conegliano (TV)

³ South African Grape and Wine Research Institute, Department of Viticulture and Enology, Stellenbosch University, Sudafrica

VALORIZZAZIONE DELLE FECCE DI VINIFICAZIONE

COME FONTE DI MANNOPROTEINE PER L'ENOLOGIA

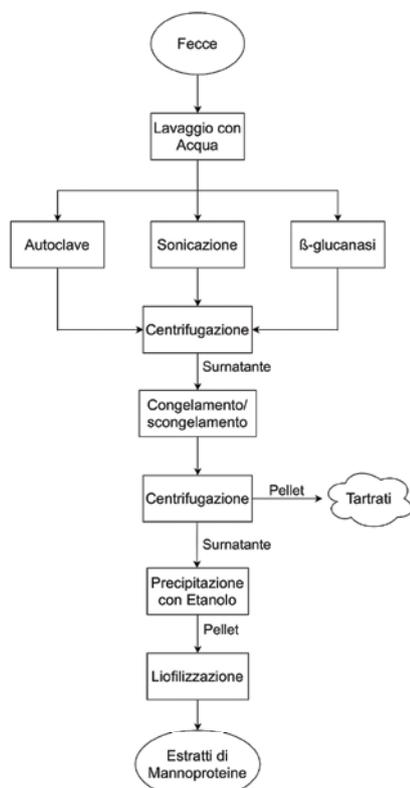


Il lavoro qui pubblicato è stato premiato da Assoenologi quale "migliore ricerca italiana" tra quelle presentate in occasione di Enoforum

Con una produzione che nel 2018 ha sfiorato i 300 milioni di ettolitri per un valore di 31 miliardi di dollari, il settore enologico conferma la sua fase di espansione a livello globale (OIV, 2019). Accanto a questi numeri di successo va però anche considerato l'impiego di grandi quantità di risorse (acqua, energia, prodotti chimici, microrganismi) in ogni anello della filiera ed, inevitabilmente, anche la produzione di sottoprodotti e scarti. Tra questi, le fecce di fermentazione, definite come il materiale viscoso che deposita sul fondo dei recipienti, rappresentano circa il 13% del totale con una produzione annua di 5 milioni di tonnellate (Galanakis, 2017). Rispetto ad altri sottoprodotti della filiera enologica (raspi, bucce e vinaccioli), le fecce sono considerate un materiale di minor valore e, per questo, sono state meno studiate e valorizzate (Bordiga, 2015). Infatti, ad oggi vengono recuperate solo alcune sostanze presenti nelle fecce (etanolo, acido tartarico) mentre la restante parte, essenzialmente costituita da cellule di lievito esauste, viene solitamente scaricata come rifiuto o utilizzata come fertilizzante. Tale pratica, sebbene

sia consolidata ed offra la possibilità di "smaltire" tutto il sottoprodotto, presenta alcune criticità legate all'elevato contenuto in sostanza organica ed alla conseguente elevata domanda di ossigeno (COD e BOD) che, come indicato da diversi studi, rende questo sottoprodotto un potenziale inquinante per il suolo (Galanakis, 2017; Lafka *et al.*, 2007). Per superare questi problemi, nel segno di una maggior sostenibilità ambientale e anche per dare valore alle fecce, negli ultimi anni sono stati portati avanti diversi studi volti a verificare la possibilità di estrarre da queste componenti di valore quali polifenoli, proteine e polisaccaridi (De Iseppi *et al.*, 2020). In particolare, i lavori più completi mirano a proporre un processo integrato che consenta il recupero di gran parte delle molecole d'interesse presenti nelle fecce raggiungendo così un completo riciclaggio del sottoprodotto secondo una logica "rifiuti zero". Nello specifico, queste ricerche propongono metodiche implementabili in bioraffinerie per l'estrazione integrata di etanolo, acido tartarico e polifenoli, unitamente all'idrolisi del residuo solido (rappresentato dalla biomassa di lievito)

Fig. 1 - Rappresentazione schematica dei diversi protocolli per l'estrazione di mannoproteine dalle fecce di vino



da utilizzare per la produzione di substrati per nutrire i microrganismi in produzioni biotecnologiche. Sebbene possa senz'altro condurre a una valorizzazione, l'applicazione su scala industriale di quest'ultima pratica presenta alcune criticità legate all'alta variabilità del sottoprodotto che potrebbe rappresentare un ostacolo all'ottenimento di mezzi di crescita standardizzati (De Iseppi *et al.*, 2020). Inoltre, l'idrolisi della biomassa di lievito porterebbe alla perdita di alcuni polisaccaridi di parete (mannoproteine e beta-glucani) che potrebbero potenzialmente avere un elevato valore commerciale, garantendo maggiori entrate rispetto agli idrolizzati. In questo contesto, il caso più interessante sembra essere quello delle mannoproteine. Queste molecole sono polisaccaridi presenti nelle pareti cellulari del lievito (costituiti al 90% da mannosio e al 10% da proteine (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006)), che vengono impiegati da tempo come additivi per il vino. Infatti, anche se il meccanismo di azione non è ancora stato completamente chiarito, è stato

dimostrato il loro effetto positivo nel limitare l'instabilità proteica e tartarica del vino (Gerbaud *et al.*, 2010; Guise *et al.*, 2014; Lomolino & Curioni, 2007; Moine-Ledoux & Dubourdiou, 2002) e, per questo, l'OIV, nel 2005, ne ha ammesso l'uso in enologia (OIV, 2005). A partire da quel momento, le preparazioni contenenti mannoproteine di lievito vengono diffusamente impiegate ed apprezzate anche per l'impatto positivo che hanno dimostrato avere sulle caratteristiche della schiuma (Blasco, 2011; Martínez-Lapuente, 2015; Vincenzi, 2014) e su alcuni attributi sensoriali (Gawel, 2016; Li, 2017; Li, 2018).

Tuttavia, queste mannoproteine utilizzate come additivi enologici sono attualmente ottenute a partire da biomasse di lievito "pure" appositamente prodotte in bioreattori industriali, mentre, al momento, le fecce di fermentazione non sono mai state considerate come una possibile fonte alternativa, sebbene questo potrebbe rappresentare un'interessante forma per la loro valorizzazione. In questo studio quindi si è pensato di verificare la possibilità di estrarre le mannoproteine da fecce di vino bianco, testando tre diversi trattamenti che fossero "food-grade" e potenzialmente implementabili su larga scala. Gli estratti ottenuti sono stati poi caratterizzati per i loro effetti enologici ed in particolare per l'impatto sulle proprietà schiumogene e sulla stabilità (tartarica e proteica) del vino.

Materiali e metodi

Estrazione

Le fecce sono state raccolte dopo la fermentazione di mosto da uve *Sauvignon blanc* prodotto nella cantina sperimentale dell'Università di Stellenbosch (Sudafrica), dove si è svolta gran parte della

ricerca. I tre diversi metodi di estrazione sono schematizzati nella **Fig. 1**. Per ogni estrazione, 5 g di fecce (tal quali) sono state risospese in 40 mL di tampone di McIlvaine preparato a vari pH (vedi sotto), contenente 20 mM di potassio metabisolfito. A partire da questa sospensione, sono stati applicati i tre diversi trattamenti: uno in autoclave (*Autoclave*, 121°C, 20 min, pH 3.4), uno con sonicazione (*Sonicazione*, Intensità 50%, 5 min, pH 5), e uno con una preparazione commerciale di β-glucanasi (*Glucanex*, 35 mg di Glucanex® (Novozymes), 37°C, 3 ore, pH 5). Al termine di ogni trattamento, le sospensioni sono state centrifugate (5000 rpm, 4°C, 20 min) per permettere la separazione dei residui insolubili delle cellule di lievito, mentre il surnatante (contenente le mannoproteine disciolte) veniva sottoposto ad un ciclo di congelamento-scongelamento per assicurare la completa precipitazione dei tartrati, poi a loro volta separati e recuperati grazie ad una seconda centrifugazione (**Fig. 1**). Le mannoproteine e altri composti ad alto peso molecolare presenti sono stati quindi precipitati aggiungendo al surnatante etanolo fino al 70% (v/v). Il precipitato è stato infine liofilizzato ottenendo una polvere biancastra.

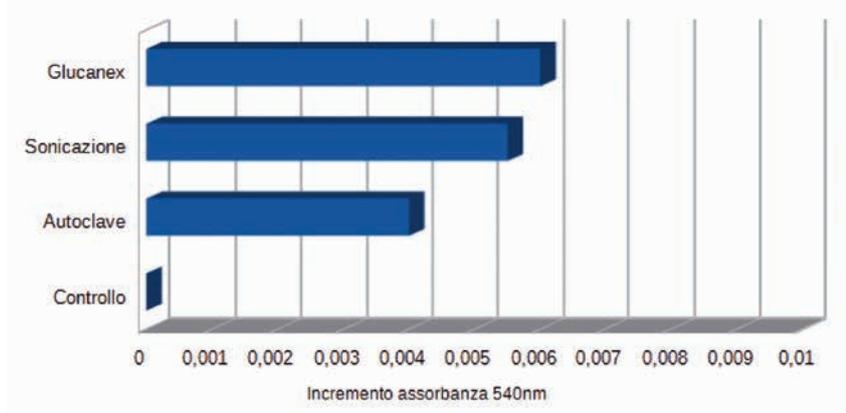
Caratterizzazione degli estratti

I vari estratti sono stati caratterizzati per il loro contenuto in proteine e polisaccaridi utilizzando cromatografia ad esclusione molecolare in alta risoluzione (HRSEC) (González-Royo *et al.*, 2017). La solubilità in vino dei liofilizzati è stata valutata misurando l'assorbanza a 540 nm di un campione contenente 0.5 g/L di estratto disciolti in vino *Sauvignon blanc*. Lo stesso dosaggio di estratto è stato utilizzato nelle pro-

Tab. 1 - Resa di estrazione, concentrazione di polisaccaridi e proteine (g/100g fecce essiccate). Peso molecolare (PM): Alto: 1100-180 kDa; Medio: 180-40 kDa; Basso: 40-7.5 kDa. In ogni colonna, valori seguiti dalla stessa lettera non sono statisticamente diversi per P ≤ 0.05 secondo analisi della varianza (ANOVA) e Tukey test.

Estratto	Resa	Polisaccaridi			Proteine
		Alto PM	Medio PM	Basso PM	
Autoclave	18,8^a	2,6^a	3,7^a	3,0^a	6,5^a
Sonicazione	20,3^a	1,2^b	1,3^b	2,1^a	2,9^b
Glucanex	22,7^a	1,2^b	1,7^b	2,4^a	2,9^b

Fig. 2 - Solubilità degli estratti in vino, valutata come incremento di assorbanza a 540 nm rispetto al controllo (non trattato) di campioni di *Sauvignon blanc* contenente gli estratti (0.5 g/L)



ve successive. L'impatto sulla stabilità tartarica è stato misurato utilizzando lo strumento Tartarcheck (Ing. C. Bullo, Modena). Ogni estratto è stato aggiunto ad un vino instabile (Pinot grigio) e la differenza di conduttività tra l'inizio e la fine dell'analisi ($\Delta\mu S$) è stata confrontata con quella rilevata nel controllo negativo (vino senza aggiunta di estratto) e in un campione contenente 0.5 g/L di uno stabilizzante tartarico commerciale a base di mannoproteine.

L'effetto degli estratti sulla stabilità proteica di un vino (*Sauvignon blanc*) giudicato instabile è stato misurato tramite heat-test (80°C, 2 ore). Una volta raffreddati i campioni sono stati sottoposti ad analisi della torbidità misurata come assorbanza netta (post - pre heat test) a 540nm. Lo stesso test è stato eseguito anche su un campione contenente esclusivamente 0.05 g/L di preparazione enzimatica (Glucanex®) per verificare un suo eventuale effetto dovuto all'attività proteolitica rilevata in un precedente studio (De Iseppi *et al.*, 2019). Infine, l'effetto degli estratti sulle proprietà schiumogene è stato valutato in vino modello utilizzando una versione modificata del metodo di Rudin (Vincenzi *et al.*, 2014). Gli indici HM (Max altezza della schiuma), HS (altezza della schiuma alla stabilità), e TS (tempo di scomparsa) dei campioni contenenti gli estratti sono stati confrontati con quelli del controllo negativo rappresentato dal vino modello.

Risultati e discussione

La resa di estrazione e la composizione degli estratti è riportata in **Tab. 1**.

Dall'analisi dei dati emerge che i campioni non differiscono significativamente per la resa di estrazione, mentre per quanto riguarda il contenuto in proteine e polisaccaridi l'estratto *Autoclave* risulta significativamente diverso dagli altri due. In particolare, il maggior contenuto in proteine e polisaccaridi ad alto peso molecolare sembra indicare che questo estratto sia il più ricco in mannoproteine. Tale ipotesi è stata confermata per elettroforesi, dove si poteva rilevare una maggior presenza di mannoproteine ad alto e medio PM nell'estratto *Autoclave* rispetto agli altri due (per i dettagli si veda De Iseppi *et al.*, 2021)). Questo risultato è in linea con precedenti studi nei quali si indicava il trattamento in autoclave come quello più indicato per l'estrazione di mannoproteine ad alto PM da biomasse di lievito (Cameron *et al.*, 1988; Silva Araújo *et al.*, 2014). D'altro canto, il minor contenuto di proteine e polisaccaridi riscontrato negli altri due campioni

potrebbe essere attribuito ad un'azione non sufficientemente energetica nei confronti della parete cellulare del lievito (*Sonicazione*) e/o ad una parziale idrolisi enzimatica delle mannoproteine estratte (*Glucanex*).

È interessante notare che il metodo *Autoclave* permette anche l'estrazione di una cospicua quantità di tartrati (24g/100g di fecce). Ciò potrebbe essere dovuto alle alte temperature applicate durante il trattamento in autoclave che hanno favorito una maggior solubilizzazione di questi sali rispetto agli altri due protocolli dove l'estrazione di questa frazione si è rivelata più modesta (attorno ai 10 g/100g di fecce). La separazione dei tartrati, peraltro indispensabile per ottenere estratti di mannoproteine solubili, potrebbe aggiungere alle mannoproteine un secondo prodotto d'interesse industriale come l'acido tartarico.

La solubilità degli estratti nel vino, requisito fondamentale ad un loro possibile impiego come coadiuvanti enologici, è stata valutata aggiungendoli a un campione di *Sauvignon blanc* e misurando l'incremento di assorbanza (450nm) rispetto al controllo non trattato. I trascurabili incrementi registrati (attorno a 0.005 AU) (**Fig. 2**) indicano un'elevata solubilità degli estratti, il che permette di immaginare una loro possibile applicazione in tutte le fasi della vinificazione, incluso l'imbottigliamento. Riguardo alla stabilizzazione proteica, i risultati dell'*heat test* (**Fig. 3**) indicano che, inaspettatamente visto il maggior contenuto in mannoproteine, l'estratto *Autoclave* è l'unico a non riportare un

Fig.3 - Effetto degli estratti sulla stabilità proteica, valutato tramite Heat test su vino (*Sauvignon blanc*) instabile dopo l'aggiunta degli estratti (0.5 g/L). La torbidità generata dal test è stata valutata misurando l'assorbanza a 540 nm. Controllo: vino senza l'aggiunta degli estratti

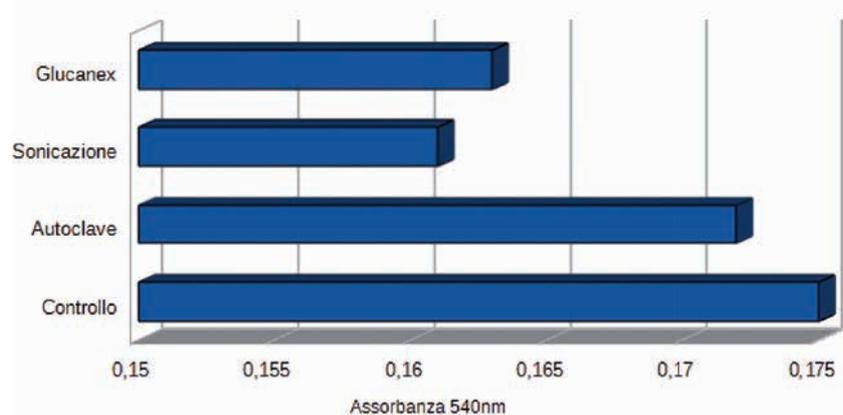
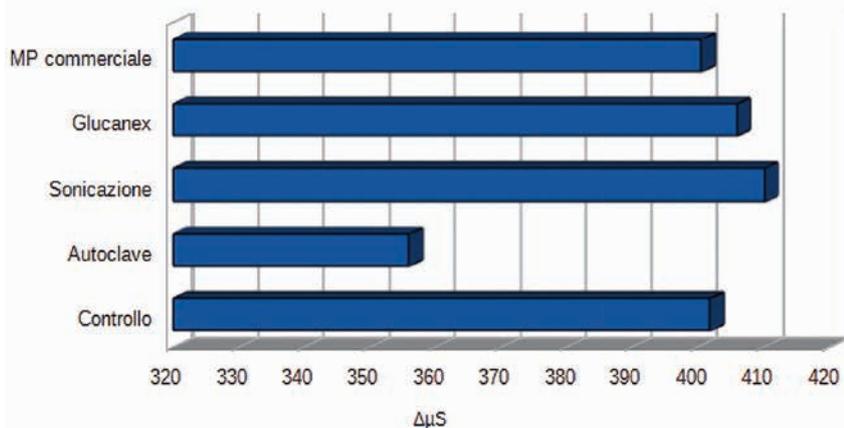


Fig.4 - Effetto degli estratti sulla stabilità tartarica, valutato con il TartarCheck eseguito su vino (Pinot grigio) contenente 0.5 g/L di estratto. Un preparato commerciale è stato aggiunto alla stessa concentrazione e testato con le stesse modalità. I dati sono espressi come differenza in conducibilità misurata tra l'inizio e la fine dell'analisi. Controllo: Vino senza aggiunta



calo significativo della torbidità a caldo rispetto al controllo. Questo comportamento potrebbe essere attribuito all'elevato contenuto di proteine, tra le quali potrebbero essere presenti anche frazioni instabili alle altre temperature in grado di mascherare l'effetto stabilizzante delle mannoproteine. D'altro canto, gli altri due estratti, sebbene con un minor contenuto di mannoproteine, sembrano essere in grado di esplicare un lieve effetto protettivo nei confronti dell'instabilità proteica.

L'aggiunta del solo preparato enzimatico Glucanex, che ha in sé anche una attività proteolitica, non ha determinato alcun calo della torbidità rispetto al controllo, il che indica che l'effetto stabilizzante dell'estratto ottenuto con questo enzima (*Glucanex*) è attribuibile alle sole mannoproteine presenti. Questi risultati sembrano in parte confermare la possibilità di ottenere molecole attive nei confronti della instabilità proteica utilizzando il preparato enzimatico Glucanex, come riportato in uno studio precedente (Moine-Ledoux & Dubourdieu, 1999).

Comunque, i risultati ottenuti, anche se andrebbero estesi introducendo più vini, dimostrano che gli estratti di fecce hanno una modesta capacità di protezione dai fenomeni di instabilità proteica, come d'altra parte si nota, in generale, anche per le preparazioni commerciali di mannoproteine, portando alla conclusione che l'idea di utilizzare questi estratti per la stabilizzazione proteica dei vini appare difficilmente

percorribile. Per quanto riguarda la stabilità tartarica, solo l'estratto *Autoclave* ha portato a un risultato positivo sul vino testato (Pinot grigio), riducendone l'instabilità tartarica in modo significativo (**Fig. 4**). Quest'azione sembra direttamente attribuibile al maggior contenuto di mannoproteine di quest'estratto rispetto agli altri due. È interessante notare che, pur non essendo sufficiente a stabilizzare completamente il vino, l'aggiunta dell'estratto *Autoclave* porta comunque a una stabilizzazione maggiore di quella ottenuta utilizzando un preparato commerciale di mannoproteine che, in questo test, ha dimostrato di essere totalmente inefficace nei confronti dell'instabilità tartarica. La possibile mancata attività stabilizzante da parte delle mannoproteine commerciali non deve sorprendere in quanto, come già riportato in precedenti studi, è possibile che l'efficacia di questi prodotti vari in maniera consistente a seconda del tipo di vino al quale vengono aggiunti (Greeff *et al.*, 2012; Guise *et al.*, 2014).

Anche se tutti e tre gli estratti mostrano una chiara attività schiumogena, l'estratto *Autoclave* si dimostra il migliore, sia in termini di volume che di stabilità della schiuma prodotta (**Tab. 2**). Ancora una volta, il maggior contenuto di mannoproteine e anche di proteine totali di quest'estratto sembra essere la ragione della produzione di schiume più voluminose, e stabili. Particolarmente notevole sembra poi essere l'effetto sul parametro che indica il

tempo di permanenza della schiuma residua (TS), che potrebbe essere collegato con la permanenza del collare di schiuma nel bicchiere, una caratteristica molto importante per la qualità dei vini spumanti.

L'azione delle mannoproteine sulla schiuma è ben nota e i dati qui riportati confermano il loro effetto positivo. Tale azione sembra essere il frutto di una sinergia con le proteine del vino, come dimostrato in uno studio precedente nel quale si ipotizzava che questi due componenti possano formare complessi in grado di posizionarsi all'interfaccia gas-liquido, determinando così un incremento dell'effetto schiumogeno (Vincenzi *et al.*, 2014).

Conclusioni

Al fine di proporre un approccio innovativo per il recupero e la valorizzazione delle fecce di vino, in questo studio sono stati sviluppati e confrontati tre metodi per l'estrazione di mannoproteine dalle cellule di lievito contenute in questo sottoprodotto, recuperato da una vinificazione reale in cantina. Tutti gli estratti, ottenuti con metodiche "food-grade" e potenzialmente riproducibili su larga scala, hanno mostrato di essere ben solubili nel vino, un requisito necessario per la possibilità di un loro utilizzo durante le diverse fasi della vinificazione. L'impatto dell'aggiunta degli estratti su alcune proprietà enologiche è stato tuttavia molto diverso a causa della loro diversa composizione, che, a sua volta sembra dipendere dal metodo di trattamento delle fecce. Relativamente alla stabilità proteica, nessuno dei tre estratti sembra fornire il grado di efficacia necessario per future implementazioni industriali anche se i due estratti ottenuti per sonicazione e trattamento enzimatico hanno mostrato un lieve effetto protettivo, non riscontrato però per l'estratto preparato col trattamento delle fecce in autoclave. Al contrario, relativamente alla stabilità tartarica ed alle proprietà schiumogene, l'estratto ottenuto autoclavando le fecce ha permesso di raggiungere risultati incoraggianti, attribuibili alla maggior quantità, e forse anche al tipo, di mannoproteine e proteine totali, consentendo risultati in li-

Tab. 2- Effetto degli estratti sulla schiuma. HM (altezza massima raggiunta dalla schiuma), HS (altezza della schiuma all'equilibrio) e TS (tempo di scomparsa della schiuma dopo l'interruzione del flusso di gas) di vino modello contenente gli estratti di mannoproteine (0.5 g/L). In ogni colonna, valori seguiti dalla stessa lettera non sono statisticamente diversi per $P \leq 0.05$ secondo analisi della varianza (ANOVA) e Tukey test.

Estratto	HM (cm)	HS (cm)	TS (cm)
Autoclave	8,8 ^a	3,2 ^a	58 ^a
Sonicazione	5,7 ^b	1,4 ^b ^c	5 ^c
Glucanex	5,7 ^{bc}	1,7 ^{bc}	5 ^c
Controllo	3,3 ^c	0,9 ^d	2 ^c

nea, se non migliori, rispetto a quanto si può ottenere con prodotti commerciali a base di mannoproteine. In aggiunta, l'estrazione con autoclave permette di ottenere anche una cospicua quantità di tartrati come prodotto intermedio della procedura di preparazione.

In termini quantitativi, si può calcolare che l'applicazione della metodica di estrazione basata sul trattamento in autoclave su scala di cantina permetterebbe di recuperare una quantità pari a circa il 40% delle fecce trattate in forma di acido tartarico e mannoproteine, due prodotti di alto un valore commerciale. Se integrato poi con l'estrazione di etanolo, tale approccio permetterebbe il recupero di tutte delle principali componenti di valore presenti nelle fecce. Sebbene siano necessari ulteriori studi, l'applicazione del metodo qui descritto lascia intravedere una possibile utilizzazione fecce di vinificazione come nuova fonte di prodotti per applicazioni enologiche o, più in generale, alimentari. Nello stesso tempo l'impiego delle fecce in questo tipo di processo porterebbe alla riduzione degli scarti di vinificazione, contribuendo, nell'ottica dell' "economia circolare", alla sostenibilità ambientale e economica del settore vitivinicolo. Realisticamente, tuttavia, tale strada non sembra essere percorribile dalle singole cantine, soprattutto se di dimensioni ridotte. E allora, per avere risultati concreti in questa nuova visione del comparto enologico sembra necessario trovare il modo di organizzare centri di raccolta e di trattamento dei sottoprodotti della cantina (bioraffinerie) che possano avere dimensioni tali da rendere economicamente conveniente il loro sfruttamento.

Bibliografia

- Bordiga, M. (2015). Valorization of Wine Making By-Products. CRC Press.
- Cameron, D. R., Cooper, D. G., & Neufeld, R. J. (1988). The mannoprotein of *Saccharomyces cerevisiae* is an effective bioemulsifier. *Applied and Environmental Microbiology*, 54(6), 1420-1425.
- De Iseppi, A., Curioni, A., Marangon, M., Vincenzi, S., Kantureeva, G., & Lomolino, G. (2019). Characterization and emulsifying properties of extracts obtained by physical and enzymatic methods from an oenological yeast strain. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.
- De Iseppi, A., Lomolino, G., Marangon, M., & Curioni, A. (2020). Current and future strategies for wine yeast lees valorization. *Food Research International*, 137, 109352.
- De Iseppi, A., Marangon, M., Vincenzi, S., Lomolino, G., Curioni, A., & Divol, B. (2021). A novel approach for the valorization of wine lees as a source of compounds able to modify wine properties. *LWT*, 136, 110274.
- Galanakis, C. M. (2017). *Handbook of Grape Processing By-Products: Sustainable Solutions*. Academic Press.
- Gerbaud, V., Gabas, N., Blouin, J., & Crachereau, J.C. (2010). Study of wine tartaric acid salt stabilization by addition of carboxymethylcellulose (CMC): comparison with the « protective colloids » effect. *OENO One*, 44(4), 231.
- González-Royo, E., Esteruelas, M., Kontoudakis, N., Fort, F., Canals, J. M., & Zamora, F. (2017). The effect of supplementation with three commercial inactive dry yeasts on the colour, phenolic compounds, polysaccharides and astringency of a model wine solution and red wine. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.
- Greeff, A. E., Robillard, B., & du Toit, W. J. (2012). Short- and long-term efficiency of carboxymethylcellulose (CMC) to

prevent crystal formation in South African wine. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 29(9), 1374-1385.

• Guise, R., Filipe-Ribeiro, L., Nascimento, D., Bessa, O., Nunes, F. M., & Cosme, F. (2014). Comparison between different types of carboxymethylcellulose and other oenological additives used for white wine tartaric stabilization. *Food Chemistry*, 156, 250-257.

• Lafka, T. I., Sinanoglou, V., & Lazos, E. S. (2007). On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes. *Food Chemistry*, 104(3), 1206-1214.

• Lomolino, G., & Curioni, A. (2007). Protein haze formation in white wines: Effect of *Saccharomyces cerevisiae* cell wall components prepared with different procedures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(21), 8737-8744.

• Moine-ledoux, V., & Dubourdieu, D. (1999). An invertase fragment responsible for improving the protein stability of dry white wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(4), 537-543.

• Moine-Ledoux, V., & Dubourdieu, D. (2002). Role of yeast mannoproteins with regard to tartaric stabilization of wines. *Bulletin de l' OIV: Revue Internationale de Viticulture, Oenologie, Economie, Droit Viti-Vinicole*, 75(857), 471-483.

• OIV, International Organisation of Vine and Wine. (2005). Resolution OENO 15/2005.

• OIV, International Organisation of Vine and Wine. (2019). 2019 Statistical Report on World Vitiviniculture. 2019 Statistical Report on World Vitiviniculture, 23.

• Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., & Dubourdieu, D. (2006). *Handbook of Enology, The Chemistry of Wine: Stabilization and Treatments: Second Edition*. In *Handbook of Enology, The Chemistry of Wine: Stabilization and Treatments: Second Edition* (Vol. 2, Issue c).

• Silva Araújo, V. B. Da, Melo, A. N. F. De, Costa, A. G., Castro-Gomez, R. H., Madruga, M. S., Souza, E. L. De, & Magnani, M. (2014). Followed extraction of β -glucan and mannoprotein from spent brewer's yeast (*Saccharomyces uvarum*) and application of the obtained mannoprotein as a stabilizer in mayonnaise. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 23, 164-170.

• Vincenzi, S., Crapisi, A., & Curioni, A. (2014). Foamability of Prosecco wine: Cooperative effects of high molecular weight glyco-compounds and wine PR-proteins. *Food Hydrocolloids*, 34, 202-207. ■