

Facteurs technologiques et œnologiques de maîtrise des sulfites en fermentation alcoolique

PIC Lucile⁽¹⁾, PLADEAU Valérie⁽²⁾, GRANES Daniel⁽¹⁾

(1) Groupe ICV - Direction générale-La jasse de Maurin-34 970 LATTES lpic@icv.fr

(2) AIVB-LR-Les Arcades Jacques Coeur - Bât C-Route de Boirargues-34970 Lattes
pladeau.aivb@wanadoo.fr

Introduction

Le bisulfite de potassium est l'un des auxiliaires de vinification les plus universellement utilisés de part la multiplicité de ses rôles : antioxydant, anti-oxydasique, antiseptique (RIBEREAU-GAYON et al, 1998).

Son usage en vinification conduit cependant à la présence de sulfites résiduels dans les vins que ce soit sous forme combinée ou libre. Il est admis que le vin représente 70 à 80% des apports en sulfites pour un consommateur moyen (Cahiers techniques ITV France).

Or, les sulfites sont l'un des neuf allergènes les plus courants qui peuvent entraîner des réactions graves. Les effets toxicologiques des sulfites ont fait l'objet de nombreuses études.

La toxicité aigüe est rarissime. Elle peut se manifester par des crises allergiques ou des migraines. Il a été recensé 6 cas sur 270 millions d'américains en 1995 par la FDA (Food and Drug Administration). Au vu de cette toxicité, même rare, le législateur oblige à mentionner sur l'étiquette la présence des sulfites dans les vins pour un taux supérieur à 10mg/L (Rég. CE 1991/2004). (Cahiers itinéraires d'ITV France, 2002).

De ce fait, les professionnels du vin ont accru leurs efforts afin d'optimiser l'emploi qu'ils font du bisulfite de potassium et de réduire au maximum les teneurs des vins en SO_2 . Cependant le bisulfite de potassium ajouté par le vinificateur n'est pas la seule source de SO_2 dans les vins. En effet La levure est capable d'incorporer et métaboliser des composés soufrés déjà présents dans le moût (sulfates, acides aminés, glutathion, thiamine, biotine) mais aussi de produire différentes classes de composés soufrés susceptibles d'être excrétés dans le milieu et notamment des sulfites (FLANZY C., 1998).

La variabilité des niveaux de sulfites produits par les levures en œnologie durant la fermentation alcoolique (10 à 30 mg/l voire 100 mg/l) a été montrée par des travaux déjà anciens (Dott et al, 1976; Eschenbrush, 1974). Chez les levures très fortes productrices de sulfites il a été démontré une très faible activité de l'enzyme NADPH sulfite réductase ainsi qu'une faible affinité de celle-ci pour son substrat (sulfite) (Heinzel et al, 1979). Des travaux plus récents (Werner et al, 2009) ont confirmé que pour un panel de 22 levures œnologiques commerciales, malgré l'attention portée par les sélectionneurs, le niveau de SO_2 produit en fermentation alcoolique pouvait varier de 10 à 57 mg/l.

L'impact aggravant de certains facteurs de l'environnement sur cette production est connu (Gyllang et al, 1989; Hartnell et Spedding, 1979) : fortes concentrations en sucres, fortes concentrations en sulfate (SO_4^{2-}). Il n'est donc pas surprenant, que comme montré par Werner et al (0), il soit préférable d'éviter l'emploi de sulfate diammonique qui accroît la teneur initiale du moût en sulfate. La production de SO_2 par les levures est en effet liée à la nécessité de synthétiser les acides aminés soufrés (méthionine et cystéine). Les fermentations alcooliques en présence de ces acides aminés conduisent logiquement à des taux plus faibles en SO_2 formé. La nécessité pour la levure de synthétiser les acides aminés soufrés l'obligerait à réduire les sulfates en H_2S en passant par les sulfites. De ce fait, la formation de SO_2 durant la fermentation dépend aussi de la composition initiale du moût et des modifications qui lui sont apportées (Werner et al, 2009).

Nous avons souhaité compléter ces travaux par l'étude de facteurs dont le vinificateur a la maîtrise. Nous avons choisi de préciser l'effet de la température, en choisissant des régimes de températures cohérents avec des vinifications en blancs et rosés. Nous avons aussi intégré dans cette étude l'impact de la turbidité. Enfin, l'effet de la nature des nutriments azotés employés (non sulfates) a été étudié à travers la comparaison du phosphate diammonique et de l'azote organique (Azote sous forme d'acides aminés) issu de levures inactivées (Raynal et al, 2010).

Matériel et méthode

Plan expérimental

Nous avons opté pour un plan factoriel qui permette d'étudier les éventuelles interactions entre les 5 facteurs étudiés (Figure 1): sulfitage dans les phases préfermentaires [pas de SO₂ ou (3 g/qt sur raisin + 2g/hl sur jus)], niveau de turbidité des jus après débouillage (50 NTU ou 250 NTU), choix de la levure (3 modalités), température de FA (12 ou 18°C), gestion de la nutrition azotée (3 modalités). Chacune des 72 modalités obtenues a ainsi été mise en œuvre sur deux matières premières.

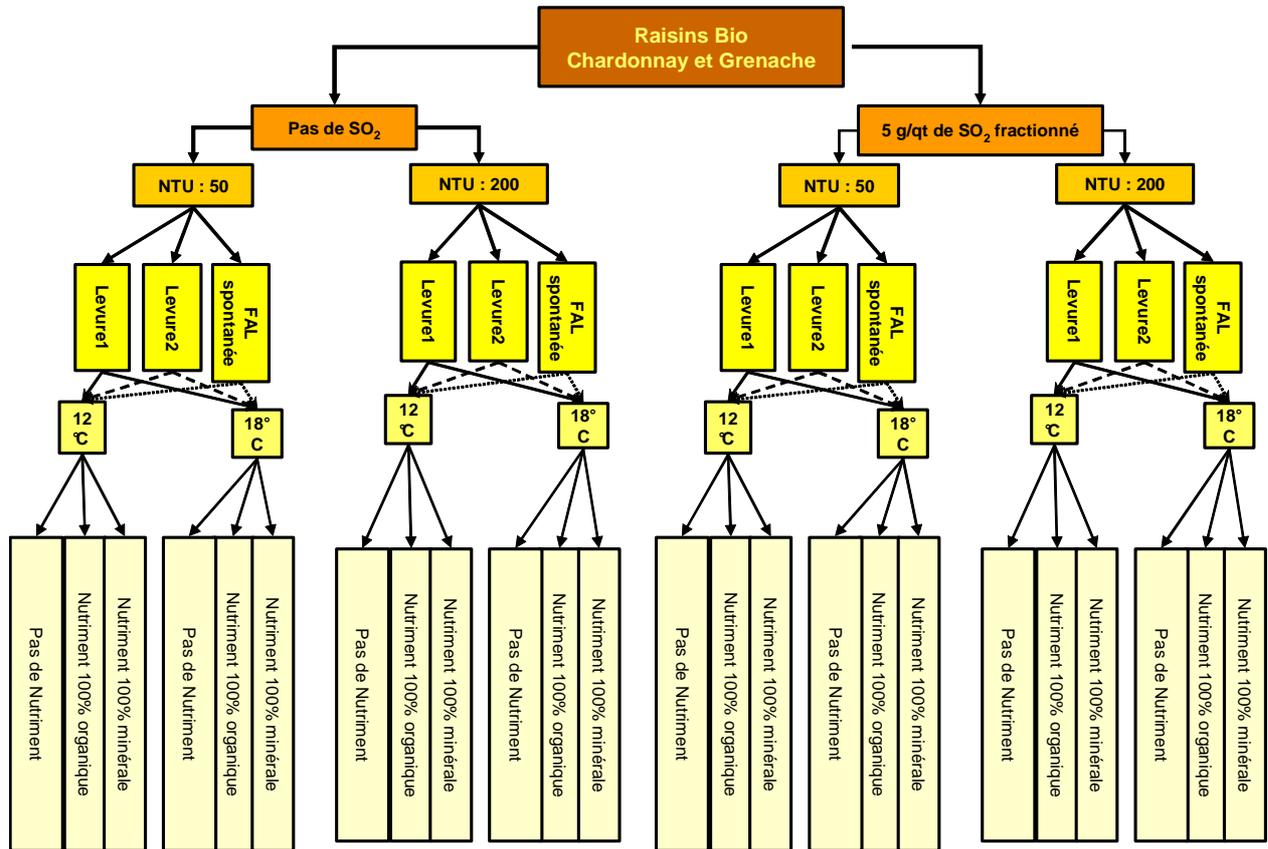


Figure 1 : plan expérimental

Matériels

Matières premières

Les essais ont été réalisés sur deux matières premières, millésime 2009, issues de parcelles conduites en agriculture biologique : un raisin blanc (Chardonnay) vinifié en blanc et un raisin rouge (Grenache) vinifié en rosé.

	Sucre (g/l)	Degré potentiel (%)	Azote assimilable (mg/l)	Besoins théoriques moyens en azote pour une fermentation complète (mg/l)	Turbidité en NTU		SO ₂ (mg/l) Libre/total	
					Basse	haute	+ 0g/hl	+ 5g/hl
Chardonnay	226	13.26	198	182	50	200	<8/<15	23/50
Grenache	232	13.67	122	192	50	230	<8/<15	20/40

Tableau 1 : Profils analytiques des jus avant levurage

Alors que le jus de chardonnay ne présente pas de carence en azote assimilable, nous évaluons la carence du jus de Grenache à 70 mg/l.

Levures

Les deux levures utilisées sont des levures sèches actives (LSA) *Saccharomyces cerevisiae*. Elles ont été sélectionnées pour leurs comportements différents vis-à-vis de l'azote et des sulfites. Le levurage s'est fait à 20g/hl.

Nous avons volontairement opté pour une levure connue pour son fort bilan en sulfites afin de s'assurer d'avoir des teneurs en SO₂ suffisantes pour être mesurables et pouvoir visualiser l'impact des autres facteurs étudiés.

Tableau 2 caractéristiques principales des levures utilisées

	Besoins en azote	SO ₂
Levure 1	faibles	Faible production et forte consommatrice
Levure 2	moyens	Forte production
Non levuré	inconnus	inconnu

Le principe de la fermentation spontanée est qu'aucune levure n'est rajoutée au moût.

Nutriments azotés

La préparation organique utilisée dans cet essai est le FermaidO[®] qui est exclusivement constitué de levures inactivées. La quantité totale apportée est de 40 g / hl ce qui correspond en fait à un apport de 12 à 15 mg/L d'azote assimilable.

La préparation minérale utilisée est le PDA (phosphate diammonique). La quantité totale de PDA ajoutée est de 20g/hl ce qui correspond à un apport de 40 mg/L d'azote assimilable. Des essais précédents (Bonfond et al, 2008) ayant montré un impact sur la cinétique de cette préparation organique environ trois fois plus efficace qu'un apport minéral, nous sommes convenus de partir sur ce ratio, considérant donc que les 12 à 15 mg d'azote assimilable ainsi ajoutés ont l'efficacité de 35 à 45 mg d'azote assimilable d'origine minérale.

Les apports en nutriments sont faits en deux fois, un tiers de la dose 24 heures après le levurage et deux tiers entre 1070 et 1050 de densité

Suivi analytique

Les cinétiques fermentaires ont fait l'objet d'un suivi quotidien par mesure de la densité.

Les teneurs en SO₂ libre et SO₂ total ont été dosées quotidiennement. La méthode de dosage est une méthode colorimétrique (560 nm) après réaction avec la para-rosaniline (fushine basique) après acidification du vin en comparaison à une gamme étalon. La gamme de mesure du SO₂ libre se situe entre 0 et 80 mg/l et l'incertitude de mesure est de +/- 3mg/l. La gamme de mesure du SO₂ total se situe entre 0 et 200 mg/l et l'incertitude de mesure est de +/-5mg/l.

Résultats

Cinétiques fermentaires

Trois des 5 facteurs étudiés ont un effet net sur le déroulement des fermentations alcooliques (Figure 2). Il s'agit

- (1) de la température : à 12°C la phase de latence est plus longue et la phase active de la FA est plus lente ce qui conduit à des durées plus importantes (+ 6 jours toutes conditions égales par ailleurs),
- (2) de la gestion du levurage : aucune différence nette entre les deux modalités levurées avec des LSA, mais une FA spontanée plus lente à s'enclencher (+ 3 jours) et plus longue à s'achever (+ 5 jours) toutes conditions égales par ailleurs,

- (3) des nutriments apportés : alors que nous ne constatons aucune différence de cinétique entre les deux lots ayant bénéficié d'apports d'azote que ce soit sous forme minérale ou organique, la modalité non complétement conduit à une FA significativement plus longue (+ 3 jours sur ce Grenache carencé en azote).

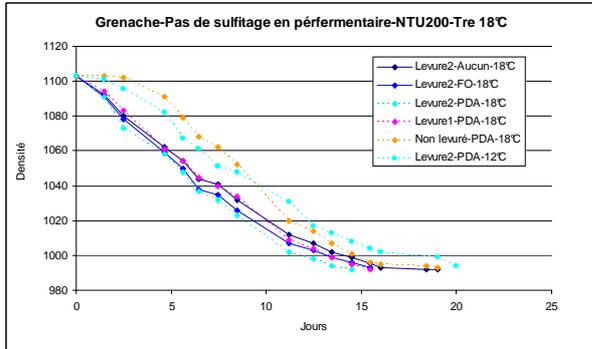


Figure 2 : Effet Nutriments, effet "levurage" et effet température sur le déroulement de la FA

Les deux autres facteurs étudiés (sulfitage préfermentaire et niveau de turbidité) n'induisent pas de différences nettes sur le déroulement de la FA (Figure 3).

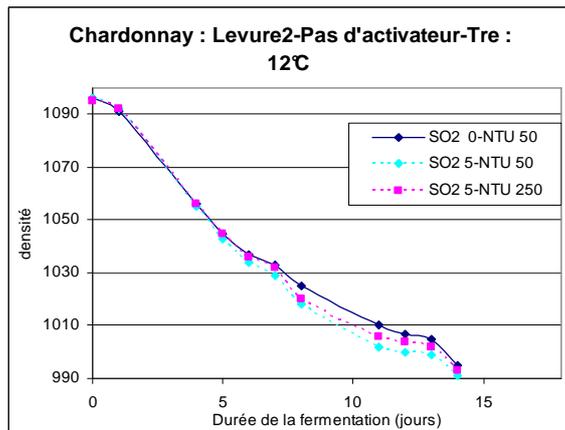


Figure 3 : Effet Sulfitage en préfermentaire et turbidité sur le déroulement de la FA

Evolution des teneurs en SO₂ libre dans les jus au cours de la FA

Quelles que soient les modalités mises en œuvre la teneur en SO₂ libre descend en dessous de 5 mg/l. Cette chute est mesurable dans les premières 24 heures de la fermentation alcoolique pour les lots bénéficiant d'un départ rapide en FA (lots ayant été levurés) mais est plus lente pour les lots non levurés pour lesquels la phase de latence est plus longue (Figure 4).

Pour les lots sans sulfitage préfermentaire, les teneurs en SO₂ libres sont négligeables dès le début de la FA (résultats non présentées)

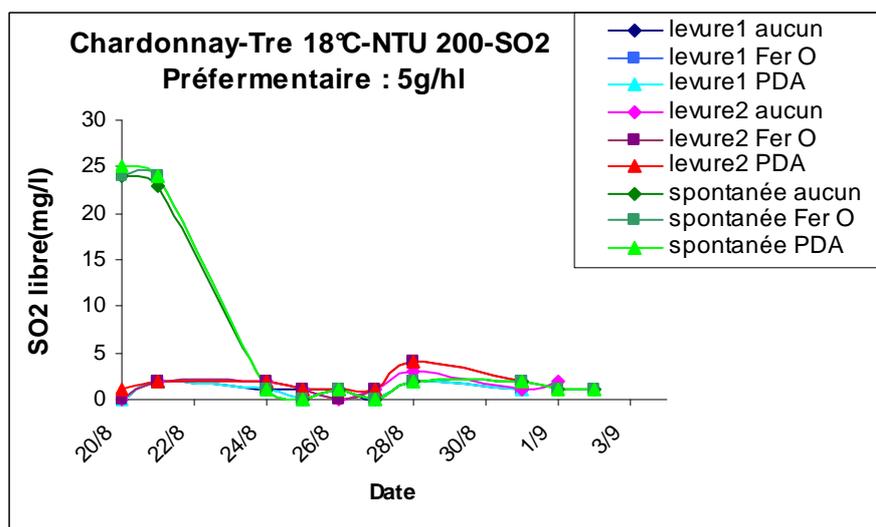


Figure 4 : Evolution des teneurs en SO₂ libre des jus pendant la fermentation alcoolique

Cette évolution du SO₂ libre en parallèle de l'activité fermentaire est à rapprocher d'une part de la production d'acétaldéhyde par les levures dans les premières heures de fermentation et d'autre part par la capacité des levures à utiliser dans leur métabolisme les sulfites présents dans les moûts.

Evolution des teneurs en SO₂ total au cours de la FA

Le suivi quotidien des teneurs en SO₂ total en cours de FA (Figure 5) nous montre que lorsque les FA s'achèvent avec des teneurs en SO₂ total significativement supérieures aux valeurs initiales, on peut observer une cinétique d'évolution composée de 3 phases distinctes : 1) une phase de diminution du SO₂ total qui aboutit à des teneurs qui varient selon les modalités, 2) une phase d'augmentation du SO₂ total dont la durée est variable selon les modalités et qui aboutit à des teneurs dont la valeur est directement liée aux facteurs étudiés et 3) une phase de plateau pendant laquelle le SO₂ total se maintient à des niveaux comparables à ceux qui seront mesurés en fin de FA.

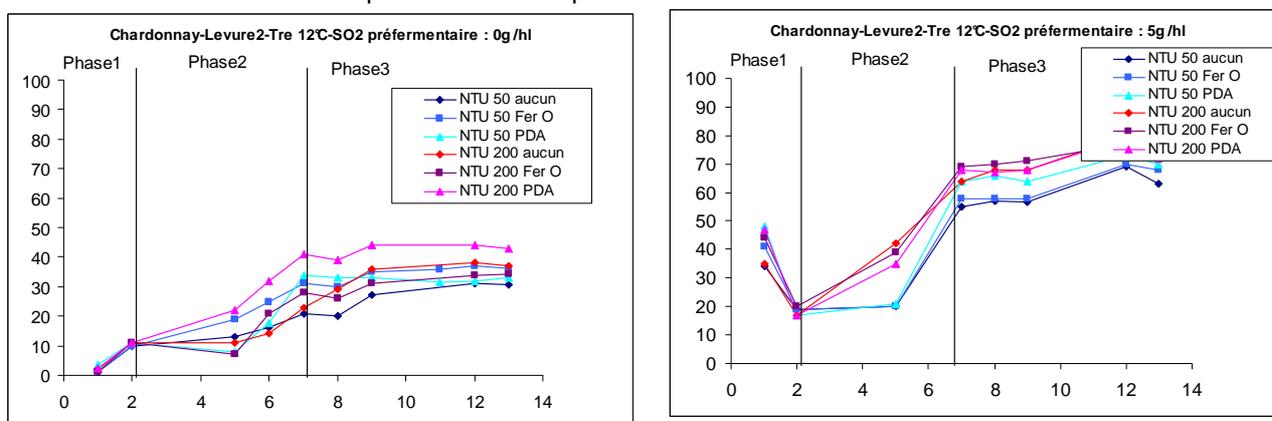


Figure 5 : Evolution des teneurs en SO₂ total des jus pendant la fermentation alcoolique

Pour les jus n'ayant pas fait l'objet de sulfitage préfermentaire, la phase 1 n'est évidemment pas visible. Il est notable que les modalités pour lesquelles un ajout de PDA est fait 24 heures après levurage, un "pic" de SO₂ total est mesuré lors de l'analyse qui est faite le jour même : ce pic pourrait être lié à une interférence du PDA avec la méthode analytique.

Nous avons noté que pour toutes les cuves, le plateau est atteint au plus tard pour une densité de 1030. Ce constat nous amène à émettre l'hypothèse d'un lien étroit entre la production de SO₂ par les levures et leur phase de croissance. En effet une densité comprise entre 1050 et 1030 correspond généralement à la fin de phase de croissance des levures. D'un point de vue pratique cela permet d'envisager d'une part qu'un dosage de SO₂ total entre 1030 et 1020 de densité soit un bon indicateur de la teneur totale de la cuve en fin de FA et d'autre part que toute intervention œnologique qui réduira la durée de cette phase de croissance pourrait conduire à une réduction de la production de SO₂.

Composantes de la teneur en SO₂ total final

La Figure 6 montre clairement que le niveau minimum de SO₂ total atteint en fin de phase 1 varie selon les conditions œnologiques : malgré des valeurs de SO₂ total au levurage identiques, la valeur la plus basse atteinte varie de 5 à 30 mg/l. Les valeurs particulièrement basses atteintes pour la modalité non levurée pourraient s'expliquer par une phase de latence très longue et un départ en FA très tardif qui ont permis l'activité de levures fortes productrices d'acétaldéhydes.

La valeur atteinte en fin de FA résulte de la somme de la quantité de SO₂ résiduelle à l'issue de la phase 1 et de la quantité de SO₂ produit pendant la phase 2.

Ainsi la Levure 2 se distingue de la Levure 1 par une plus forte production de SO₂ (35 mg/l produit avec la levure 2 contre 15 mg/l avec la levure 1). Les levures agents de la FA sur la modalité non levurée ont une capacité de production proche de la levure 2 (30mg/l), mais du fait de la forte consommation lors de la phase 1, la valeur finale est plus proche des celle obtenue avec la levure 1.

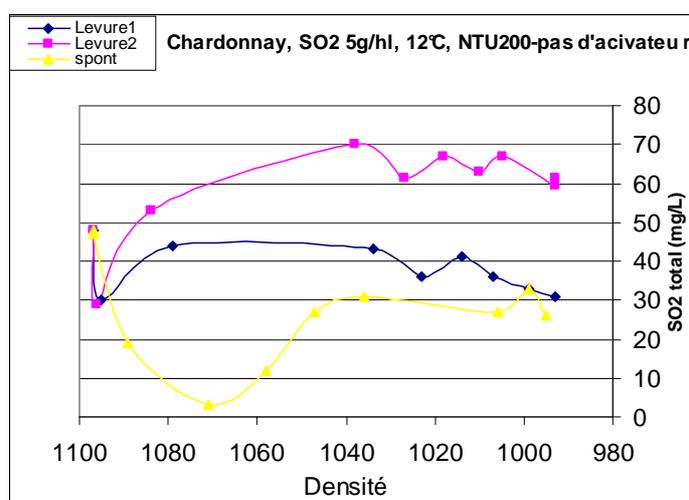


Figure 6 : Effet de la levure sur le minimum de SO₂ Total atteint avant la phase de production

Le niveau atteint en fin de FA dépend donc d'une part des facteurs qui vont déterminer la teneur en SO₂ en fin de phase 1 et d'autre part des facteurs qui déterminent la production de SO₂ par la levure pendant la phase 2. De ce fait, même pour une levure faiblement productrice, la présence de SO₂ en quantité non négligeable au moment du levurage, induit forcément des teneurs non négligeables en fin de FA (Figure 7).

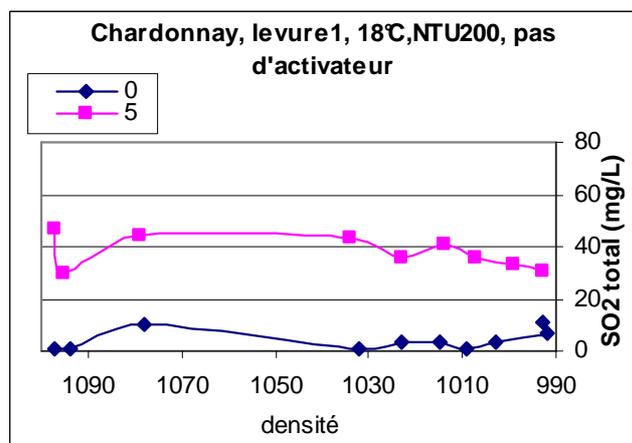


Figure 7 : Effet de la teneur en SO₂ des moûts au levurage sur le minimum de SO₂ Total atteint avant la phase de production et sur la teneur en SO₂ en fin de FA

Effets des facteurs étudiés sur la teneur en SO₂ des vins en fin de FA

Nous avons réalisé une analyse de variance sur l'ensemble des données acquises afin de déterminer parmi les 6 facteurs étudiés (Matière première, Levure, Turbidité, Température de FA, Sulfitage préfermentaire, Nutrition azotée) ceux d'entre eux qui avaient un effet significatif au seuil de 5% sur la teneur en SO₂ total mesurée en fin de FA (avant tout nouveau sulfitage).

	ddl	F	Proba
Matière première	1	16,26	0,00
Turbidité	1	3,34	0,07
Levure	2	376,24	0,00
Tre consigne	1	7,37	0,01
Nutrition azote	2	0,49	0,61
SO ₂	1	1227,54	0,00

Tableau 3 ANOVA des concentrations en SO₂ total en fin de FAL

Ddl : degré de liberté

F : valeur de Fisher

Proba : probabilité que les moyennes soient égales

Quatre facteurs ont donc un effet significatif au seuil de 5% sur la teneur en SO₂ total, toutes conditions égales par ailleurs. Il s'agit de : la matière première, la "levure", la température de consigne, le SO₂ ajouté lors des opérations préfermentaires.

Plus la valeur de Fischer est grande, plus l'influence du facteur est significative.

Nous pouvons donc effectuer un classement d'importance des facteurs statistiquement significatifs :

Sulfitage > levures >> matières premières > température

La Figure 8 représente pour chaque facteur étudié, la moyenne des niveaux de SO₂ totaux obtenus en fonction de la valeur prise par ce facteur.

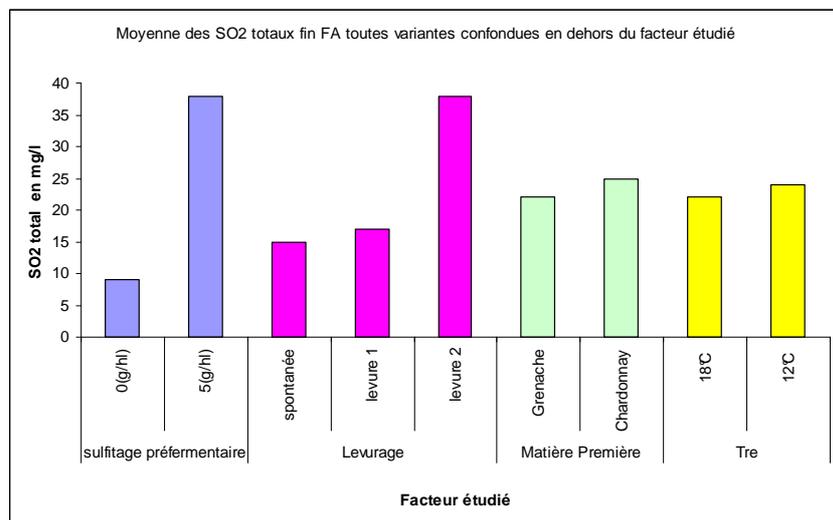


Figure 8 : Effet des différents facteurs étudiés sur la moyenne des SO₂ totaux obtenus fin FA.

N.B. : la variante spontanée est considérée comme identique dans tous les cas de figure. Rien n'indique cependant qu'il s'agit de la même levure ou de la même combinaison de levures qui agisse. Il serait en outre erroné d'étendre ces résultats à toutes les fermentations spontanées au vu de tous les travaux sur le sujet qui montrent, au contraire, la grande variabilité des souches impliquées dans les fermentations spontanées.

Pour le facteur sulfitage préfermentaire, l'écart entre la moyenne de tous les lots "5g/hl de SO₂ préfermentaires" et de tous les lots "0g/hl" est de 29 mg/l.

Cet écart reste important entre les trois moyennes des lots correspondants à chacune des modalités de levurage (+21 à +23 mg/l).

Ces deux facteurs jouent donc un rôle prépondérant dans la maîtrise de la teneur en SO₂ total du vin. L'analyse que nous avons réalisée de la cinétique d'évolution du SO₂ dans les vins dans le chapitre précédent permet de comprendre les mécanismes impliqués.

Pour les facteurs "Matières premières" et "Température", bien que jugés significativement différents au sens statistique, nous relevons des écarts très faibles (2 et 3 mg/L).

Ces moyennes masquent cependant des disparités importantes : par exemple concernant l'effet température, les écarts mesurés sur Chardonnay - Turbidité 200 NTU - 5g/hl de SO₂ préfermentaire (Figure 9) sont nettement supérieurs à la moyenne (jusqu'à 17mg/l).

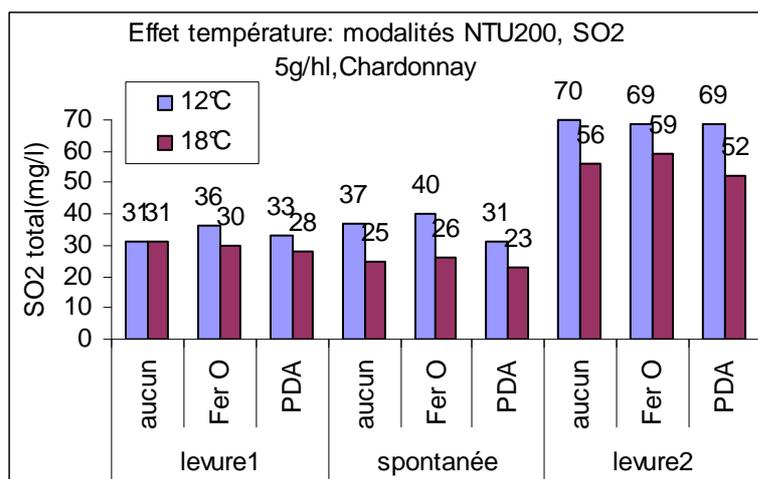


Figure 9 : Effet de la température sur la teneur en SO₂ total en fin de FA : Chardonnay-Turbidité 200 NTU-5g/hl de SO₂ préfermentaire

Le rôle du facteur température ne trouve à ce jour aucune explication dans la littérature. Les observations que nous avons faites sur le lien entre l'état d'avancement de la fermentation

alcoolique et les différentes phases de production du SO₂, nous amènent à avancer l'hypothèse suivante : à basse température, la phase de croissance des levures est forcément plus longue car le temps de génération est rallongé; de ce fait la "phase 2" de production de SO₂ par les levures est elle-même allongée ce qui accroît la quantité totale de SO₂ produit. Cette hypothèse demande cependant à être validée, notamment par un suivi de la biomasse produite.

Le rôle du facteur matière première peut s'expliquer par la composition de chaque moût en acides aminés (Werner et al 2009), notamment en acides aminés soufrés. Malheureusement, il s'agit là d'un paramètre que le vinificateur ne peut modifier mais qui, à terme grâce à une analyse plus fine de ceux – ci, pourrait être pris en compte pour apprécier le risque initial et modifier la stratégie de vinification (sulfitage, choix de la levure, turbidité, température...).

Bien que secondaires, voire non significatifs, les effets des facteurs turbidité et température, lorsqu'ils se cumulent, conduisent à des teneurs en SO₂ total nettement différentes. Ainsi sur Chardonnay, avec la levure 2, il est possible d'observer des écarts de 20 mg/l entre les teneurs extrêmes en SO₂ total pour les lots sulfités à 5g/hl en préfermentaire et de 26 mg/l entre les teneurs extrêmes en SO₂ total pour les lots non sulfités en préfermentaire. Les combinaisons de facteur qui induisent alors ces écarts sont :

- 1) valeurs les plus faibles avec NTU ~50 ET Température 18°C
- 2) valeurs les plus fortes avec NTU ~200 ET température 12°C.

Tableau 4 : impact des combinaisons de facteurs sur la teneur en SO₂ total des jus Chardonnay levurés avec Levure 2.

Sulfitage initial	SO2 total fin FA en mg/l	NTU	Azote	Tre
5 g/hl	Minimum : 50	80	aucun	18°C
	Maximum : 70	250	aucun	12°C
0 g/hl	Minimum : 12	50	PDA	18°C
	Maximum : 38	150	PDA	12°C

Conclusions : Enseignements pratiques pour les vinificateurs dans la maîtrise du SO₂ à l'issue de la FA

Ces travaux ont mis en évidence l'impact de plusieurs facteurs œnologiques et technologiques sur la teneur en SO₂ total des vins à l'issue de la FA : sulfitage en opération préfermentaire, choix des levures et gestion du levurage, température de FA, matière première.

Parmi ces facteurs, trois d'entre eux sont maîtrisables par le vinificateur : il a donc la possibilité d'influer par ces choix sur les teneurs en SO₂ des vins en fin de FA.

Ainsi, il peut **opter pour un sulfitage en opérations préfermentaires nul ou faible**. Cette pratique conduit cependant à accroître d'une part les risques d'oxydation des jus et d'autre part les risques de développement d'une flore indigène d'altération.

En effet en l'absence de sulfitage sans maîtrise parfaite des risques d'oxydation, certains risques sont à craindre :

- La disparition définitive de composés aromatiques variétaux,
- L'apparition de composés solubles et stables à goût amers,
- Le brunissement des jus,
- La coloration et la précipitation des petits polyphénols responsables du rosissement des vins blancs,
- La non maîtrise de la flore indigène

Afin de réduire les risques d'oxydation des jus, il est conseillé :

- de réserver ces pratiques à des raisins sains et bien mûrs qui peuvent permettre d'obtenir des vins positionnables sur les marchés,
- d'éviter ou de limiter les contacts avec l'air lors des opérations de transfert en s'assurant que le circuit est le plus court et le plus "hermétique" possible et de pratiquer l'inertage en continu (canalisations, échangeurs, cuves, pressoirs...),
- de limiter la longueur des circuits de transfert en choisissant par exemple les cuves les plus proches des pressoirs et des échangeurs pour les débourbages,
- de pomper plutôt un gros volume en une fois que plusieurs fois des petits volumes : les dissolutions d'O₂ sont maximales en début et en fin d'opérations du fait des turbulences qui augmentent les surfaces de contact moût – air
- de maîtriser les températures des jus car à basse température l'oxygène est plus soluble; c'est pourquoi l'ensemble de ces points est particulièrement important sur tous les mouvements en aval du refroidissement du moût

Afin d'améliorer la maîtrise des risques de développement flore indigène d'altération, il faut être attentif à plusieurs points :

- HYGIENE PARFAITE : Brossage – lavage – désinfection – rinçage des matériels de récolte et de réception, des contenants et des matériels de transfert des raisins et des jus.
- SEPARATION DES VENDANGES ALTEREES : Du fait de la libération de jus, parfois même avant récolte, de nombreux microorganismes y trouvent des conditions favorables à leur développement

- LEVURAGE QUALITATIF : température de l'eau de réhydratation contrôlée au thermomètre, brassage de l'eau suivant les indications portées sur le paquet, respect de la durée de réhydratation
- LEVURAGE LE PLUS PRECOCE POSSIBLE : en fond de cuve en rouge et après "réacclimatation" sur les blancs, les rosés et les phases liquides de thermo vinifiées à basse température (le différentiel ne doit pas être supérieur à 10°C)
- CHOISIR UNE LEVURE KILLER (K2) ou NEUTRE (résistante au facteur killer mais ne produisant pas la toxine)
- ADAPTER LA DOSE DE LEVURE au niveau de concentration en sucre, au process et au niveau de concurrence estimé

Le vinificateur peut aussi **opter pour une levure dont la faible aptitude à produire du SO₂** a été validée. Il devra aussi s'assurer que cette levure répond bien à ses objectifs en termes d'aptitudes fermentaires et d'objectifs organoleptiques. Par ailleurs, le non levurage n'est pas conseillé car le comportement de la flore spontanée vis-à-vis de la production du SO₂ n'est ni maîtrisé ni garanti.

Enfin, en **priviliégiant des températures de fermentations qui ne soient pas excessivement basses**, le vinificateur pourra orienter les levures vers une plus faible production de SO₂ Il doit là encore s'assurer que le vin obtenu répondra à ses objectifs organoleptiques, la température de fermentation ayant un effet sur les profils organoleptiques des vins.

Ces travaux ont aussi permis d'améliorer la connaissance des phénomènes d'évolution de la teneur en SO₂ total pendant la fermentation alcoolique. Une partie des hypothèses émises demande à être validée ce qui permettrait d'acquérir de nouveaux outils de maîtrise du SO₂ à l'issue de la FA. L'effet de certains des facteurs étudiés demande à être validé, notamment celui des nutriments azotés, mais en travaillant sur des matrices fortement carencées ainsi que l'effet de la turbidité qui pourrait être plus ou moins net selon les matrices.

Remerciements

Les auteurs remercient Lucie Dronneau pour la qualité de son travail ainsi que FranceAgrimer et la région Languedoc Roussillon pour leur aide financière.

Bibliographie

Bonnefond C, Blateyron L, Guerrand D, 2008. Organic Nitrogen : a new solution for performing fermentations? 16Th IFOAM Organic World Congress Modena Italy. June 16-20 Juin 2008

Cahiers itinéraires d'ITV France, n°3 mai 2002, La maîtrise du sulfitage des moûts et des vins

Dott W, Heinzl M, Trüper HG, 1976. Sulfite formation by wine yeasts : I relationships between growth, fermentation and sulphite formation. Arch Microbiol, 107 : 283-235.

Eschenbrush R, 1974. Sulphite and sulfide formation during wine making. Am J enol Vitic, 25 : 157-161.

Heinzl MA, Dott W, Trüper HG., 1979. Ursachen einer biologischen SO₂-bildung bei des weingärung . Wein Wissenschaft, 34 : 132-211.

Gyllang H, Winge M, Korch C, 1989. Regulation of SO₂ formation during fermentation. In Proceedings of the 22nd European Brewery convention, Zürich, 347-354.

Hartnell PC, Spedding DJ, 1979. Uptake and metabolism of 35S-sulfate by wine yeasts . Vitis, 18 : 307-315.

WERNER et al, (2009) Natural production of sulphite (SO₂) by yeast during alcoholic fermentation, code of good organic viticulture and wine-making pp203-205 (levures et productions naturelles de sulfites)

Fiche toxicologique FT41 dioxyde de soufre INRS, édition 2006

FLANZY C., 1998. Œnologie, Fondements scientifiques et technologiques. Collection Sciences et techniques agroalimentaires. Edition Lavoisier.

GROUPE INSTITUT COOPERATIF DU VIN, Memento réglementaire, Sulfitage, 2009

RIBEREAU-GAYON P., DEBOURDIEU D., DORECHE B., LONVAUD A., 1998. Traité d'œnologie, 1-Microbiologie du Vin (Vinification).Edition Dunod.

Rayna C., Bonfond C., Raginel F., Suarez C., Heras J.M., Granés D., Ortiz-Julien A., 2010. Rendimiento de la fermentación con un nutriente 100% orgánico. SeVi n°3.323.p1910 à 1918.

ZIRONI et al,(2009) SO₂ management, Code of good organic viticulture and wine-making pp170-174. Editor Hofman U