

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE**
**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**
Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou



*Faculté des sciences Biologiques et des sciences Agronomiques
Département des sciences Agronomiques.*

Mémoire de fin de cycle

En vue de l'obtention du diplôme de Master.

Domaine : Science de la nature et de la vie.

*Spécialité : Management de la qualité totale et sécurité des
aliments.*

THEME

***Suivi de la production d'esters et d'alcools
supérieurs dans la bière issue de deux malts
différents (BrasserieTANGO).***

Réalisé par : M^{elle} BOUDARENE Fetta.

Devant le jury :

Promoteur: M^r AMROUCHE T. Maitre de conférences à l'UMMTO.

Président: M^r AMIR Y. Professeur à l'UMMTO.

Examinatrice : M^{elle} LAMMI S. Maitre assistante A à l'UMMTO.

Examineur: M^r TITOUCHE Y. Maitre assistant A à l'UMMTO.

Promotion 2015/2016

REMERCEMENTS :

S'il m'a été permis de mener à bien ce travail c'est grâce à tous ceux qui de près ou de loin m'ont soutenue de façon continue.

Tout d'abord, je tiens à remercier vivement mes chers parents, mes frères et ma sœur pour leur contribution, leur soutien et leur patience.

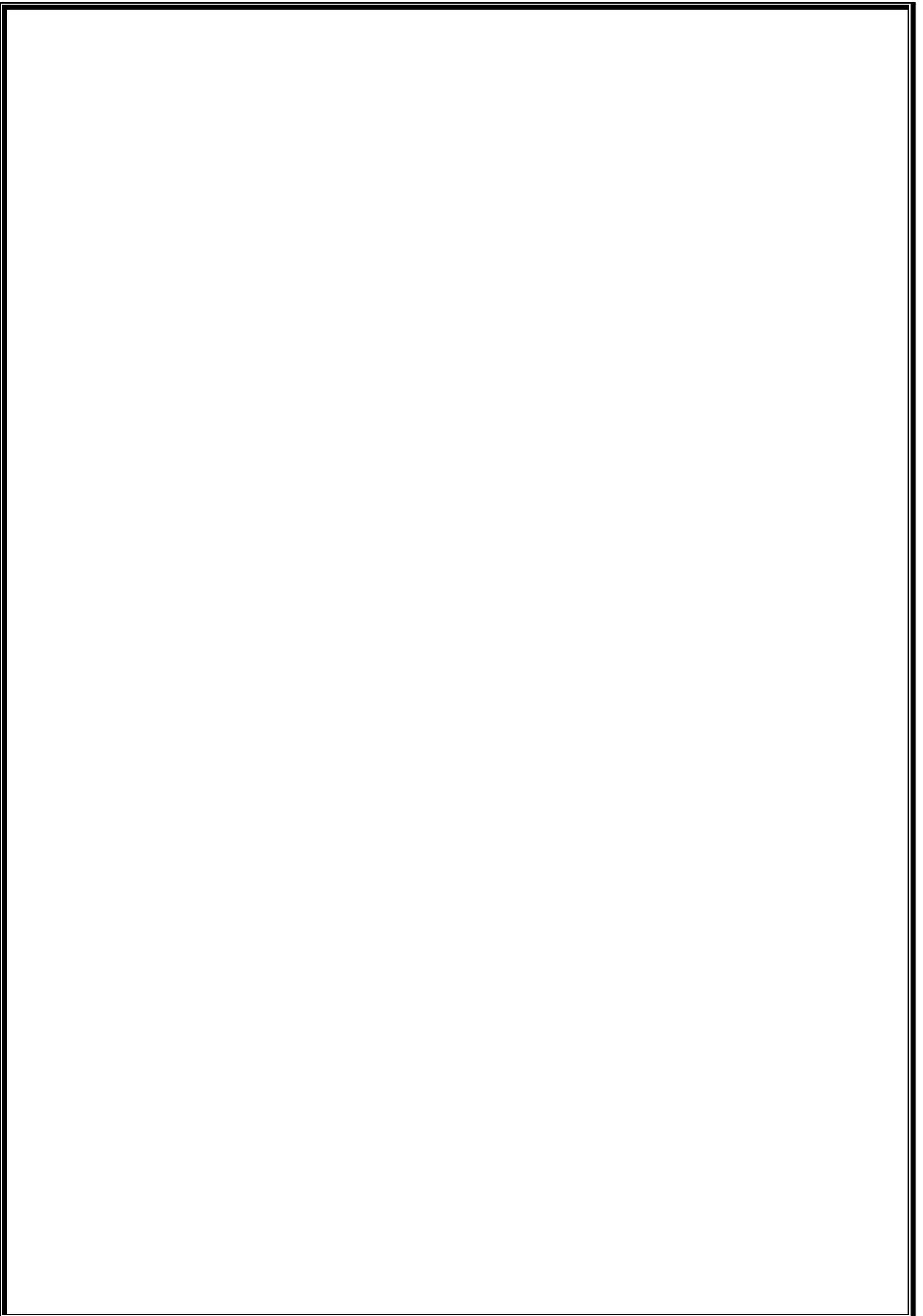
Je voudrai adresser toute ma gratitude à Monsieur BELHARRAT et au personnel de la SARL TANGO pour la précieuse collaboration, l'hospitalité et la confiance dont ils ont fait preuve tout au long de mon stage effectué au sein de la brasserie.

Qu'il me soit permis d'adresser mes plus vifs remerciements et le témoignage de ma parfaite reconnaissance à Monsieur AMROUCHE pour m'avoir proposé ce thème, pour l'aide, les orientations et les conseils judicieux prodigués tout au long de ce travail.

Je désire aussi remercier les membres du jury ayant accepté d'examiner ce travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Enfin, j'adresse mes plus sincères remerciements à tous mes proches et amis, qui m'ont toujours soutenue et encouragée au cours de la réalisation de ce travail.

Merci.



SOMMAIRE

Partie bibliographique

| | |
|----------------------------|----|
| Introduction générale..... | 01 |
|----------------------------|----|

Chapitre I. La bière : boisson alcoolisée et nutritive

| | |
|--|----|
| 1. Définition de la bière | 03 |
| 2. Historique | 03 |
| 3. Composition de la bière..... | 04 |
| 4. Propriétés de la bière..... | 07 |
| 4.1 Propriétés organoleptiques..... | 07 |
| 4.2 Autres propriétés de la bière..... | 11 |

Chapitre II. Technologie de fabrication de la bière

| | |
|--|----|
| 1. Matières premières..... | 12 |
| 1.1 Eau | 12 |
| 1.2 Orge | 12 |
| 1.3 Houblon..... | 14 |
| 1.4 Levure..... | 15 |
| 1.5 Produits d'ajout..... | 18 |
| 2. Technologie de fabrication de la bière..... | 19 |
| 2.1 Maltage..... | 21 |
| 2.2 Brassage..... | 21 |
| 2.3 Fermentation | 24 |
| 2.4 Filtration..... | 26 |
| 2.5 Conditionnement..... | 26 |

Chapitre III .Fermentation et production d'arômes

| | |
|---|----|
| 1. Processus de fermentation..... | 28 |
| 1.1 Métabolisme de la levure..... | 28 |
| 1.2 Facteurs influençant la fermentation alcoolique..... | 30 |
| 1.3 Les principaux produits de la fermentation alcoolique..... | 31 |
| 2. Production d'arômes | 33 |
| 2.1 Les composés volatils responsables de la saveur de la bière..... | 33 |
| 2.1.1 Les alcools supérieurs..... | 33 |
| 2.1.1.1 Les différentes voies de biosynthèse des alcools supérieurs..... | 33 |
| 2.1.1.2 Les facteurs influençant la formation des alcools supérieurs..... | 34 |
| 2.1.2 Les esters..... | 34 |
| 2.1.2.1 Les différentes voies de biosynthèse des esters..... | 35 |
| 2.1.2.2 Les facteurs influençant la formation des esters..... | 35 |

Partie expérimentale

| | |
|--|----|
| 1. Présentation de l'entreprise TANGO..... | 37 |
|--|----|

Chapitre I. Matériel et méthodes

| | |
|------------------------------------|----|
| 1. Méthodologie expérimentale..... | 38 |
|------------------------------------|----|

Chapitre II. Résultats et discussions

| | |
|---|----|
| 1. Détermination du profil de fermentation..... | 46 |
| - Variation de la couleur et de la densité apparente | 46 |
| - Variation du nombre cellulaire et du degré d'alcool..... | 49 |
| - Variation du pH et de la production d'acétaldéhyde | 52 |
| 2. Evolution des concentrations en alcools supérieurs | 55 |
| 3. Evolution des concentrations en esters..... | 58 |

| | |
|--------------------------|----|
| Conclusion générale..... | 62 |
|--------------------------|----|

Références bibliographiques.

Annexes.

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Composition chimique de la bière.

Tableau 2 : Composition minérale de la bière.

Tableau 3 : Liste de saveurs de bière associées à divers composés et leur seuil organoleptique.

Tableau 4 : Composition moyenne d'un grain d'orge.

Tableau 5 : Resultats du suivi de la fermentation primaire et secondaire de la bière issue de malt A (annexe).

Tableau 6 : Resultats du suivi de la fermentation primaire et secondaire de la bière issue de malt C (annexe).

Liste des figures :

Figure 1 : Cytologie d'une cellule de levure

Figure 2 : Procédé de fabrication de la bière

Figure 3 : Les transformations chimiques du grain d'orge (Après le maltage)

Figure 4 : Le cycle de Krebs

Figure 5 : Schéma d'un chromatographe en phase gazeuse.

Figure 6 : Variations de la densité apparente et de la couleur au cours de la première et la deuxième fermentation (malt A et malt C) lors de la fabrication de la bière.

Figure 7 : Variation du nombre cellulaire et du degré d'alcool des moûts séjournant dans les horaps et dans les veraps mis en œuvre à la brasserie TANGO (Malt A et malt C) au cours de la fabrication de la bière.

Figure 8 : Evolution de la concentration d'acétaldéhyde et variation du pH dans les moûts en fonction de la fermentation primaire et la fermentation secondaire (Malt A et malt C) lors de la fabrication de la bière.

Figure 9 : Evolution des concentrations en alcools supérieurs pendant la première et la deuxième fermentation des moûts issus de malt A et de malt C pendant la fabrication de la bière.

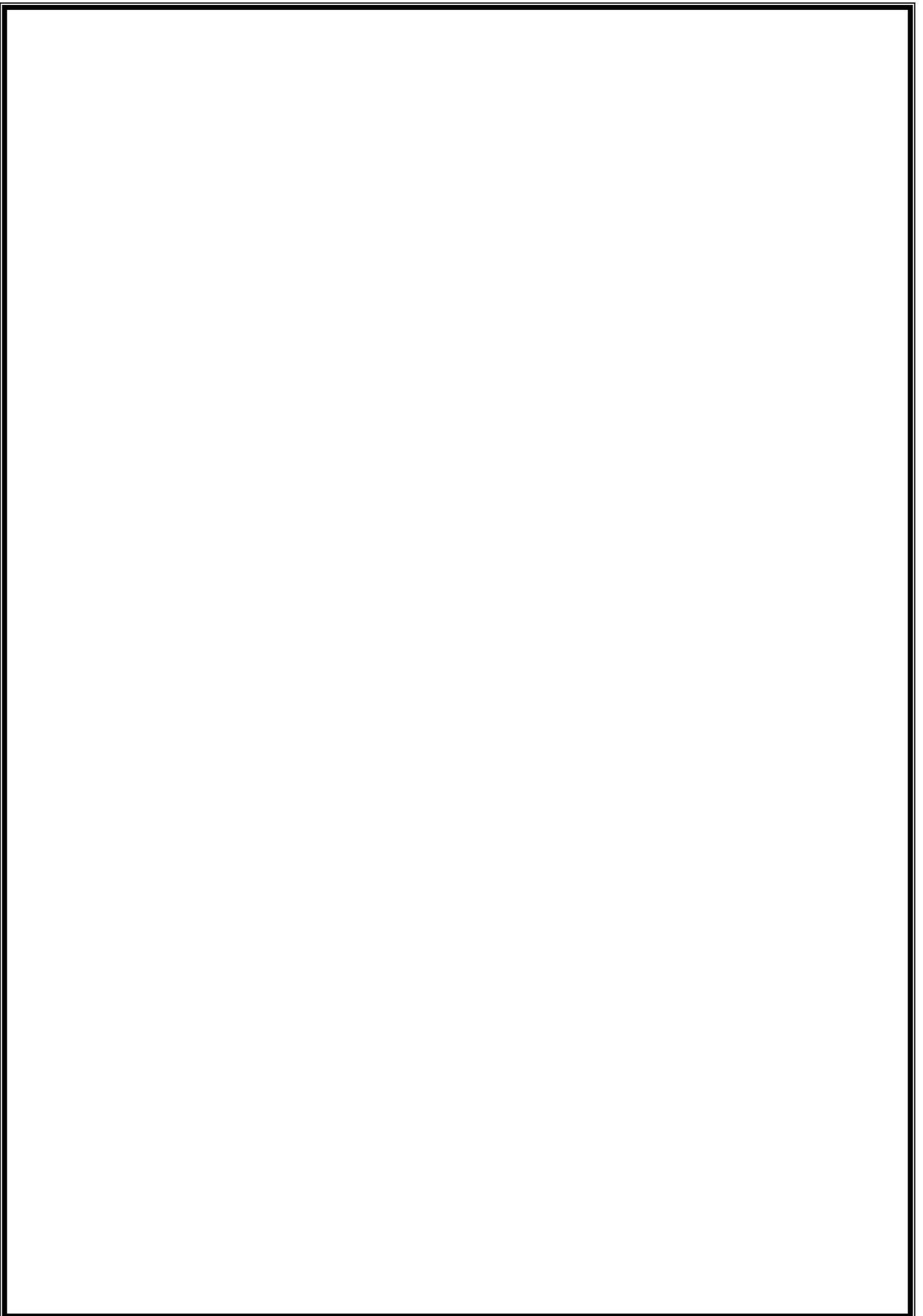
Figure 10 : Evolution des concentrations en esters pendant la première et la deuxième fermentation (Malt A et malt C) au cours de la fabrication de la bière.

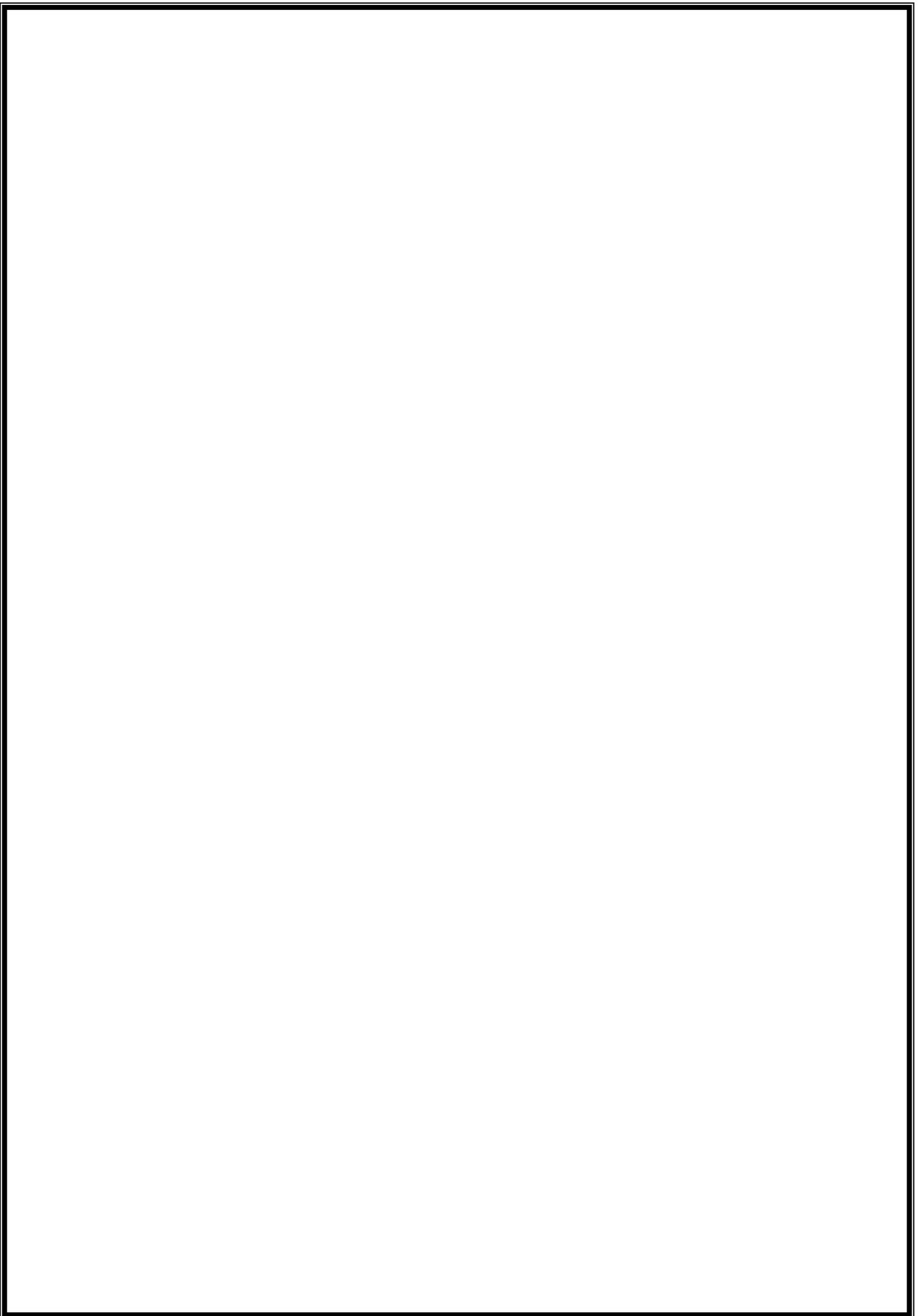
Glossaire

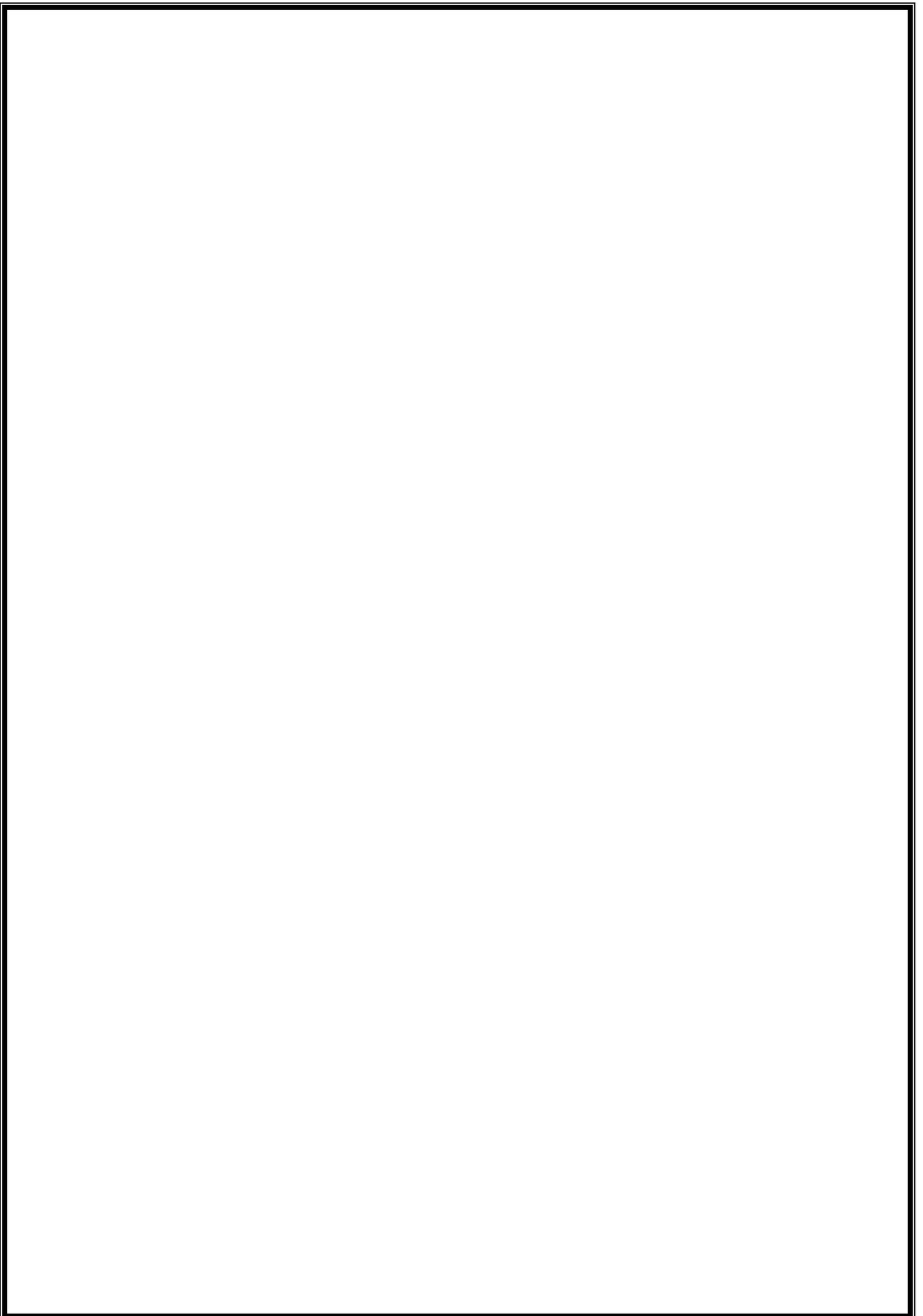
- **Ale** : historiquement, une boisson maltée sans houblon. Ale est désormais un terme générique pour les bières de haute fermentation.
- **Lager** : un terme allemand signifiant qu'il s'agit d'une bière de fermentation basse sans plus de précision.
- **Couleur** : il existe deux méthodes d'analyse SRM (Standard Reference Method) et EBC (European Brewery Convention) pour mesurer la couleur du moût et de la bière. Les unités SRM sont équivalentes aux degrés Lovibond utilisés par L' ASBC (American Society of Brewing Chemists). Les unités EBC sont une norme Européenne.
- **Degré d'alcool (v/v)** : pourcentage d'alcool par volume de bière.
- **Dimethylsulfure (DMS)**: composé du malt à forte teneur en soufre. En faible quantité, le DMS donne un caractère vif à la bière. En grande quantité, le DMS dégage des arômes de maïs ou de choux.
- **Degré Plato (°P)**: les degrés Plato se mesurent à 20°C et expriment la densité d'une solution en grammes de matière sèche pour 100 grammes de solution. 1°P= 1g de sucre pour 100g de moût.
- **Densité** : mesure du poids d'une solution comparée au poids d'un volume équivalent d'eau distillée.
- **Densité Spécifique Finale (apparente)** : la densité spécifique atteinte en fin de fermentation.
- **Densité originale** : densité du moût avant la fermentation. La densité originale est la mesure de la teneur en soluble du moût.
- **Alcools supérieurs** : sont des produits qui se forment au cours de la fermentation

alcoolique. Ils contribuent à donner sa saveur à la bière. La présence de ces substances en grandes quantités peut initier des arômes épicés ou des arrière-goûts de solvants.

- **Esters**: composés aromatiques issus de la fermentation composés d'un acide et d'un alcool. Les principaux esters sont : Ethyl Acétate – arôme et odeur de fruit – Isoamyl Acétate - ester banane – et Ethyl Hexanoate. Les levures de haute fermentation sont préférées pour leur capacité à produire des mélanges d'esters particuliers.
- **Floculation** : un procédé très important qui sédimente la levure au fond du fermenteur en fin de fermentation. La floculation démarre en général quand l'ensemble des nutriments ont été utilisés.
- **Garde** : période de maturation au froid permettant une post fermentation en fût ou en bouteille. Lavage des drêches : le lavage des drêches à l'eau chaude permet d'en extraire les sucres résiduels.
- **Malt** : orge trempé dans l'eau, germé puis séché en touraille. Ce procédé convertit les amidons insolubles en substances solubles et en sucres.
- **Maïsche** : infusion de la masse saccharifiée et de l'eau à 60°C -75°C, température optimale d'activité des amylases.
- **Moût** : le moût sucré est l'extrait de malt après l'empâtage et la saccharification. Le moût amer est la solution sucrée et houblonnée avant l'ensemencement.
- **Saveur** : fruité ou florale, équilibre entre amer et sucré, entre arôme de malt ou de houblon.







La bière est un breuvage universel et probablement le plus ancien jamais fabriqué par l'homme depuis l'époque babylonienne (8000 ans). Elle est si populaire qu'elle est la boisson alcoolisée la plus vendue au monde. L'histoire de la bière est intimement liée à celle de ses ingrédients, ainsi qu'aux avancées technologiques qui firent de cette boisson le breuvage que l'on connaît aujourd'hui, sa production mondiale dépasse actuellement le milliard d'hectolitres par an (**Boivin, 2005**).

La bière est produite à partir de la fermentation du malt (orge germé), de houblon, d'eau et de levures. Cette boisson présente un intérêt sur la santé de l'Homme, notamment grâce à son contenu en minéraux et aux composés phénoliques connus pour leur activité antioxydante. Le houblon et l'orge maltée constituent une source importante de composés phénoliques dans la bière. Ces derniers ont des effets bénéfiques sur le corps humain lorsque la bière est consommée avec modération (**BAMFORTH, 2002**). Outre sa valeur nutritive, la bière se distingue par sa saveur particulière qui joue un rôle crucial dans son acceptation auprès des consommateurs. C'est pour cette raison que les industriels accordent une grande importance pour la qualité organoleptique de la bière.

En effet, dans le processus de fabrication, la levure produit pendant la fermentation primaire une large gamme de composés conférant à la bière ses propriétés sensorielles. La saveur et l'arôme de la bière sont déterminés essentiellement par sa concentration en esters et en alcools supérieurs qui résultent d'un métabolisme complexe des sucres et des acides aminés du moût fermenté. Selon **LODOLO et al., (2008)**, une fermentation primaire non maîtrisée a une conséquence néfaste sur les caractéristiques organoleptiques de la bière.

Les nouvelles techniques industrielles mises au point pour améliorer la production de la bière d'un point de vue qualitatif et quantitatif sont très difficiles à maîtriser. En effet, il reste difficile de contrôler tous les paramètres de production ainsi que les interactions existant entre eux, de plus les accidents de fabrication peuvent induire l'altération des caractéristiques sensorielles de la bière.

Compte tenu de leur importance dans le développement de la flaveur de la bière, les esters et les alcools supérieurs suscitent un intérêt tout particulier chez les brasseurs. Ainsi, beaucoup d'attention est accordé aux facteurs qui influent sur leur formation lors de la fermentation. C'est dans ce contexte que cette étude a été menée, elle a pour objectif principal de suivre l'évolution des alcools supérieurs et des esters dans les moûts lors de la fermentation primaire et secondaire tout en considérant les différents facteurs susceptibles d'influencer

leur formation.

Le présent mémoire comporte deux grandes parties : la première partie consiste en une synthèse bibliographique définissant dans le premier chapitre l'aspect nutritif de la bière ainsi que ses propriétés organoleptiques, les deux chapitres suivants ont été consacrés à la technologie brassicole et surtout la fermentation alcoolique ainsi que les voies et les paramètres affectant la production des arômes dans la bière.

La deuxième partie correspondant à la démarche expérimentale suivie pour apprécier l'évolution des alcools supérieurs et des esters au cours de la première fermentation au niveau des cuves horizontales (horaps), et au cours de la fermentation secondaire au niveau des cuves verticales (veraps) des moûts issus de deux malts différents, soit le malt A pour la bière de type « Heineken » et le malt C pour la bière de type « Tango Rouge ».

La bière est le « pain liquide » universel présent sur tous les continents, elle est parmi les boissons alcoolisées les plus anciennes que l'homme a connu. Elle est obtenue par fermentation alcoolique d'un moût d'orgeensemencé de levure et aromatisé avec le houblon (Hebert, 2000).

1. Définition de la bière :

« La bière est une boisson alcoolique fermentée, faite avec de l'orge germée et aromatisée avec des fleurs de houblon ». indique le Petit Robert.

La dénomination bière est réservée à la boisson obtenue par la fermentation d'un moût préparé à partir de malt de céréales, des matières premières issues des céréales, des sucres alimentaires, des substances conférant de l'amertume provenant du houblon et de l'eau potable. Le malt des céréales représente au moins 50% du poids des matières amylacées ou sucrées mises en œuvre. L'extrait sec représente au moins 2% du poids du moût primitif.

La bière est une boisson naturelle, populaire, sans matière grasse. Cette définition, simple, résume un processus complexe et très élaboré (Hebert, 1992).

2. Historique :

La bière est l'un des breuvages alcoolisés les plus anciens, Des tables d'argile témoignent de la présence d'une boisson fermentée élaborée à base de grains. Ce breuvage fort apprécié a été l'objet de différentes croyances tout au long de son histoire.

Sous l'ancienne Egypte, la "bière" était une boisson d'origine divine. La bière était préparée par des femmes et servie par des prêtresses. La divine bienfaitrice est de plus en plus appréciée et ses usages thérapeutiques se multiplient. La bière s'affirme également comme boisson d'accueil, comme aliment, puis devient monnaie d'échange.

Dans la Grèce Antique, la bière est reconnue pour ses vertus médicinales. Mais les Grecs et les Romains, grands amateurs de vin, ne s'intéressent guère à la bière.

C'est au VIII ème siècle que le houblon, plante réputée pour ses vertus antiseptiques, fit une apparition dans la fabrication de la bière et y conféra sa délicieuse amertume.

La fabrication devient alors un art particulièrement subtil.

Depuis toujours la bière est un produit instable et fragile la fermentation reste un phénomène mystérieux et divin. En 1854, Pasteur s'intéresse à la chimie de la fermentation et met à jour l'existence de micro-organismes dans la levure. Les recherches scientifiques sur les micro-organismes vont permettre de maîtriser le processus de la fermentation alcoolique et d'améliorer les conditions sanitaires des brasseries afin de produire une boisson plus saine et plus claire.

Le goût de la bière devenu maintenant plus doux attire une nouvelle clientèle. Le brassage de la bière et la distribution se font à une plus grande échelle. C'est ainsi que nous en arrivons à la bière d'aujourd'hui, une bière aux goûts variés et consommée dans les quatre coins du monde.

La fabrication de la bière est maintenant presque totalement automatisée dans la plupart de ses étapes de fabrication, le nombre de brasseries traditionnelles est en déclin. Les nouvelles technologies et la recherche permettent d'obtenir un produit de très bonne qualité.

3. Composition de la bière :

Comparée à d'autres boissons alcoolisées, la bière a une valeur nutritive plus élevée, grâce à la présence d'un certain nombre de minéraux essentiels et nutriments tels que le potassium, le magnésium, le calcium, le phosphore et une petite quantité du sodium (BAMFORTH, 2002; TAFULO *et al.*, 2010).

Elle est aussi une source de vitamines du groupe B (B₁, B₂, PP, B₁₂) qui proviennent de malt et de la levure. L'utilisation des céréales dans la bière contribue également à l'ingestion de composés antioxydants naturels tels que : les polyphénols, les produits de réaction de Maillard et les sulfites (TAFULO *et al.*, 2010; ZHAO ZHAO *et al.*, 2012).

1.1. Composition biochimique de la bière :

Les principaux constituants biochimiques d'une bière sont montrés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Composition biochimique de la bière (HARDWICH, 1995).

| Substance | Concentration | Nombre de composés | Source |
|-----------------------|------------------|--------------------|-----------------------|
| Eau | 90 - 94 % | 1 | - |
| Ethanol | 3 - 5 % v/v | 1 | Malt, levure |
| Hydrates de carbone | 1.6 % | ~100 | Malt |
| Dioxyde de carbone | 3.5 - 4.5 g/l | 1 | Levure, Malt |
| Sels minéraux | 500 - 4,000 mg/l | ~25 | Levure, Malt |
| Contenu total d'azote | 300 - 1,000 mg/l | ~100 | Levure, Malt |
| Acides organiques | 50 - 250 mg/l | ~200 | Levure, Malt |
| Alcools supérieurs | 100 - 300 mg/l | ~80 | Malt, levure |
| Aldehydes | 30 - 40 mg/l | ~50 | Levure, Houblon |
| Esters | 25 - 40 mg/l | ~150 | Levure, Malt, Houblon |
| Composés soufrés | 1 - 10 mg/l | ~40 | Levure, Malt, Houblon |
| Dérivés du houblon | 20 - 60 mg/l | ~100 | Houblon |

3.2. La composition nutritionnelle de la bière :

La bière contient 90% d'eau, c'est pour cela qu'elle est désaltérante. En plus, elle contient de l'alcool dépendant de la composition glucidique du moût et de la fermentation. Le degré d'alcool peut être plus ou moins élevé influant par conséquent la valeur énergétique de la bière (DUKAN, 1998).

2. 3. La composition minérale de la bière :

Les céréales, l'eau et le houblon sont les sources principales de minéraux dans la bière, tandis que la levure la bière contient environ 1200 mg de sels minéraux par litre (MONTANARI *et al.*, 2008).

Le tableau 2 indique le type et la quantité de substances inorganiques principales dans la bière et leurs effets physiologiques chez l'homme.

Tableau 2 : Composition minérale de la bière (KUNZE, 2004)

| Substances inorganiques | Quantité dans la bière (mg/l) | Quantité journalière recommandée (mg/jour) | Effets physiologiques chez l'homme |
|-------------------------|-------------------------------|--|---|
| Phosphates | 300 – 400 | 1,250– 1,500 | ➤ Importants composants des os et des dents, responsable du stockage et transmission de l'énergie. |
| Sulfates | 150 – 200 | - | ➤ Aucun effet important. |
| Nitrates | 10 – 80 | - | ➤ Les nitrates peuvent être convertis en nitrites qui sont nocifs pour la santé, la quantité des nitrates en bière est habituellement au dessous de la limite légale de 50 mg/l pour l'eau potable. |
| Chlorites | 150- 600 | 2.500 | ➤ Bon pour la prophylaxie contre la crise cardiaque ; un contenu élevé en potassium est diurétique. |
| Potassium | 500 – 600 | 2.500 | |
| Sodium | 30 – 32 | 550 | ➤ Un bas contenu en sodium est souhaitable. |
| Calcium | 35 - 40 | 800 – 1,000 | ➤ Le calcium peut empêcher les maladies cardiaques |
| Magnésium | 100 - 110 | 300 - 350 | ➤ Abaisse le niveau de cholestérol, effet bénéfique sur l'activité cardiaque. |

Selon LACOMINO *et al.*, (2008) et MOLL (1991), la bière apporte d'autres composés, comme les fibres solubles (parois de cellules d'orge maltée), les acides organiques (300 – 500 mg/l), les polyphénols (100 – 200 mg/l), les matières amères.

En résumé, la bière est un aliment complet, ses matières premières sont naturelles et déjà dégradées, ce qui la rend particulièrement digeste. Elle a une faible teneur en alcool mais doit quand même être consommée avec modération pour conserver ses actions bénéfiques sur l'organisme.

4. Propriétés de la bière :

Les propriétés de la bière dépendent infiniment de la levure utilisée produisant non seulement l'éthanol et le dioxyde de carbone, mais aussi autre composé (alcools supérieurs, acides organiques, esters, aldéhydes, cétones, composés de soufre) jouant un rôle principal dans le profil sensoriel de la bière (**BUIATTI, 2009**).

4.1 Propriétés organoleptiques :

Les propriétés organoleptiques de la bière sont essentielles pour son acceptation par les consommateurs. Elles sont étroitement liées aux matières premières et aux transformations qu'elles subissent lors de la fabrication (brassage, fermentation).

a. La flaveur

La combinaison des sous produits issus du processus de fabrication et des composants de la matière première détermine la saveur de la bière. En terme de matières premières c'est l'utilisation du houblon qui fournit à la bière son amertume caractéristique et dans beaucoup de cas un arôme appréciable au produit fini (**HUGHES et al., 2001**).

Les résines amères des houblons sont extraites pendant l'ébullition, les humulones sont transformés en isohumulones après isomérisation, ces derniers sont plus amers et hydrosolubles (**BRIGGS et al., 2004**).

Les traitements thermiques subis au malt peuvent aussi contribuer à des réactions chimiques complexes qui affecteront par la suite la flaveur de la bière comme la caramélisation des sucres, la dégradation thermique des polyphénols et les réactions de Maillard.

En outre, il faut mentionner l'impact du processus de fabrication, en particulier l'étape de fermentation du moût qui est décisive dans l'expression finale de la saveur de la bière. En plus de l'éthanol et du dioxyde de carbone, d'autres composés volatils sont formés lors de la fermentation qui sont d'une grande importance sur le plan organoleptique (**HUGHES et al., 2001**).

Les substances volatiles contenues dans la bière sont : les esters, les alcools supérieurs, les aldéhydes, les diacétyles et les composés soufrés.

- ***Les esters***

Les esters sont le groupe le plus important des composants volatils qui donnent à la bière la saveur fruitée et florale. Dans la bière 90 esters distincts sont détectés.

- ***Les alcools supérieurs***

Les alcools supérieurs ont un plus grand poids moléculaire, Ils dérivent principalement du métabolisme de la levure, du houblon et du malt (**BUIATTI, 2009**).

Le goût de la bière provient des alcools supérieurs appelés également huiles de fusel (n-propanol, l'isobutanol, le 2- méthyl-1- butanol, et le 3- méthyl-1- butanol). Plus de 40 autres alcools ont été identifiés (**STEWART, 2003**).

- ***Les composés carbonylés***

Ils contribuent à la saveur de la bière et autres boissons alcoolisées, Ils sont produits aussi du métabolisme de la levure en citant l'exemple de l'acétaldehyde (pomme verte) ; le diacétyl ; et le pentanedione qui donne respectivement la saveur du beurre et du caramel à la bière.

- ***Les composés soufrés***

Plusieurs composés soufrés sont des dérivés de la matière première. Cependant, les concentrations de sulfure d'hydrogène (arôme putréfié d'œufs) et anhydride sulfureux (allumettes brûlées) dépendent de l'activité de la levure (**STEWART, 2003**).

Les différents composés volatils trouvés dans la bière sont présentés dans le tableau 3

Tableau 3 : Liste de saveurs de bière associées à divers composés et leur seuil Organoleptique (KOBAYASHI *et al.*, 2008).

| Les composés | Saveur dans la bière | Seuil organoleptique (ppm) |
|------------------------------------|------------------------------------|----------------------------|
| Les alcools supérieurs | | |
| Propan-1-ol(n propanol) | Alcool | 800 |
| 2-methyl propanol(isobutyl alcool) | Alcool | 200 |
| 2-methyl butanol | Alcool, banane, solvant | 65 |
| 3-methyl butanol(isoamyl alcool) | Alcool, sucrée, banane, aromatique | 70 |
| 2-phenyl ethanol | Rose, sucrée, parfumée | 120 |
| Les esters | | |
| Ethyl acetate | Solvant, fruitée, sucrée | 30 |
| Isoamyl acetate | Banane, pomme, solvant, ester | 1,2 |
| 2-phenyl ethyl acetate | Rose, miel, pomme, sucrée | 3,8 |
| Ethyl caproate | Pomme aigre | 0,21 |
| Ethyl caprylate | Pomme aigre | 0,9 |
| Les composés carbonylés | | |
| Acétaldehyde | Feuilles vertes, fruitée, | 25 |
| 2-3-Butanedione (diacetylé) | Beurre rancis | 0,15 |

b. La couleur

La couleur de la bière est déterminée essentiellement par le choix des grains utilisés, et plus spécifiquement le type de traitement de ces grains. L'orge contient de très faibles concentrations de substances pigmentées. C'est le matage qui conduit à la formation de la

couleur au cours de l'étuvage et de la germination, par des réactions de brunissement (Maillard), Dans certains cas, la couleur est obtenue par la caramélisation et les réactions de pyrolyse. Comme elle peut être le résultat de l'oxygénation des polyphénols issus de la bale d'orge ou du houblon. Le malt légèrement étuvé montre une couleur jaune caractéristique de la bière blonde (SHELLHAMER, 2009).

Les réactions qui contribuent à la couleur de la bière sont :

- *Les réactions de Maillard*

Les deux composants essentiels pour ces réactions sont Les sucres réducteurs (maltose) et les acides aminés libres (groupes amines). Le résultat de ces réactions est la formation mélanoidines. Les couleurs produites par ces polymères sont jaunes, orange et rouge (NURSTEN, 2005).

- *Les réactions de caramélisation et de pyrolyse*

Dans les conditions de concentrations élevées de sucre et de température, les réactions de caramélisation et de pyrolyse peuvent survenir en plus des réactions de Maillard. A une température de 120°C, la décomposition thermique des sucres (caramélisation) précède, les produits de caramélisation sont de couleur rougeâtres et/ou brunes (FADEL et FAROUK, 2002).

Au dessus de 200°C les réactions de pyrolyse prédominent en provoquant la désintégration moléculaire des sucres et la formation des pigments intensément noir (COGHE et al., 2003).

Pendant la fermentation, la couleur de la bière diminue suite à l'absorption des pigments colorés sur les parois cellulaires de la levure. Cette dernière peut affecter la couleur de la bière par l'intermédiaire de la turbidité lors d'une mauvaise filtration de la bière (SHELLHAMER, 2009).

4.2. Autres propriétés de la bière

La bière présente d'autres propriétés intéressantes dues à la présence de molécules bioactives ayant des propriétés biologiques se traduisant par des effets bénéfiques sur la santé de l'Homme. En effet, de nombreuses études démontrent que la consommation modérée de la bière réduit les risques associés aux maladies cardiovasculaires, de cancer et de l'ostéoporose (REHM *et al.*, 2003).

Voici quelques effets bénéfiques de certains composés de la bière sur la santé humaine :

- La consommation d'alcool avec modération stimule l'appétit (HETHERINGTON *et al.*, 2001).
- Les melanoïdines hydrosolubles du malt favorisent l'activité de la détoxification des enzymes dans les cellules intestinales (FAÏST *et al.*, 2002).
- Les polyphénols du houblon peuvent empêcher la croissance des streptocoques, de ce fait retarder les caries dentaires (TAGASHIRA *et al.*, 1997).
- La capacité antioxydante de la bière (houblon et le malt) est bénéfique grâce à ses propriétés protectrices contre de nombreuses pathologies (FEGREDO, 2009).

1. Matières premières

La bière est reconnue comme une boisson presque naturelle composée de quatre ingrédients principaux qui sont : l'eau, l'orge, le houblon et la levure. On peut obtenir autant de bières différentes rien qu'en variant ces quatre composés majeurs. Toutefois la véritable qualité d'une bière dépend également de savoir faire du maître brasseur (**Lacroix, 2000**).

1.1 L'eau :

Cela semble une évidence, mais la bière est constituée à 90% d'eau. Elle influe sur la couleur, les qualités nutritionnelles et les caractéristiques gustatives de la bière. La pureté et la qualité de l'eau qui entre dans la fabrication de la bière sont déterminantes, non seulement sur sa clarté mais aussi sur son goût.

L'eau est composée de 6 principaux sels minéraux : le bicarbonate, le sodium, le chlorure, le calcium, le magnésium et le sulfate. Leur proportion va influencer sur la douceur ou la dureté en bouche de la bière, mais aussi sur le processus de fabrication, le bicarbonate réduit la transformation des amidons en sucres, le sulfate fait ressortir l'amertume de la bière, une dose trop importante de chlorure limitera la présence de mousse, le magnésium quant à lui est indispensable à la levure.

1.2 L'orge :

L'orge est la céréale la plus utilisée dans la fabrication de la bière. Les céréales contiennent 70 à 80% d'amidon et une petite quantité de sucres simples, c'est cette source d'énergie qui est à la base du corps de la bière et qui permet d'obtenir un produit nutritif et alcoolisé. L'orge est réputée pour favoriser une bonne digestion et pour son apport en fibres, vitamines B, sélénium, phosphore, fer, zinc, cuivre et magnésium. Elle contient huit acides aminés essentiels et a une action favorable sur le taux de sucre dans le sang, le cholestérol et la flore intestinale.

L'orge n'est pas utilisée de suite pour faire la bière, mais tout d'abord transformé en malt après une phase de germination et de séchage. La sélection de l'orge est très rigoureuse et le malteur doit tenir compte de la taille du grain, du degré d'humidité ou encore de la teneur en protéines. L'orge de qualité optimale doit avoir une humidité inférieure à 14,5%, un taux de protéines compris entre 9,5% et 11,5%, une énergie germinative supérieure à 95%, ainsi qu'un calibrage (grains dont la taille est supérieure à 2,5mm) supérieur à 90%. L'orge de printemps à 2 rangs est privilégiée (le nom provient du nombre de rangs de grains

dans chaque épi) par rapport à l'orge à 6 rangs (orge d'hiver) car la teneur en protéines est plus faible et l'usage en brasserie est donc plus propice (bière moins trouble).

On utilise aussi couramment du malt de froment et de seigle transformés de la même manière que l'orge. Mais aussi des céréales non maltées et des flocons d'avoine, d'orge, de maïs, de riz et de froment. Les céréales en flocons sont concassées avant d'être cuites à la vapeur. Les grains passent ensuite dans un circuit d'air chaud, sont refroidis, écrasés en flocons puis rôtis à haute température dans des fours.

➤ Différents types de malt

Il existe plusieurs types de malts, que l'on obtient en fonction de la durée du séchage des grains. Le malt de céréale (orge, avoine, blé, seigle), partiellement germé et grillé donne non seulement l'alcool, le corps mais aussi une grande partie du parfum et la couleur de la bière.

Les bières blanches sont composées en grande partie de malt de blé et de malt pâle.

-Les malts pâles, peu tournaillées, font la finesse et le moelleux des bières blondes mais sont aussi les malts de base pour la plus grosse majorité des bières.

-Les malts, dits caramels, sont plus dorés, ils apportent un arôme caramel et la couleur ambrée aux bières rousses.

-Les malts bruns, subissant en plus une torréfaction et utilisés en petites quantités donnent l'acajou des bières brunes et son côté torréfié.

Le descriptif des types de malts est disponible dans la rubrique malt de la section brassage amateur.

• Composition chimique de grain d'orge

La composition biochimique d'un grain d'orge est rapportée dans le tableau 4.

Tableau 4 : Composition moyenne d'un grain d'orge.

| | |
|--|-----------|
| Eau | 12 à 17% |
| Hydrates de carbone | 62 à 74% |
| Matières grasses | 1 à 3% |
| Matières azotées | 9 à 12% |
| Minérales | 2 à 3 % |
| Amidon | 44 à 58 % |
| Cellulose et hémicellulose | 4 à 10% |
| Matières non azotées | 3 à 4% |
| Matières pectiques, pentosanes, gommés | 7 à 11% |
| Sucres | 1 à 1.5% |

1.3 Le houblon

« Humulus Lupulus » nom latin du houblon, signifie « plante du loup » car elle pousse à l'état sauvage dans la campagne, c'est une herbe grimpante de la famille du chanvre, cousine du cannabis et de l'ortie. Cette liane herbacée vivace à rhizome peut atteindre 8m de hauteur et produit chaque année de juin à septembre, des cônes ovoïdes très odorants et couverts d'une résine jaunâtre odorante et pulvérulente, la lupuline.

Le houblon commença à être utilisé dans le brassage de la bière à partir du VIII^{ème} siècle en Europe centrale. C'est ainsi qu'il remplaça l'utilisation des épices (cannelle, muscade, gingembre) ou des plantes (romarin, laurier) dans l'aromatisation de la bière. Il fût vite adopté par le monde brassicole car il permet de compenser la saveur sucrée du malt et d'ajouter de l'arôme et de l'amertume tout en apportant son pouvoir antiseptique. Le houblon a aussi l'avantage d'être un conservateur naturel ce qui permet un stockage de la bière à plus long terme.

La lupuline contient deux acides alpha, l'humulone et la lupulone. L'humulone se transforme ensuite en isohumulone au cours de la cuisson qui est un antibactérien à la saveur amère. Le second acide, la lupulone est un antibactérien et un antioxydant. Ces composés contribuent à la conservation de la bière.

La plante a aussi des qualités médicinales reconnues, outre ses vertus antiseptiques elle favorise l'apaisement, la digestion et le sommeil.

250 à 300 composés chimiques de la bière proviennent des huiles essentielles du houblon. Il développe ainsi de très nombreux arômes en fonction de ses différentes variétés et procédés de fabrication. On classe généralement les houblons en 5 catégories : épicés, menthés, résinés, floraux et citriques.

1.4 La levure

Champignon microscopique généralement unicellulaire que l'on utilise principalement dans la fabrication du pain et de la bière. On connaît plus de 350 espèces de levures regroupées en 39 genres. La levure « *Saccharomyces cerevisiae* » est la plus fréquemment employée; on la nomme également «levure de bière» ou «levure de boulanger». La levure ne doit pas être confondue avec la levure chimique (bicarbonate). Le champignon se développe rapidement au contact d'une solution sucrée transformant le sucre en alcool et en gaz carbonique. En présence d'oxygène, les levures transforment les sucres en eau et en gaz carbonique; alors qu'en l'absence d'oxygène, elles produisent de l'alcool et du gaz carbonique car l'oxydation est incomplète, c'est ce dernier cas utilisé en brasserie.

La levure est à l'origine de la fermentation de la bière. Ce micro-organisme unicellulaire transforme le sucre du moût en alcool et en dioxyde de carbone et l'on retrouve des millions de levures en fin de fermentation. Phénomène d'abord spontané, grâce à l'action des levures présentes de manière invisible dans l'atmosphère, la fermentation fait désormais l'objet d'une intervention de l'homme. La levure est garante de la constance du parfum et des caractéristiques d'une bière d'un brassage à l'autre. Chaque brasserie cultive et conserve à l'abri des regards et de toute contamination sa propre souche de levure. Les levures sont même déposées dans une banque de culture de levures afin d'en conserver une trace pure en cas d'infection.

➤ **Systématique de la levure brassicole**

Selon **LEVEAU** et **BOUIX (1993)**, deux espèces sont utilisées en brasserie :

- Règne : Fungi
- Embranchement : Ascomycète
- Classe : Hemiascomycète

- Ordre : Saccharomycetales
- Famille : Saccharomycetaceae
- Genre : Saccharomyces
- Espèce : -*S. cerevisia* -*S. uvarum*

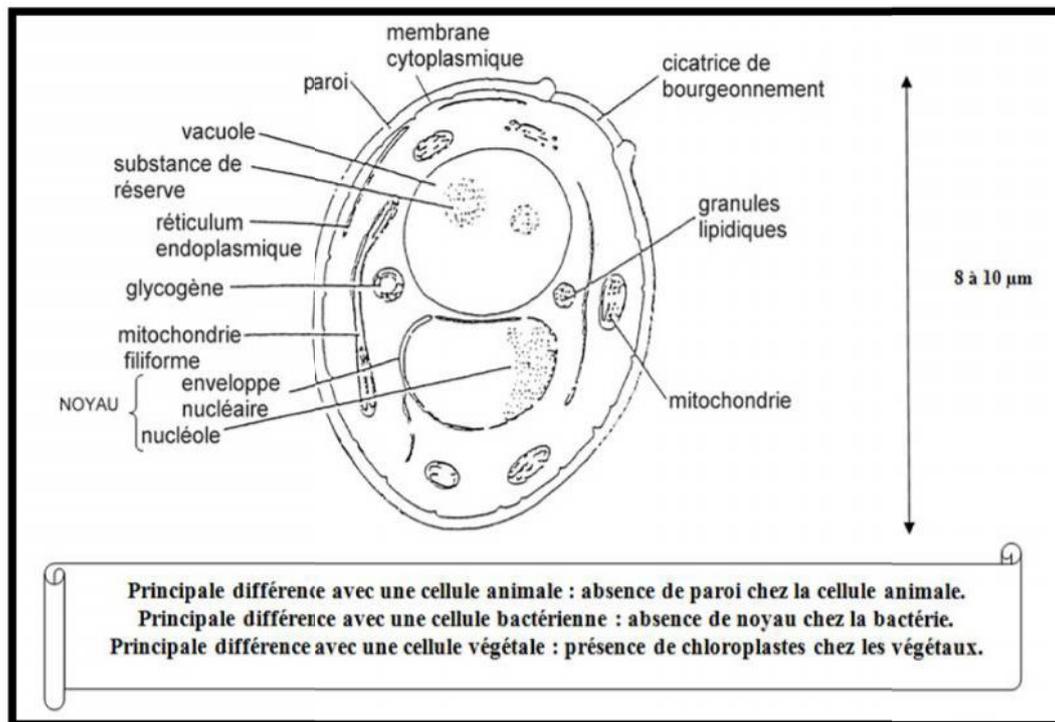


Figure 1 : Cytologie d'une cellule de levure (LARPENT, 1991).

➤ Caractéristiques principales de la levure brassicole

Les travaux de **PASTEUR** et **HANSEN** ont suscité beaucoup d'intérêt sur l'utilisation des cultures pures de levures. C'est le point de départ des travaux visant la caractérisation, la sélection et l'amélioration génétique des souches, qui sont actuellement fortement stimulés par les récents acquis du génie génétique (**BOURGEOIS, LARPENT, 1996**).

Selon **KEYN** et **HOUGH**, (1971), les caractéristiques souhaitables dans une levure de bière sont :

- La capacité de produire une bière de bonne saveur et d'arome ;
- La capacité de fermenter le moût (fructose, glucose, sucrose,

maltose, maltotriose) rapidement;

- Une fermentation rapide sans excès de croissance de la biomasse ;
- Une bonne conversion des sucres (maltose et maltotrioses) en éthanol ;
- Tolérance à l'éthanol ;
- Résistance à la pression osmotique ;
- Bonne floculence ;
- Bonne stabilité génétique ;
- Production d'arôme spécifique ;

Les levures utilisées dans les brasseries sont des souches particulières de *Saccharomyces cerevisiae*. Ces dernières sont spécifiques à chaque brasseur et sont tenues secrètes.

➤ **La nutrition des levures**

Le moût de malt est une solution de nutriments idéale pour la levure, il contient:

- Les glucides se transforment en sucres utilisables (le fructose, le glucose, le saccharose, le maltose et le maltotriose) ;
- L'azote est un élément important pour la synthèse des protéines, par conséquent essentiel pour la multiplication de la levure et la fermentation dans le moût. Les concentrations de 900-1200 mg /l d'azote soluble sont considérées comme suffisantes ;
- Les levures ont besoin de minéraux pour l'activation des enzymes (surtout le potassium pour les kinases et les déshydrogénases) pour leur propagation.
 - Le magnésium (40 mg / l) agit comme un lien entre les structures de phosphate et les enzymes (phosphorylation) et également nécessaire pour l'activation des enzymes.
 - Le calcium aide à la propagation et ralentit la dégénérescence.
 - Le sodium est nécessaire pour le transport du potassium et la synthèse des enzymes.
 - Les oligo-éléments comme le fer, le zinc, le manganèse et le cuivre sont également impliqués dans la construction de la cellule et dans les réactions enzymatiques (propagation, fermentation). En outre, une teneur en manganèse

est favorable pour le métabolisme de la levure. Il est considéré comme un élément potentiellement substituant de zinc.

- L'oxygène est nécessaire pour la synthèse des stérols (ergostérol) et des acides gras (l'acide palmitique et l'acide oléique). Il intervient également dans la régulation d'expression des gènes et dans le développement des mitochondries. L'aération avec (8-12 mg d'oxygène/ l) est considérée comme suffisante pour les moûts de densité standard.

D'autres nutriments sont nécessaires en petites quantités et sont présents dans tous les moûts de malt tels que :

- ✓ Les vitamines (la biotine, acide pantothénique, l'acide nicotinique, thiamine) utiles pour la synthèse des coenzymes ;
- ✓ Les purines, pyrimidines, nucléosides, nucléotides indispensables pour la synthèse de l'ARN de l'ADN ;
- ✓ Les acides gras pour la synthèse des lipides ;
- ✓ Le soufre pour la synthèse de la cystéine et de la méthionine ;
- ✓ Le phosphore pour la synthèse des phospholipides par phosphorylation (**HEYSE, 2000; BRIGGS et al., 2004; BACK, 2005; NARZISS, 2005**).

1.5 Les produits d'ajout

Selon le journal officiel français du 8 novembre 1997, l'emploi pour la fabrication de bière de certains produits autres que le malt et le houblon est toléré jusqu'à concurrence de 15%.

1.5.1 Les matières amylacées

Selon **BIGOIN et al., (1998)**, deux types de matières amylacées sont utilisés en brasserie: les matières amylacées solides (blé, sorgho, maïs) et les matières amylacées liquides (sirops de glucose, de saccharose et de caramel). Ces matières amylacées ajoutées ont pour objectif de :

- Réduire le prix de revient de la bière;
- Améliorer la stabilité colloïdale;
- Produire des bières plus légères.

Les enzymes

Les brasseurs utilisent des enzymes industrielles pour faciliter leur procédé de fabrication en augmentant la vitesse de production et le rendement. Ces enzymes sont:

- les protéases et les amylases microbiennes pour extraire les sucres et les acides aminés qui seront ensuite consommés par la levure
- les P-glucanase et les xylanase microbiennes pour améliorer la filtration du moût.

Ces enzymes sont obtenues à partir de souches sélectionnées classiquement et seul le brasseur peut estimer le gain de productivité dans leur utilisation en garantissant une qualité de bière identique (CARANTINO, 1996).

Les additifs autorisés sont (LAMY, 1996)

- Le maïs ou son dérivé (le glucose), utilisé à la place du malt tout comme le riz pour des raisons de coût ;
- Antioxygènes : acide ascorbique (E300), ascorbate de sodium (E 301) ;
- Colorant : caramel ordinaire (E150) ;
- Conservateurs ;
- Edulcorants : acésulfame K(E950), aspartame(E951), saccharine et sels de sodium, potassium, calcium (E954) ;
- Acide lactique (E 270) ;
- Acide citrique (E330) ;
- Gomme arabique (E414).

2. Technologie de fabrication de la bière :

La technologie brassicole est une ancienne industrie de biotechnologie. Le procédé de brassage peut être divisé en trois phases : maltage, production de moût, fermentation et maturation (STEWART, 2003).

Les développements antérieurs n'ont pas transformé fondamentalement le produit, ils ont seulement modifié les conditions de sa fabrication. Les changements les plus importants se sont produits au XIX siècle qui a vu l'industrialisation et l'utilisation des nouvelles techniques. La figure 2 montre les principales étapes de fabrication de bière

2.1 Le maltage

Avant le brassage, le malt est broyé dans un concasseur à cylindres striés. Pendant ce concassage, le contenu du grain est écrasé et expulsé de son enveloppe. Ceci a pour but de le réduire et permettre une meilleure extraction des enzymes et des sucres. La difficulté de cette étape est de trouver un bon compromis de réglage de la finesse de la mouture, il ne faut pas qu'elle soit trop épaisse car l'extraction du sucre sera mauvaise. Mais il ne faut pas qu'elle soit trop fine car les farines risquent de poser problème lors de la filtration.

Maltage

eau + orge = malt

L'orge germe et produit
des enzymes utiles.

2.2 Le brassage

L'empâtage est la première étape du brassage, qui consiste à tremper et remuer (brasser) le malt concassé dans de l'eau chaude afin de procéder à l'extraction de l'amidon contenu dans le malt. Le mélange malt concassé et eau s'appelle la maïsche. L'opération se nomme « empâtage » en raison de l'aspect pâteux du mélange eau et malt. On ajoute aussi souvent des grains crus ou des flocons (orge, blé, maïs) pour stabiliser le moût et apporter des saveurs supplémentaires.

L'empâtage s'effectue dans la cuve matière où la maïsche est alors chauffée à différents paliers de température :

- Un premier palier d'environ 15 minutes vers 50°C afin que les protéines complexes non solubles du malt se transforment en acides aminés.
- Un second palier s'effectue aux alentours de 62°C, il permet la gélatinisation de l'amidon et sa transformation en sucres fermentescibles (dextrose et maltose), utiles pour la fermentation, par l'action enzymatique de la beta amylase. Cette étape dure entre 30 et 45 minutes.
- Ensuite la maïsche est élevée entre 68°C et 75°C, à ces températures l'alpha amylase intervient et permet cette fois la formation de sucres non fermentescibles (dextrines) qui donneront du corps et de la rondeur à la bière. Cette étape dure entre 30 et 60 minutes.
- Enfin intervient le palier d'inhibition des enzymes qui consiste à élever la température à 78°C en fin d'empâtage pendant 10 minutes. La chaleur permet de détruire les enzymes et donc de conserver ainsi l'équilibre du brassin (plus de transformation enzymatique ultérieure),

mais aussi de solubiliser les sucres, améliorant ainsi le rendement du brassage et facilitant le rinçage des drêches.

Saccharification

eau + malt = moût primitif

Les sucres du malt sont dilués dans l'eau par chauffage qui active les enzymes. Trois grandes méthodes sont utilisées : la décoction, l'infusion à paliers et l'infusion simple.

La figure 3 décrit les principales transformations du grain d'orge (après le maltage) au cours de brassage

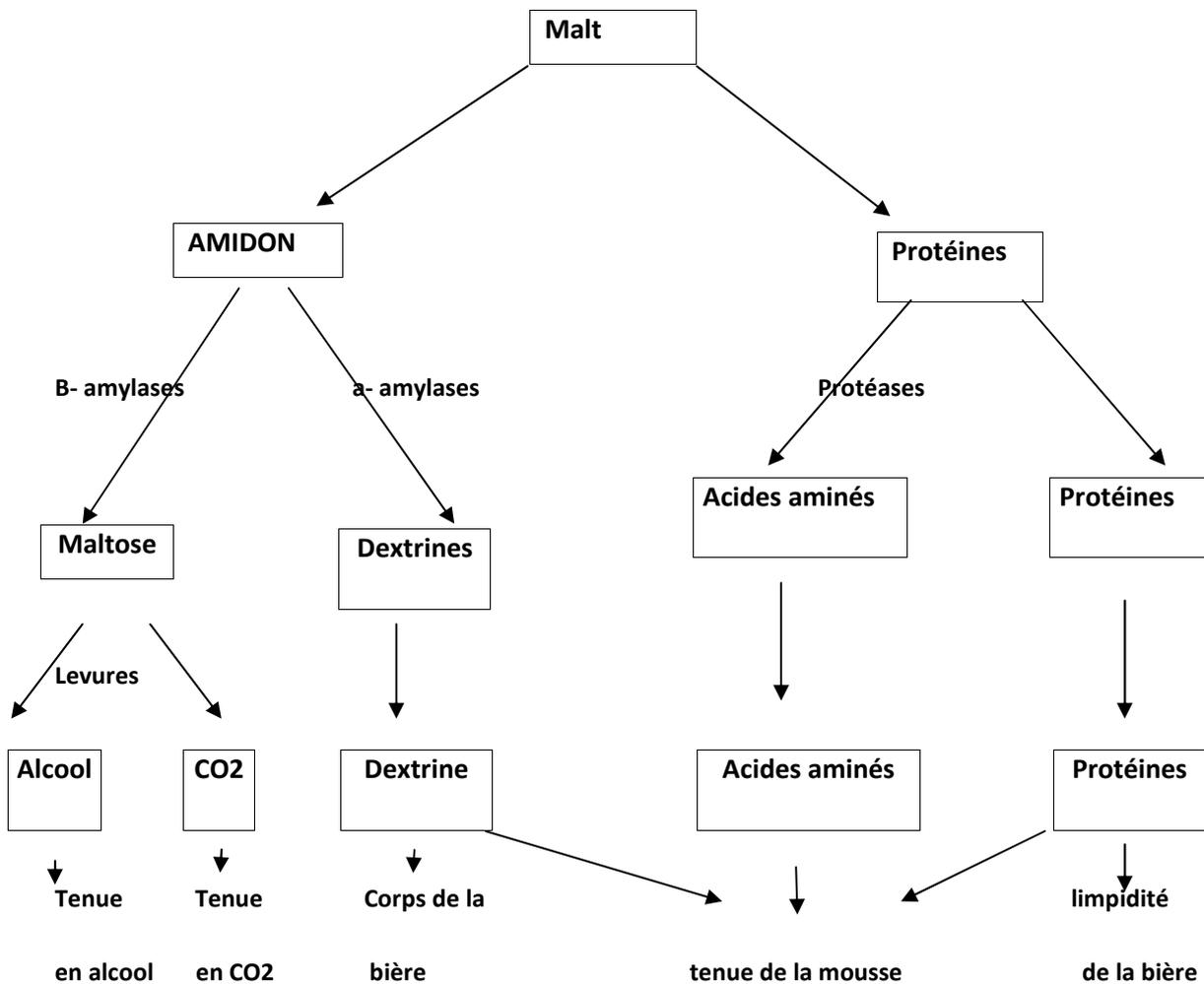


Figure 3: Les transformations chimiques du grain d'orge
(Après le maltage)

- **La filtration du moût**

A la fin de l'empâtage, le brasseur filtre la partie liquide appelé moût en la faisant tout simplement passer à travers les matières solides, c'est-à-dire les résidus de malt épuisé (enveloppe des grains, particules insolubles) qui se nomment les drêches. Cette opération a souvent lieu dans la cuve matière munie d'un fond filtrant, les drêches tassées sur le fond perforé forment en plus un filtre naturel qui ne laisse passer que le moût limpide. Ces drêches sont ensuite rincées avec de l'eau chauffée à environ 76°C afin d'en extraire un maximum de sucres encore présents et améliorer ainsi le rendement. Les drêches une fois retirées de la cuve sont séchées et utilisées comme nourriture pour le bétail. Elles contiennent des protéines, des fibres, du sucre et un peu d'amidon.

Après la filtration le moût est pompé en direction de la chaudière à moût pour la cuisson.

- **Cuisson du moût**

Le moût est porté à ébullition vigoureuse dans une chaudière à moût pendant de nombreuses minutes (entre 1 et 2 heures selon les profils de bières). La cuisson permet de stabiliser et de stériliser le moût mais c'est aussi à cette étape que le houblon est ajouté au moût, il s'agit du houblonnage. Son rôle est important, il fournit au moût, par l'intermédiaire de ses résines, deux acides qui stérilisent et conservent et donnent l'amertume à la bière. On l'incorpore généralement une première fois en début de cuisson et on en ajoute soit de temps en temps ou à la fin pour garder un peu des huiles essentielles du houblon. Les résines amères du houblon sont difficiles à extraire, c'est pourquoi une longue cuisson est nécessaire pour les solubiliser. La cuisson permet aussi de coaguler les protéines du malt et favoriser la limpidité et stériliser le moût.

On peut aussi ajouter d'autres produits aromatiques (sucres, épices, ingrédients divers), en fonction du type de bière. Chaque brasseur a sa recette secrète, ce qui fait l'unicité de sa bière. Les épices les plus populaires sont la coriandre, l'écorce d'orange, le gingembre, l'anis, la réglisse et la cannelle. Dans certains cas ce sont des ingrédients atypiques comme la châtaigne, la noix, le cacao, le chanvre, des fleurs, des herbes...

- **Le refroidissement du moût**

Après ébullition le moût encore trouble contient des résidus de houblon et de protéines qui décantent au fond de la cuve. Il va être pompé par le haut de la cuve afin d'être séparé des

résidus solides. Une élimination du trouble à froid est souhaitable dans une limite maximale de 70 à 80%, car au-delà, les bières ont souvent une mauvaise tenue de mousse et peu de goût.

L'élimination de troubles et de résidus peut se faire par centrifugation (cuve Whirlpool).

Le refroidissement du moût se fait dans des échangeurs à plaques à contre courant d'un liquide réfrigérant. Une aération du moût est pratiquée en sortie d'échangeurs afin que l'oxygène ait le temps de se dissoudre avant la fermentation (JEANTET *et al.*, 2007).

Le moût est habituellement aéré ou oxygéné afin de fournir de l'oxygène pour la levure dans les premières étapes de la fermentation (BRIGGS *et al.*, 2004).

2.3 La fermentation

Le moût est transféré en cuve de fermentation puis il estensemencé avec une levure à bière. Il existe 2 méthodes de fermentation :

- La fermentation haute

Se déroule à une température entre 15-25°C pendant deux à cinq jours. C'est la méthode de fermentation la plus ancienne et la plus courante. Les bières de fermentation haute sont appelées "**ales**". La levure utilisée appartient à l'espèce *Saccharomyces cerevisiae*. A la fin de la fermentation, les levures montent en surface. Le recyclage des levures est effectué en utilisant la mousse accumulée en surface. Les cellules sont lavées et stockées au froid avant leur réutilisation.

- La fermentation basse :

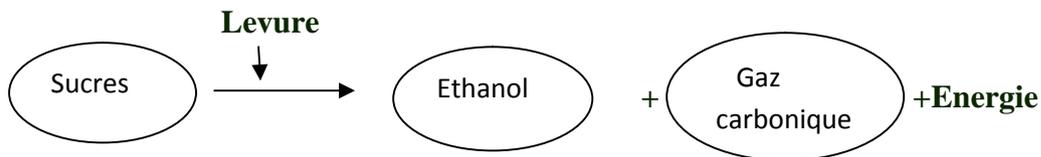
Se déroule à une température d'environ 12°C. C'est un procédé plus récent. L'espèce *Saccharomyces uvarum*, levure de la fermentation basse, est utilisée pour la production industrielle de la bière.

Cette fermentation se déroule en deux étapes à savoir: la fermentation primaire et la fermentation secondaire.

- La fermentation primaire permet la croissance de la levure et donc la transformation des sucres du moût en alcools et la réduction du taux de diacétyle (métabolite secondaire néfaste à la qualité organoleptique de la bière).
- La fermentation secondaire est l'étape de maturation de la bière.

Plusieurs facteurs dont la température et l'état physiologique des levures influencent les durées de fermentation primaire et donc la qualité organoleptique de la bière (LODOLO *et al.*, 2008).

Les bières de fermentation basse sont appelées "**lager**".



- **Récolte de la levure**

La décantation de la levure à la fin de la fermentation primaire est nécessaire pour réduire au minimum la charge sur le milieu du filtrage. Cette opération permet d'empêcher l'arrêt du métabolisme de la levure ainsi que son autolyse et fournir une source de levure pour le moût suivant. L'autolyse de la levure dépend de la température et de la souche utilisée. La levure restera en bon état aux températures froides. Ainsi, la séparation de la bière et de la couche de sédiments de levure à la fin de la fermentation primaire est importante, particulièrement quand cette dernière est effectuée aux températures élevées. Plusieurs mauvais goûts de la bière sont décrits comme « goût de levure » qui sont dus à l'excrétion des acides gras par la levure; un processus qui est accéléré à des températures élevées (GODAMMER, 2005).

- **Garde**

La bière produite lors de la fermentation dite "bière verte" sera transférée en cuve de garde pour subir une fermentation pendant quelques semaines à température plus faible. Ceci permet à la bière de s'affiner, laisse le temps aux levures de finir leur travail et aux particules solides de décanter en fond de cuve ce qui clarifie la bière.

Après la période de garde, la bière est brillante et limpide, dans beaucoup de cas elle est en plus centrifugée afin d'extraire les derniers résidus solides et la levure. Ensuite elle est envoyée vers la chaîne de soutirage.

2.4 Filtration

Les consommateurs s'attendent non seulement à un goût impeccable mais également à une boisson claire et mousseuse.

L'étape de filtration a un triple but :

- Clarifier la bière pour la rendre translucide
- Diminuer la charge en microorganismes en retenant la plus grande partie des bactéries éventuellement présentes et des levures subsistantes en fin de garde.
- Stabiliser la bière par rétention des complexes protéines-polyphénols, des colloïdes qui formeraient rapidement un trouble, ainsi que des polysaccharides et des protéines peu solubles.

La filtration peut être réalisée en filtration frontale, à l'aide de filtre à plaque (filtre presse) ou de filtre à Kieselguhr.

2.5 Le conditionnement

Après la fermentation la bière est désormais bonne à être soutirée, c'est-à-dire mise en bouteilles, en cannettes ou en fûts.

Le conditionnement en bouteilles est le plus courant. L'embouteillage est souvent réalisé sur une chaîne automatisée. On nettoie les bouteilles vides en les faisant tremper dans plusieurs bassins et en injectant sous pression une quantité d'eau et de produit stérilisant. Une fois propres elles sont remplies de bière et on les capse immédiatement.

Les bouteilles vont être habillées d'étiquettes, de contre étiquettes et de collerettes puis les différents conditionnements vont être emballés pour la distribution. Les brasseries conditionnent aussi souvent la bière en cannettes et en fûts pour alimenter les débits de boissons.

Dans les pays où le système de consigne est de rigueur, les brasseries peuvent réutiliser environ quinze à vingt fois les bouteilles de bière. Ensuite, ils les font refondre pour en refaire des nouvelles. Les bouteilles de bière sont souvent brunes car cette couleur absorbe la plupart des longueurs d'onde de la lumière qui pourraient oxyder la bière et dégrader le houblon. Problème qu'il n'est pas rare de trouver quand les conditions de stockage en magasin ne sont pas bonnes (stocks au soleil, sous les néons des rayonnages).

➤ Pasteurisation

Selon **Nicolas Banko**, la pasteurisation est un procédé qui consiste à chauffer, pendant quelques minutes, un liquide à des températures de **55** à **77°C**. Elle se fait en l'absence de l'air.

Cette méthode permet de détruire les bactéries pouvant causer l'acidification de la bière. La pasteurisation n'altère ni la composition, ni la saveur, ni la valeur nutritive de liquide, tout en permettant une meilleure conservation de celle-ci. Les bières légères sont généralement pasteurisées par un procédé UHT (Ultra High Température) semblable à celles des laiteries. Cette technique est de moins en moins utilisée.

Les bières plus élaborées sont plutôt pasteurisées avant le conditionnement. Il est à noter que la pasteurisation peut être réalisée en bouteilles ou en vrac. Après le capsulage, les bouteilles sont trempées dans une eau de plus en plus chaude, jusqu'à **65** à **75°C**. Elles séjournent à cette température pendant **20** à **30minutes** puis elles sont refroidies par de l'eau de plus en plus froide.

Cette méthode, qui a l'avantage de pasteuriser les liquides dans leurs bouteilles d'expédition

1. Processus de fermentation alcoolique (éthanolique)

La fermentation provient d'une décomposition incomplète des substances organiques complexes en molécules plus simples sous l'action d'enzymes ; l'accepteur final des électrons et protons est une substance organique oxydable, qui est le pyruvate (**Bourgeois et Larpent, 1989**).

Dans le procédé de fabrication de la bière, les levures traversent deux phases, aérobie puis anaérobie. La a pour principal objectif d'augmenter le nombre cellulaire ; en effet, une certaine quantité de levures inoculée dans un milieu riche en nutriments et en présence d'oxygène passeront rapidement à une phase exponentielle de croissance. Pour obtenir un bon rendement en alcool à la fin de la fermentation il faut donc avoir une quantité importante de levure, la phase aérobie est indispensable pour produire certains composés utiles pour le développement de la levure tel que : les stérols (**Beaudet et al., 2000**).

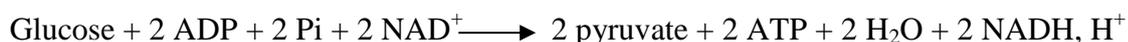
1.1 Métabolisme de la levure

Les levures permettent la formation d'éthanol et de gaz carbonique, ainsi que des dégagements de chaleur à partir de glucose dans les conditions d'anaérobiose

➤ La glycolyse

La voie de la glycolyse correspond à une série de réactions catalysées par des enzymes qui dégradent une molécule de glucose (6 carbones) en deux molécules de pyruvate (3 carbones). Elle produit également de l'énergie libre sous forme d'ATP.

Le bilan global de la glycolyse est :



A la fin de la glycolyse, une réaction chimique est catalysée par une enzyme afin de transformer le pyruvate en alcool et en CO₂.

➤ Métabolisme énergétique

Pour produire de l'énergie, les levures utilisent deux processus différents : la respiration et la fermentation alcoolique.

Les levures utilisent la respiration en milieu aérobie (présence de dioxygène). Ce

métabolisme sert à produire des molécules d'ATP (adénosine tri-phosphate), source d'énergie de la cellule pour la synthèse d'enzymes.

Le pyruvate donne deux acétyl-CoA qui rentrent dans le cycle de Krebs (figure 4), qui est le carrefour des voies cataboliques et anaboliques ; il est donc décarboxylé en acétyl-CoA qui rentre dans le cycle, lequel produit chaque tour de cycle 2 moles CO₂; 3 moles NADH, H⁺ ; FADH, H⁺. (Bourgeois et Larpent, 1989)

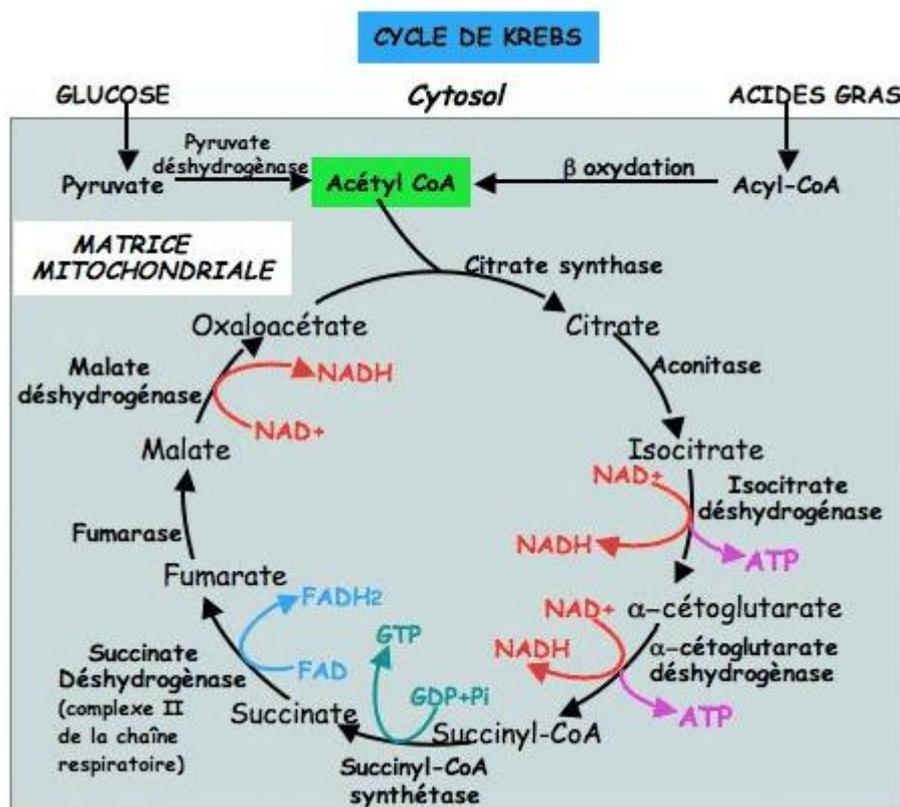
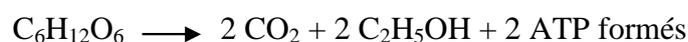


Figure 4 : Cycle de KREBS (FREEMAN, 2004).

➤ Métabolisme fermentaire

Les levures permettent la formation d'éthanol et de gaz carbonique, ainsi que des dégagements de chaleur à partir de glucose dans les conditions d'anaérobiose.

L'équation de la réaction chimique se présente sous la forme :



Lors de cette fermentation, des produits secondaires sont aussi formés comme le glycérol (composant important des graisses et des huiles). Dans les produits de la réaction

chimique, on remarque aussi la présence d'ATP (adénosine triphosphate). L'ATP est une molécule permettant à l'organisme de fournir de l'énergie aux réactions chimiques. Les levures favorisent la fermentation, produisent entre autre l'éthanol et le glycérol.

1.2 Facteurs influençant la fermentation

- **La température :**

En général l'augmentation de la température stimule l'activité métabolique et augmente la vitesse de consommation des sucres et l'absorption des acides aminés ; à une température de 50°C commence la destruction des cellules. Les températures utilisées diffèrent selon le type de fermentation :

- Pour la fermentation haute : 15 à 22°C
- Pour la fermentation basse : 6 à 15°C

Pour éviter les effets néfastes de la température sur l'oxydation de certains éléments dans la bière on utilise des températures en dessous des températures optimales.

Dans un tank de fermentation les températures sont contrôlées par rapport à l'activité de la levure ; afin de permettre une croissance contrôlée, la température est augmentée progressivement jusqu'à 12-14°C, température à laquelle la cellule est métaboliquement active, ensuite la température diminue graduellement afin d'arrêter la fermentation et éviter le phénomène d'autolyse et permettre la décantation de la levure.

- **L'oxygénation du moût (aération)**

La levure de bière préfère un métabolisme fermentaire même en présence d'oxygène, mais ce dernier intervient au cours de la première phase pour produire l'énergie nécessaire au démarrage de la croissance, à la synthèse des stérols et d'acide nicotinique et préparer la levure pour le métabolisme fermentaire ; l'air est aussi une source d'oxydation des acides gras insaturés dans la bière il faut donc respecter sa concentration dans le milieu.

- **Effet du pH**

Les levures abaissent le pH en excréant des acides organiques et du CO₂ qui se dissout dans le milieu liquide. L'optimum de leur croissance est situé entre pH 4,5 et 6,5 et l'abaissement du pH reflète l'activité des levures (WILLAERT *et al.*, 2006).

- **Effet de la pression**

Selon NORDSTEDT *et al.*, Et MIEDANER *et al.*, Cité par HILARY(1992), quand la pression augmente, la synthèse d'acétate d'ester diminue. Toutefois, selon ce même auteur quand la pression est augmentée, la croissance de la levure est réduite, et par conséquent la disponibilité de l'acetyl CoA pour la synthèse des esters est aussi réduite.

1.3 Produits de la fermentation :

Parallèlement à la transformation des sucres en alcool, la levure produit une grande variété de composés volatils et génèreront des arômes

Les principaux composés volatils synthétisés par la levure sont des aldéhydes, des alcools supérieurs, des esters d'acétate ou encore esters d'alcools supérieurs. D'autres composés aussi sont produits par les levures comme les alcools supérieurs.

➤ **Les alcools**

Environ 45 alcools ont été identifiés dans la bière. Toutefois, les plus importants sont l'éthanol, le n-propanol, l'isobutanol, le 2-methyl-1-butanol, le 3-methyl-1-butanol et le phenyl éthanol. La plupart des alcools sont dérivés du métabolisme des acides aminés et leur production dépend de plusieurs facteurs, la température, la souche utilisée, la teneur du moût en azote et en sucres (ROGER *et al.*, 2006).

➤ **Dioxyde de carbone**

Dégagé lors de la fermentation, le dioxyde de carbone permet d'offrir à la bière son aspect pétillant et sa mousse. Selon GODAMMER (2008), le niveau de CO₂ dissous dans la bière après la fermentation primaire varie en raison d'un certain nombre de paramètre tels que la température, la pression, la levure, le type de cuve de fermentation, le moût et la clarté

initiale. Sa teneur dans la bière est d'environ 5,5g/l.

➤ Les composés soufrés

Ces composés peuvent provenir du métabolisme de la levure ou des sulfites dans les eaux de brassage. Le soufre rentre dans la biosynthèse des protéines, des vitamines et des cofacteurs. Les principaux composés soufrés produits par la levure sont : le dioxyde de soufre et l'hydrogène sulfurés qui proviennent de la biosynthèse de la cystéine et de la méthionine. A l'excès, ils donnent un mauvais gout.

Les facteurs pouvant favorisés la formation de ces composés sont : la composition du substrat, l'état physiologique des levures, la présence de zinc, de cuivre et de fer ; l'autolyse des levures entraîne aussi une augmentation par dégradation des acides aminés soufrés.

➤ Aldéhydes et cétones

L'acétaldéhyde est le plus important, il est formé dans la voie de synthèse d'alcool par décarboxylation des pyruvates. La plus grande quantité de ceux-ci est réduite en éthanol, la partie restante est oxydée en acides alpha-acétolactiques.

Les paramètres qui influencent la production d'alcool sont les mêmes que ceux qui agissent sur la formation des aldéhydes. Quand la réaction de réduction par l'alcool déshydrogénase est ralentie une quantité excessive d'acétaldéhyde est accumulée.

➤ Esters

Les esters sont produits par des réactions enzymatiques entre les dérivés d'acétyl-CoA, d'acides gras et les alcools libres les plus abondants. Ils sont représentés par l'acétate d'éthyle, l'acétate iso amylique et l'acétate de propyle ; Leur formation dépend de la disponibilité en acétyl-CoA et en alcools ainsi que la vitesse d'estérification. (**Levereau et Bouix, 1993**).

2. Production d'arômes

La flaveur de la bière est le résultat d'une interaction complexe entre des centaines de produits chimiques, du goût et des récepteurs olfactifs. Les composés qui donnent le goût peuvent être détectés directement sur la langue, par contre l'arôme se réfère à des composés volatils qui peuvent être détectés soit par le nez ou par voix retro-nasale au fond de la bouche (VANDERHAEGEN *et al.*, 2006).

2.1 Les composés volatils responsables de la saveur de la bière

Durant la fermentation, les cellules de la levure produisent une large gamme de substances aromatiques qui affectent considérablement la saveur complexe des boissons alcoolisées fermentées. Ces métabolites sont souvent formés en petite quantité, mais leur concentration détermine l'arôme distinct de la bière. Les composants de saveur produits par la fermentation des levures peuvent être divisés en cinq groupes principaux :

- Molécules soufrées ;
- Alcools supérieurs ;
- Acides organiques ;
- Esters volatils ;
- Composés carbonylés.

2.1.1 Les alcools supérieurs

Parmi les métabolites secondaires, les alcools supérieurs sont produits par la levure avec des concentrations élevées. Ceux qui ont un impact sur l'arôme de la bière sont : n-propanol (solvant); isobutanol (alcool) ; phenyl éthanol (florale) (SAERENS *et al.*, 2008). La régulation de la biosynthèse des alcools supérieurs est très complexe, puisque ces derniers peuvent être synthétisés comme sous-produits du catabolisme d'acide aminé ou par l'intermédiaire du pyruvate dérivé du métabolisme des hydrates de carbone (STEWART, 2003).

- **Synthèse des alcools supérieurs**

La première étape dans la synthèse d'alcools supérieurs implique la synthèse d' - cétoacides, qui sont formés par la voie catabolique des acides aminés. La première étape de

cette voie est une transamination catalysée par des amino-transférases cytosoliques ou mitochondriales. Le pyruvate décarboxylase transforme l' α -cétoacide en aldéhyde correspondant, et l'alcool déshydrogénase catalyse la réduction NADH-dépendante de cet aldéhyde en alcool (Swiegers et al., 2005).

La plupart des alcools supérieurs peuvent aussi être formés à partir du glucose (métabolisme carboné). Par exemple, l' α -cetoisocaproate, qui est le précurseur de l'alcool isoamylique et un produit intermédiaire dans la synthèse de la leucine, peut aussi être produit à partir de l' α -acétolactate, qui dérive du pyruvate (Ribereau-Gayon et al., 2006).

- **Facteurs influençant la formation des alcools supérieurs**

La production d'alcools supérieurs est directement liée au métabolisme des acides aminés, par conséquent à la croissance des cellules. Ce qui explique l'aération du moût et les températures élevées de fermentation. Les acides gras insaturés et les stérols, causent une production très élevée en alcools supérieurs (VELERO et al., 2002).

La concentration finale des alcools supérieurs est donc déterminée par l'efficacité d'absorption de l'acide aminé correspondant et le taux d'utilisation des sucres du moût. Selon BR NYK et al., (2008), le contrôle de la fermentation peut être bien équilibré par le choix d'un mécanisme approprié en tenant compte de la composition du moût (acides aminés, lipides, zinc) et des conditions de fermentation (température, aération, temps de séjour). Le niveau de fermentescibilité des sucres du moût peut également mener à une augmentation de certains alcools supérieurs (STEWART, 1999).

2.1.2 Les esters

Bien que les esters volatils soient présents seulement en traces dans la bière, ils sont extrêmement importants pour le profil de saveur. Les esters les plus importants sont : l'acétate d'éthyle (dissolvant), l'acétate d'isoamyle (banane), l'hexanoate /l'octanoate d'éthyle (pomme aigre) et l'acétate de phenyl éthyle (rose, miel) (VERSTREPEN et al., 2003).

- **Synthèse des esters**

Les levures sont responsables en grande partie de la formation des esters dans la bière. Cette caractéristique constitue d'ailleurs un critère déterminant du genre de levures. Les esters peuvent être formés soit par estérification directe à partir de l'acide acétique et de l'alcool présent dans le milieu, soit par un mécanisme intracellulaire avec diffusion des esters formés dans le milieu extérieur (De PIRO, 2007; SAERENS et al., 2008).

Des expérimentations, conduites en laboratoire avec *Saccharomyces cerevisiae* fermentant en aérobiose un milieu glucosé, permettent de constater que l'estérification directe n'intervienne que pour une très petite part dans la formation des esters, en effet :

- La vitesse de formation de l'acétate d'éthyle pendant la période la plus intense est 1000 fois plus grande que celle d'une réaction d'estérification chimique entre l'alcool éthylique et l'acide acétique en mélange ;
- Au pH optimal (pH=4,5), la concentration finale en ester est plus élevée que la concentration à l'équilibre de la réaction chimique
- La quantité d'acétate d'éthyle formé est indépendante de la quantité d'acide acétique ajouté (BAMFORTH, 2003).

- **Facteurs influençant la formation des esters**

La formation d'esters est liée non seulement à la souche de la levure utilisée, mais aussi aux paramètres de fermentation tel que la température, le taux de tangage, la pression. En outre, la concentration en composés azotés assimilables, les sources de carbone, l'oxygène dissout et les acides gras ont un impact important sur la cadence de fabrication d'esters, cependant ces paramètres permettent seulement des ajustements aux concentrations finales des esters dans le produit fini (VERSTREPEN et al., 2003).

- **Influence de la souche de levure**

La production moyenne des ester est certainement liée à la souche de levure. Les proportions relatives à chaque individu d'ester produit, diffère considérablement d'une souche à une autre. Ainsi que les paramètres de fermentation, tels que l'oxygène et de la température, les différences de production d'ester entre différentes souches de levure sont dues à des différences dans l'activité ATPase, la souche doit donc être choisie parmi un groupe de souches, afin de trouver la variété qui donne les meilleurs résultats (VERSTREPEN et al.,

2003).

➤ **Facteurs liés à la composition du moût**

- **Influence du taux de substances azotées**

En général, la formation des esters est stimulée par une addition d'azote assimilable, une dilution du moût par solution glucosée entraîne une diminution dans la formation de l'acétate et de caprylate d'éthyle, la formation d'acétate d'isopentyle est moins affectée par une variation de concentration de la source azotée. Ce résultat a une conséquence plutôt négative car c'est ce dernier ester que l'on recherche à réduire en quantité, la composition de la fraction ester varie donc selon la composition en matières azotées (ROGER *et al.*, 2006).

- **Influence de la source carbonée**

La formation des esters est liée à la formation de l'éthanol et donc à la fermentation. Quel que soit le sucre fermenté (glucose, saccharose, maltose), il n'y a pas de différence dans le niveau final d'esters. Cependant, avec le maltose la formation des esters est un peu plus lente (ROGER *al.*, 2006; SAERENS *et al.*, 2008).

- **Influence des lipides**

Des acides gras présents occasionnellement dans le moût ont une forte influence sur la formation des esters. Les acides gras affectent peu la croissance des levures, mais l'utilisation d'acides gras insaturés de configuration *Cis* supprime la formation des esters. Quant aux acides gras saturés, leur rôle est plus complexe. Généralement, ils stimulent plus ou moins la formation des acétates mais les esters éthyliques à chaîne moyenne sont supprimés.

L'effet est très dépendant du mode de dispersion Le mode d'action des acides sur la formation des esters n'est pas encore bien connu (RUPCIC *et al.*, 2010).

1. Présentation de l'entreprise TANGO

La brasserie TANGO fut créée le 11 Mai 1999, elle n'a été construite qu'en Septembre 1999, la 1 ère bouteille de bière est sortie le 01 Mai 2001.

L'usine est située sur la Nationale N°5 à 20 km à l'est d'Alger et à 10 km de l'aéroport international sur une superficie: 38000 M², elle comporte :

- Une salle de brassage : Brassage (150 brassins / mois) et 5 silos de malt (1324 tonnes de malt de type A et de type C).
- Salle des cuves de fermentation : 18 VERAPS (2800HL) et 6 HORAPS (1200 HL) + salle de propagation et de stockage de la levure.
- Une salle de filtration et une salle de préparation des filtres : deux type de filtre le KG et le PVPP, 5 TBF (1100 HL) et 1 TBF (80 HL pour les futs)
- 03 lignes d'embouteillage (bouteilles, canettes et fûts): 3 types de format bouteille : (24 Cl – 25 Cl – 33 Cl), 2 types de format canette (50 Cl & 33 Cl) et des fûts.
- Un laboratoire qui assure le contrôle qualité du processus de fabrication.

La SARL TANGO est une entreprise certifiée **ISO 22000** pour tous ses processus, par le Bureau Veritas International (depuis 9 Juin 2009), et s'inscrit dans une démarche: **Management de sécurité Alimentaire.**

La démarche expérimentale consiste à suivre la production d'alcools supérieurs et d'esters de deux moûts de bières différentes (**Heineken et Tango rouge**) issues de deux malts différents (**Malt A et Malt C**) au cours de la première et de la deuxième fermentation, de nombreux échantillonnages ont été prélevés. Les paramètres de fabrication de la bière ont été évalués simultanément.

1. Echantillonnage

Les différents échantillons ont été prélevés au démarrage de la première fermentation au niveau des cuves horizontales (Horaps) et au niveau des cuves verticales (Veraps). Les prélèvements ont été soigneusement et aseptiquement réalisés au niveau d'un robinet d'échantillonnage situé en bas du tank quotidiennement à la même heure pendant toute la période de séjour.

Les échantillons prélevés dans des bouteilles stérilisées préalablement à l'autoclave, ont été acheminés immédiatement au laboratoire de l'entreprise pour subir les différentes analyses. Une solution de désinfectant (0,25% v/v de Superoxid 15) a été utilisée pour la désinfection lors de l'échantillonnage. La prise des échantillons est effectuée comme suit:

- ✓ Ouvrir le bouchon du bas du robinet
- ✓ Visser le serpentin
- ✓ Ouvrir le robinet et laisser couler l'échantillon dans un sceau
- ✓ Remplir ensuite une bouteille
- ✓ Fermer le robinet, rincer à l'eau
- ✓ Oter le bouchon du haut
- ✓ Rincer avec le désinfectant par l'orifice du haut de la valve
- ✓ Fermer le bouchon du bas et verser la solution du désinfectant dans l'orifice du haut de la valve
- ✓ Visser ensuite le bouchon du haut en laissant du désinfectant dans la valve

- ✓ Rincer à l'eau claire toute la zone et le sol alentour.

2. Méthodes d'analyse

Les différentes méthodes d'analyse appliquées au niveau des brasseries sont celles définies par le comité d'EBC (European Brewery Convention). En effet, ce comité suit constamment le développement des méthodes d'analyse importantes pour les malteries et les brasseries. Tous les dix ans, ce comité publie les nouvelles méthodes d'analyse mises au point dans les domaines de brasserie et de malterie.

Dans ce travail, les analyses ont été effectuées selon les méthodes révisées et publiées par EBC en 2009.

3. Dosage des esters et des alcools supérieurs

Le dosage des alcools supérieurs et des esters se fait par chromatographie en phase gazeuse (CPG). L'objectif des analyses par la CPG, est la détermination des composés volatils présents dans la bière. Les principaux composés analysés sont acétaldéhyde, ethyle acétate, isoamyle acetate, propanol, isobutanol et alcool isoamylique.

Cette méthode s'applique à tous type de bières.

Cette méthode permet de séparer des mélanges gazeux par suite d'équilibres entre une phase gazeuse mobile (gaz inerte N₂, He, Ar,...) et une phase stationnaire qui peut être liquide à haut point d'ébullition.

La figure 5 illustre un schéma d'un chromatographe en phase gazeuse

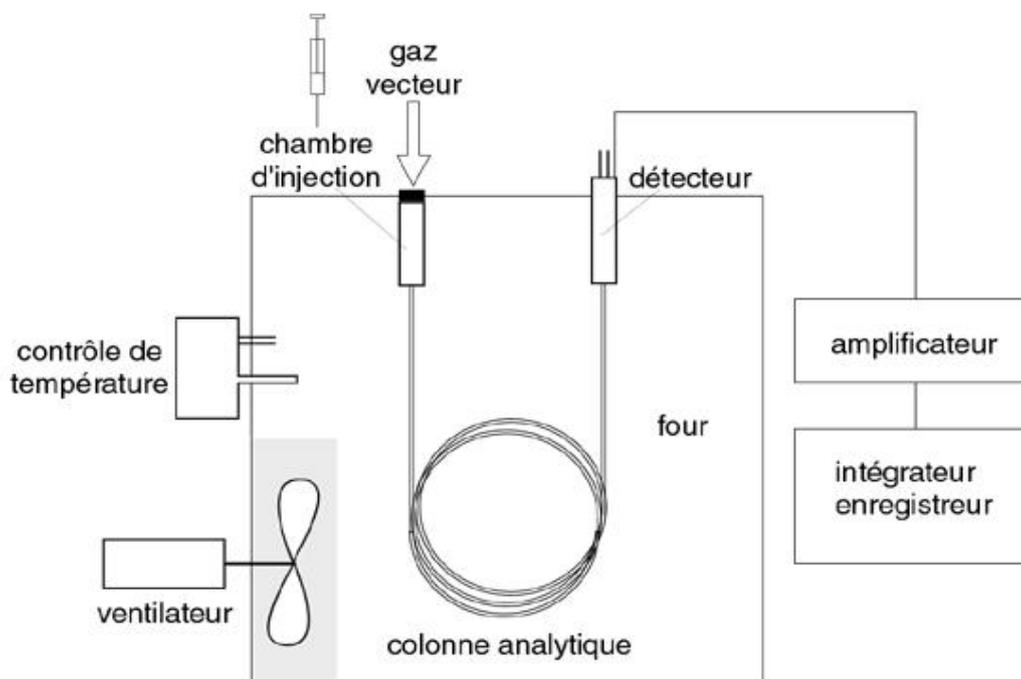


Figure 5 : Schéma d'un chromatographe en phase gazeuse.

❖ Etalonnage de l'appareil

➤ Préparation des solutions

- Solution 1

Dans une fiole de 100 ml mettre 80 ml d'éthanol, ajouter 100 mg d'Hexanomethyle ester puis ajuster à 100ml avec de l'éthanol.

- Solution standard

Dans une fiole de 100 ml mettre 80 ml d'eau distillée, 200 mg butanol (250 μ l) et 1 ml de la solution 1, puis ajuster à 100 ml avec l'eau distillée.

Cette solution se conserve 6 mois au congélateur dans des petits flacons de 2 ml. La solution standard est décongelée avant l'utilisation à 20°C.

- Solution A

Dans une fiole de 100 ml mettre 80 ml d'éthanol, fermer et tarer sous hotte, puis ajouter :

- 160 mg d'éthyle hexanoate ester (éthyle caproate)

- 120 mg ester d'éthyle et d'acide butyrique
- 120 mg de 2-methylpropylacetate (isobutylacetate)
- (Pipeter à l'aide d'une pipette Pasteur goutte par goutte pour avoir la masse voulue)
- Ajuster au trait jaugé avec de l'éthanol pur.

- Solution B

Dans une fiole de 100 ml, mettre 80 ml d'éthanol et ajouter les produits suivant l'ordre de leur volatilité

- | | |
|-------------------------|---------|
| ○ Propanol | 600 mg |
| ○ 2-Methyl-1-propanol | 1400 mg |
| ○ 2-Methyl-1-butanol | 600 mg |
| ○ 3methyl-1-butanol | 2000 mg |
| ○ Ethyl acetate | 1200 mg |
| ○ 3-Methyl butyl acetat | 300 mg |
| ○ 2-methylbutylacetat | 50 mg |
| ○ Acétaldéhyde | 400 mg |

Puis ajouter 5 ml de la solution A et ajuster à 100 ml avec de l'éthanol.

- Solution C : (solution stock)

Dans une fiole de 100 ml, mettre 80ml d'eau distillée et 5ml de la solution B puis compléter au trait de jauge avec de l'eau distillée mélangée bien.

- Dilution de la solution

Prendre 6 fioles de 100 ml (6 échantillons) avec un peu d'éthanol à 5% et procéder comme suit :

- Cal 1 : 1ml de solution C et ajuster à 100 ml avec l'éthanol à 5% (1/100)
- Cal 2 : 2 ml de solution C et ajuster à 100 ml avec l'éthanol à 5% (1/50)
- Cal 3 : 4 ml de solution C et ajuster à 100 ml avec l'éthanol à 5% (1/25)
- Cal 4 : 6 ml de solution C et ajuster à 100 ml avec l'éthanol à 5% (1/16,5)
- Cal 5 : 8 ml de solution C et ajuster à 100 ml avec l'éthanol à 5% (1/12,5)
- Cal 6 : 10 ml de solution C et ajuster à 100 ml avec l'éthanol à 5 % (1/10)

- Préparation des échantillons :

Prendre 5 ml de l'échantillon et 0,1 ml de solution standard (décongelée), ajouter 2,5 de NaCl et fermer le flacon immédiatement. Pour chaque dilution, nous avons pris deux flacons de 20 ml avec leurs bouchons.

Les données relatives aux solutions doivent être mentionnées dans un tableau. La calibration est refaite après 3 mois.

4. Les analyses physico chimiques des moûts :

➤ Mesure du pH

Le pH est la mesure de l'acidité ou de basicité d'une solution. Elle est définie comme le logarithme négatif de la concentration en ions hydronium et varie de 0 à 14 dans l'eau.

$$p \quad \text{Potentiel d'hydrogène} \quad \log [H_3O^+]$$

La mesure précise du pH d'une solution nécessite l'utilisation d'un pH-mètre étalonné qui mesure une différence de potentiel entre deux électrodes : une électrode de référence dont le potentiel est constante et indépendante du pH de la solution (à la température constante) et une électrode de mesure dans le potentiel est en fonction du pH de la solution.

➤ Dosage de la densité

La mesure de la densité de la bière a été effectuée à l'aide de l'appareil ANTON PAAR calibré. Elle est basée sur le calcul du rapport entre l'amplitude de ses oscillations et sa villosité. Les résultats de la mesure sont affichés sur l'écran de l'appareil.

La calibration de l'appareil ANTON PAAR est réalisée selon les étapes suivantes :

- Presser sur menu
- Ajustement « adjust »
- Density + VOS (air, water) s'affichent
- Presser OK pour calibration : air
- Mettre une cellule d'eau bi distillée
- Presser « Start »
- Attendre la fin de calibration
- Presser « Save »

➤ Détermination de la couleur

La couleur des échantillons de moût a été déterminée par des méthodes spectrophotométriques.

- **Principe**

Détermination de la coloration en unités EBC à l'aide d'un **spectrophotomètre** à 430 nm.

- **Mode opératoire**

Les échantillons de moût sont filtrés sur kieselguhr

Rincer les cuvettes avec le filtrat et les remplir

Effectuer la lecture à 430 nm contre l'eau distillée

- Expression des résultats

$$\text{Couleur (EBC)} = \text{DO430} \times 25$$

EBC : European Brewery Convention

5. Le nombre cellulaire

Le nombre de cellules de levure nous renseigne sur la densité cellulaire des échantillons de mout. Le nombre de cellules est déterminé par un **appareil appelé Hématocytomètre**.

Matériel : - Microscope

- Pipette stérile.
- Echantillon à analyser.
- Cellule de THOMAS ou cellule de MALASSEZ.

a. Description de la cellule de THOMAS :

La cellule possède 16 rectangles, dans chaque rectangle on observe 16 carrés.

Chaque carré élémentaire à 0.05mm de côté, soit une surface de 0.0025mm^2

Chaque rectangle correspond à $0.2\text{mm} \times 0.2\text{mm} = 0.04\text{mm}^2$.

L'écartement entre la lame et la lamelle est de 0.1 mm. Le total des cellules visibles sur un tel rectangle est compris dans : $0.04\text{mm}^2 \times 0.1\text{mm} = 0.004\text{mm}^3$.

b. Mode opératoire :

Recouvrir d'une lamelle rigide, préalablement humectée avec l'haleine pour la coller sur la chambre de comptage.

Compter 10 rectangles : $0.004 \text{ mm}^3 \times 10 = 0.04\text{mm}^3$

$$0.004 \text{ mm}^3 \times 25 = 1 \text{ mm}^3$$

$$1\text{mm}^3 \times 1000 = 1000 \text{ mm}^3 = 1\text{ml}$$

$$\ddot{y} \quad 10 \text{ rectangles} \times 25\,000 \times \text{facteur dilution} = \text{cellules/ml}$$

➤ **Mesure de la pression et de la température :**

Les valeurs de la température et de la pression ont été obtenues par des détecteurs en ligne, placés au niveau du tank. Des signaux électriques sont transformés automatiquement en valeurs numériques que l'on peut lire sur micro-ordinateur.

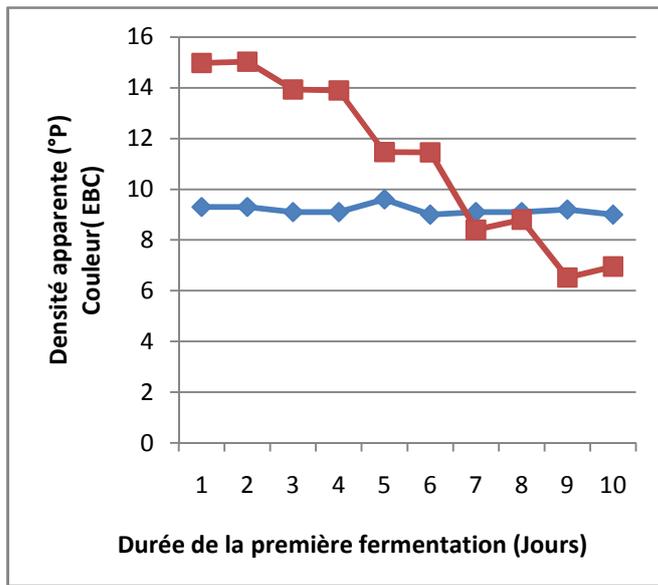
1. Détermination du profil de fermentation:

Afin d'apprécier le profil de fermentation des moûts nous avons déterminé l'évolution de quelques paramètres essentiels de fermentation.

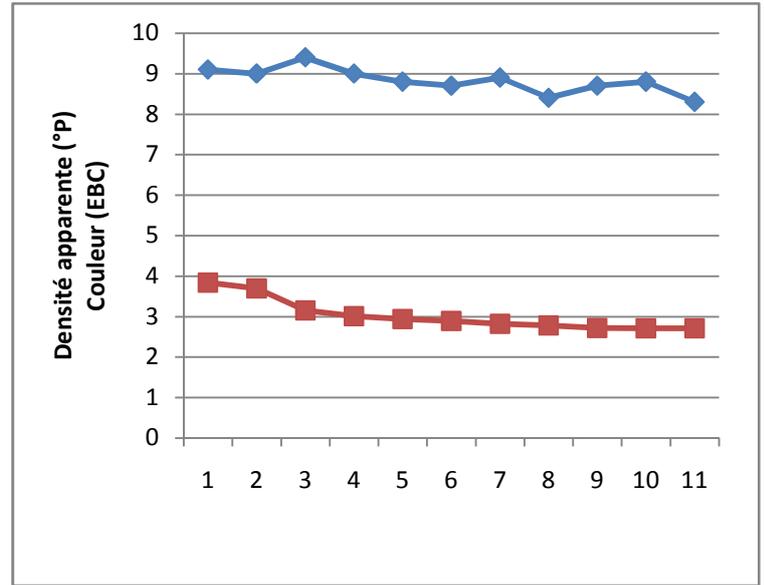
1.1 Variation de la couleur et de la densité apparente :

Les courbes montrant les fluctuations de la couleur et de la densité apparente lors de la première et de la deuxième fermentation des mouts issus de **malt A** et de **malt C** sont indiquées dans la figure 6.

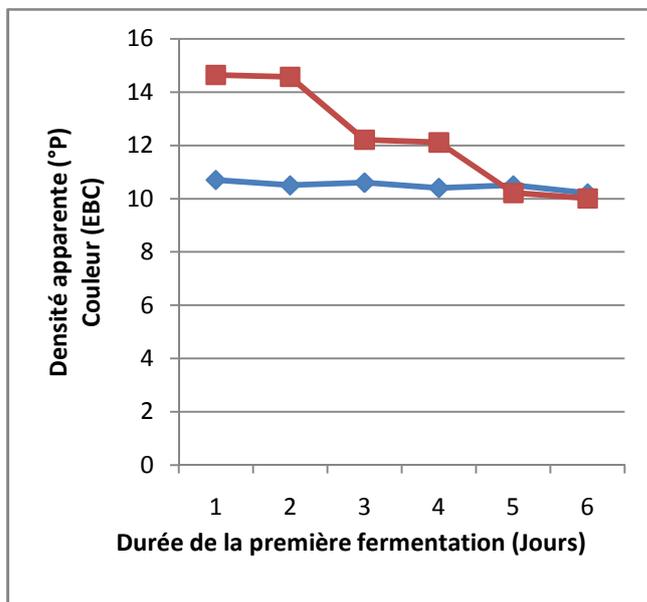
(a): Fermentation primaire (Malt A)



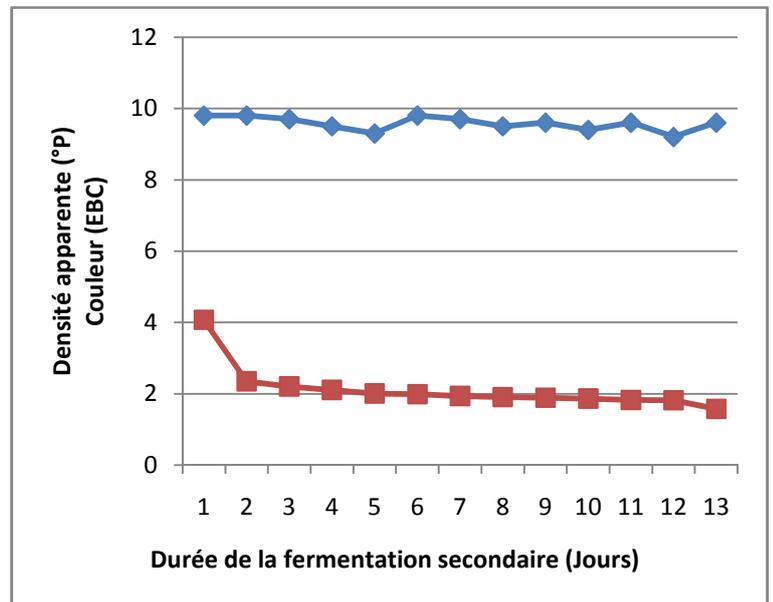
(b): Fermentation secondaire (Malt A)



(c) : Fermentation primaire (Malt C)



(d) : Fermentation secondaire (Malt C)



: Densité apparente ; : Couleur

Figure 6 : Variations de la densité apparente et de la couleur au cours de la première et la deuxième fermentation (malt A et malt C) lors de la fabrication de la bière.

Les résultats de la Figure 6(a) montrent que l'intensité de la couleur des moûts provenant du malt A diminue, et que la densité apparente décroît progressivement lors de la première fermentation.

Nous avons constaté aussi une légère diminution de la densité apparente qui atteint la valeur de 2,71 °P, quant à l'intensité de la couleur, diminue aussi, (figure 6 (b)).

A partir des résultats de la Figure 6(c), nous avons constaté une diminution de l'intensité de la couleur des moûts issus de malt C, et une diminution progressive de la densité apparente, qui, décroît de 14,64 °P à une valeur voisine de 10,01 °P lors de la première fermentation.

Il ressort des courbes de la figure 6(d), que pendant la fermentation secondaire du moût de malt C, la densité apparente décroît jusqu'à atteindre 1,58 °P et l'intensité de la couleur varie mais est proche de la stabilité.

La chute de la densité apparente indique une bonne utilisation des substrats (sucres) par la levure pour la croissance cellulaire et la production de métabolites comme l'éthanol.

En effet, **NEDOVIC et al., (2005)**, ont rapporté que la levure mise en culture dans des conditions de milieu convenables consomme les composés du milieu pour entrer dans sa phase exponentielle de croissance, et provoque une diminution de la densité apparente du moût.

Selon **SHELLHAMMER, (2008)**, les pigments responsables de la couleur de la bière peuvent être adsorbés sur les parois des cellules de la levure ce qui peut conduire à la diminution de l'intensité de la couleur de la bière. Ces observations sont en accord avec la croissance importante de la densité cellulaire (nombre de cellules de levure).

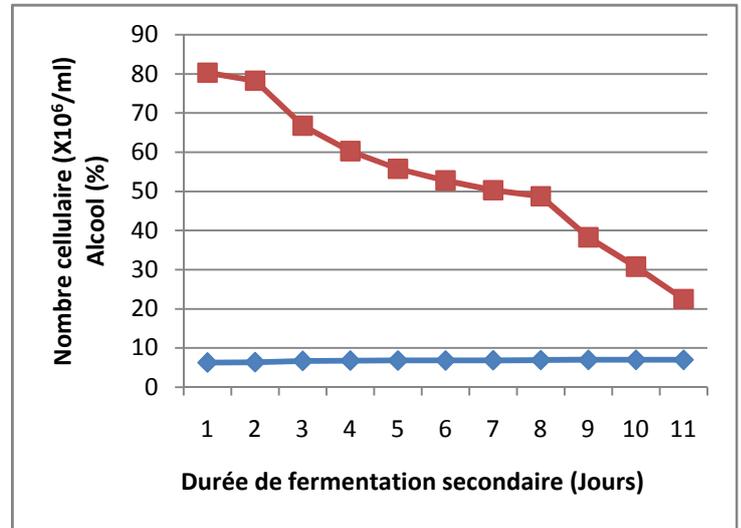
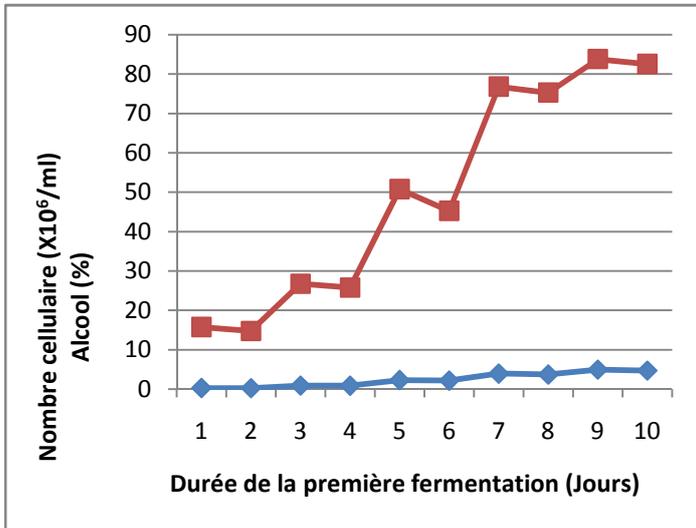
En outre, la réduction de l'intensité de la couleur pourrait être attribuée à la dégradation de pigments colorés essentiellement les mellanoïdines formés par les réactions de Maillard au cours des étapes de maltage et de brassage. **GORISTEIN et al., (2000)**, ont démontré que la dégradation de la couleur de la bière est due au changement de la teneur en acides aminés dans le moût puisque ces mellanoïdines sont obtenus par condensation des acides aminés et des sucres.

1.2 Variation du nombre cellulaire et du degré d'alcool :

Les courbes montrant la tendance générale du nombre cellulaire et du degré d'alcool lors de la première et de la deuxième fermentation des môûts issus de **malt A** et de **malt C** sont indiquées dans les figures 7.

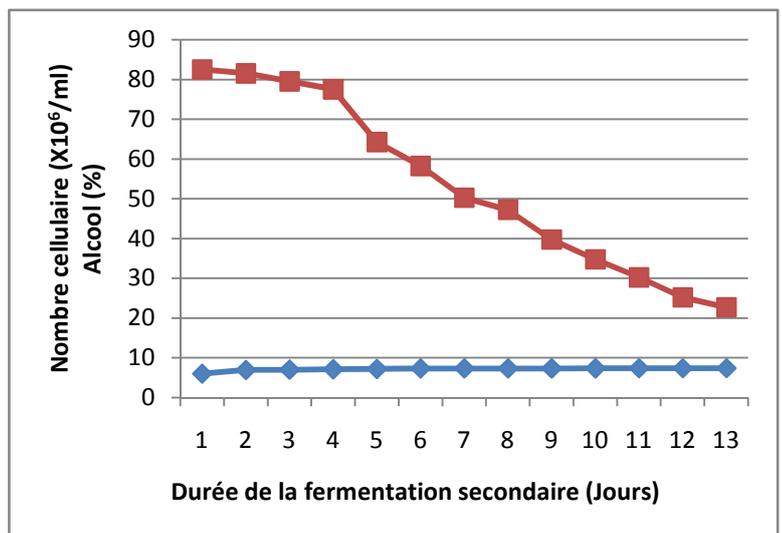
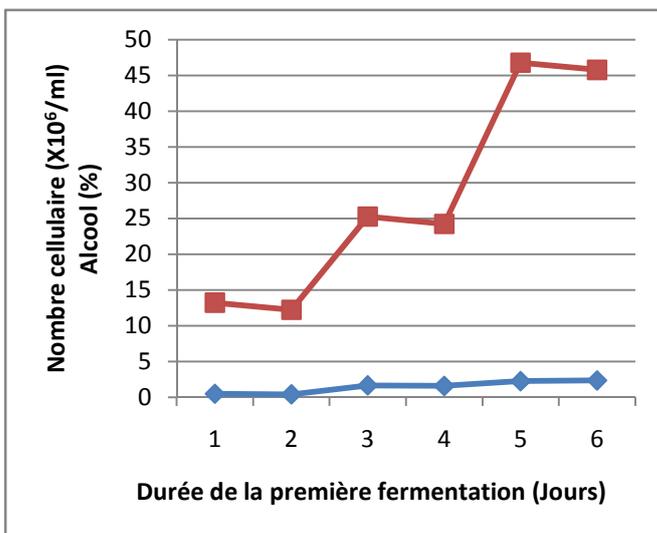
(a) : Fermentation primaire (Malt A)

(b) : Fermentation secondaire (Malt A)



(c) : Fermentation primaire (Malt C)

(d) : Fermentation secondaire (Malt C)



: Nombre cellulaire ; : Alcool

Figure 7 : Variation du nombre cellulaire et du degré d'alcool des moûts séjournant dans les horaps et dans les veraps mis en œuvre à la brasserie TANGO (Malt A et malt C) au cours de la fabrication de la bière.

Selon l'allure des courbes obtenues (figure 7a), il y a eu pendant la première fermentation une croissance exponentielle de la levure dans les moûts, et une augmentation graduelle de la production d'alcool (éthanol). Le nombre cellulaire a augmenté de $15,75 \cdot 10^6$ cellules/ml, le premier jour de fermentation, à $83,75 \cdot 10^6$ cellules/ml, le cinquième jour. Cette croissance importante est due vraisemblablement aux conditions favorables de température restant stable à environ $10,2^\circ\text{C}$ et de nutriments. La production d'alcool a effectivement atteint au cinquième jour de fermentation la valeur maximale de 4,91 %.

Selon les courbes obtenues (figure 7b), il y a eu pendant la fermentation secondaire une décroissance de la levure dans les moûts, et la production d'alcool (éthanol) a cessé d'augmenter, est donc stable. Le nombre cellulaire a chuté à $22,5 \cdot 10^6$ cellules/ml, le onzième jour de fermentation. Cette décroissance importante est due à l'épuisement de nutriments. La production d'alcool a effectivement atteint au onzième jour de fermentation la valeur maximale de 6,98 %.

A partir des courbes obtenues (figure 7c), au cours de la première fermentation, il y a eu une croissance exponentielle de la levure dans les moûts, et une augmentation graduelle de la production d'alcool (éthanol). Le nombre cellulaire a augmenté de $13,25 \cdot 10^6$ cellules/ml, le premier jour de fermentation, à $46,75 \cdot 10^6$ cellules/ml, le troisième jour. Cette croissance importante est due vraisemblablement aux conditions favorables de température restant stable à environ $12,1^\circ\text{C}$ et de nutriments. La production d'alcool a effectivement atteint troisième jour de fermentation la valeur maximale de 2,37 %.

Les courbes obtenues (figure 7d), montrent que pendant la fermentation secondaire une décroissance de la levure dans les moûts, et la production d'alcool (éthanol) a cessé d'augmenter, donc stable. Le nombre cellulaire a chuté de $82,5 \cdot 10^6$ cellules/ml, le premier jour de fermentation à $22,75 \cdot 10^6$. Cette décroissance importante est due à l'épuisement de nutriments. La production d'alcool a effectivement atteint au onzième jour de fermentation la valeur maximale de 7,38 %.

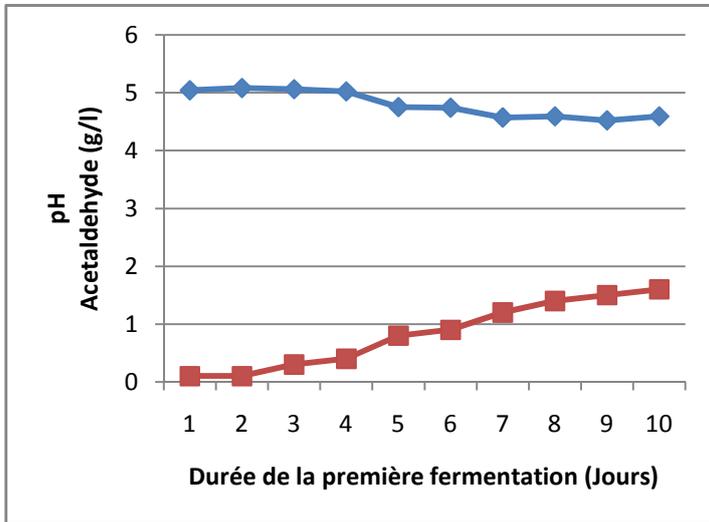
Selon CAMPBELL (2008), l'effet évident de la fermentation alcoolique est la production d'éthanol et le dioxyde de carbone, cependant la fonction biologique de la fermentation est de fournir l'énergie pour la croissance de la levure, donc inévitablement une partie des sucres fermentescibles présents dans le moût est convertie en masse de levure.

6.3 Variation du pH et de la production d'acétaldéhyde :

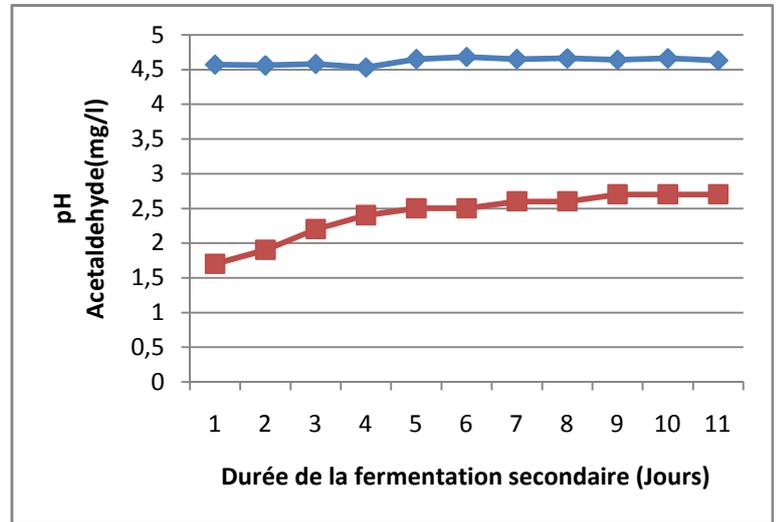
L'acétaldéhyde est un produit intermédiaire important dans la fermentation alcoolique, il est formé par décarboxylation de l'acide pyruvique puis immédiatement réduit en éthanol. Ce composé fournit une indication sur le métabolisme de la levure et donc le processus de fermentation.

Les courbes montrant la variation de la concentration en acétaldéhyde et du pH dans les moûts issus de **malt A et de malt C** pendant la première et la deuxième fermentation sont illustrées dans la figure 8.

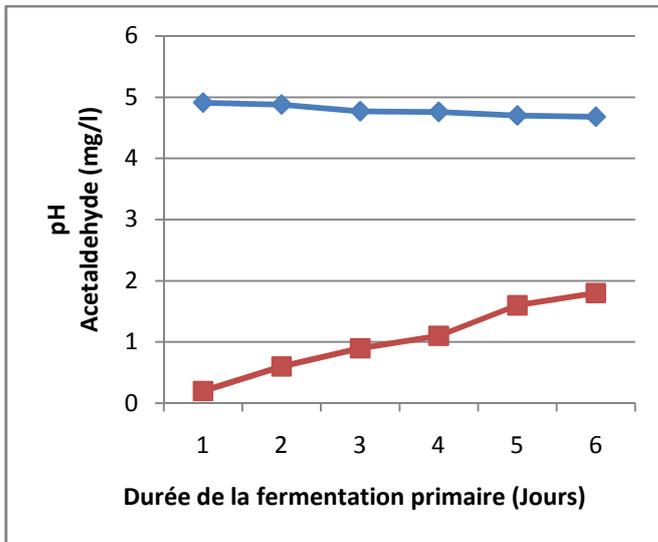
(a) : Fermentation primaire (Malt A)



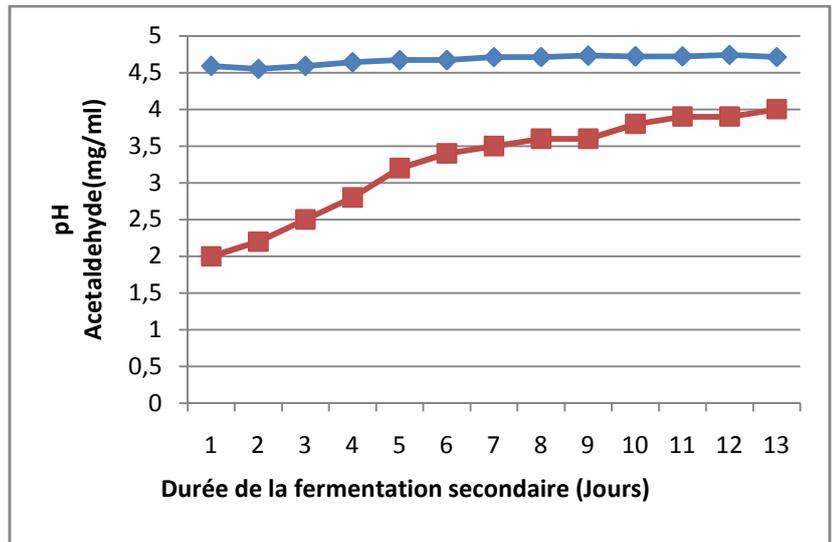
(b) : Fermentation secondaire (Malt A)



(c) : Fermentation primaire (Malt C)



(d) : Fermentation secondaire (Malt C)



: Acétaldéhyde ; : pH

Figure 8 : Evolution de la concentration d'acétaldéhyde et variation du pH dans les moûts en fonction de la fermentation primaire et la fermentation secondaire (Malt A et malt C) lors de la fabrication de la bière.

Selon la tendance de la courbe (Figure 8a), la concentration en acétaldéhyde a augmenté pendant les cinq jours en atteignant une valeur de 1,6 mg/ml. Il ressort aussi de la même figure que le pH des moûts décroît légèrement lors de la première fermentation, il diminue de 5,08 à 4,52.

A partir de la figure 8b nous constatons une légère augmentation du pH au cours de la fermentation secondaire ; l'acétaldéhyde est en hausse en atteignant la concentration maximale de 2,7 mg/ml.

La figure 8c montre que le pH diminue, la valeur maximale atteinte au cours de la fermentation primaire est de 4,68 au bout du troisième jour de la fermentation. Nous avons remarqué aussi une augmentation du taux d'acétaldéhyde atteignant 1,8 mg/ml.

La diminution de pH refléterait l'activité de la levure générant probablement des acides organiques dans le milieu de culture.

En effet, **TOMAS et al., (2002)** ont rapporté que lors de la fermentation, une baisse du pH est observée suite à une production d'acides organiques essentiellement l'acide pyruvique.

La figure 8d indique une augmentation de pH qui atteint la valeur de 4,74 au bout du douzième jour de la fermentation secondaire, et aussi augmentation de l'acétaldéhyde qui atteint la valeur de 4mg/ml.

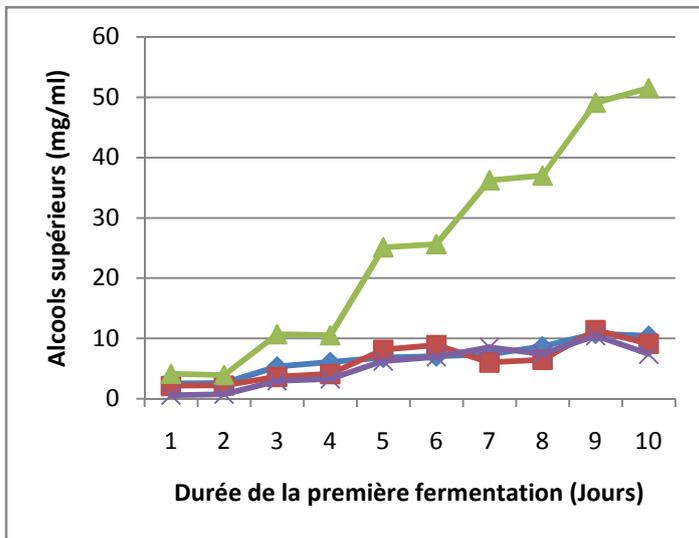
Cette augmentation de pH constatée dans les courbes des figures 8d et 8b peut être expliquée par le phénomène d'autolyse qui désigne l'autodestruction des cellules.

Ces résultats s'accordent avec ceux rapportés par **BOULTON et QUAINS., (2006)** ayant démontré que l'acétaldéhyde se forme pendant la phase de croissance de la levure mais par la suite au cours de la phase stationnaire sa production diminue, son seuil de perception pour le goût est dans la gamme de (10 à 20 ppm). Dans certains cas, l'acétaldéhyde peut persister en donnant à la bière le goût indésirable d'herbe.

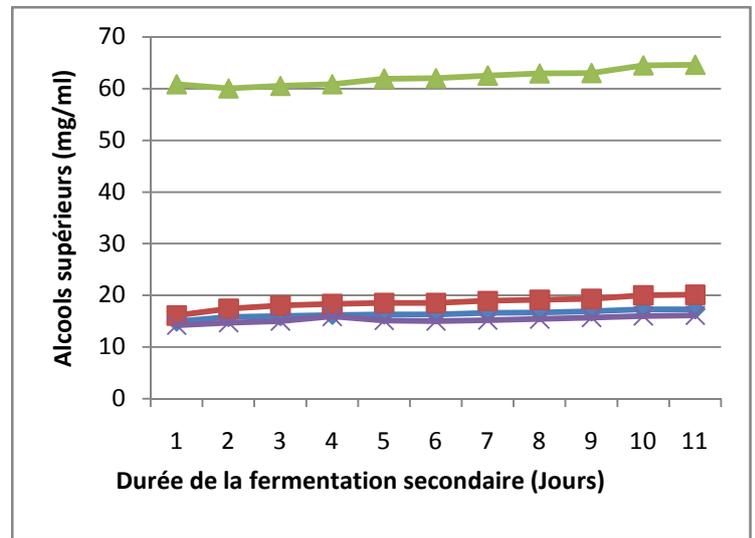
2. Evolution des concentrations en alcools supérieurs :

L'évolution des concentrations en alcools supérieurs pendant les périodes de la première et la deuxième fermentation des moûts provenant du **malt A** et de **malt C** sont indiquées dans la figure 9.

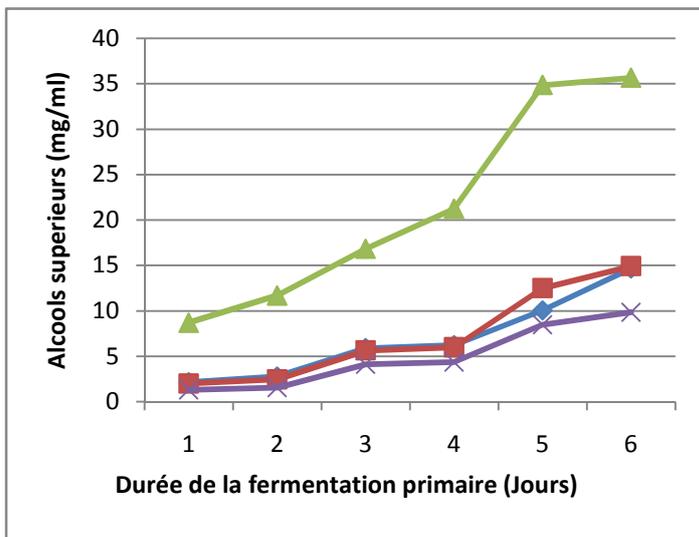
(a) : Fermentation primaire (Malt A)



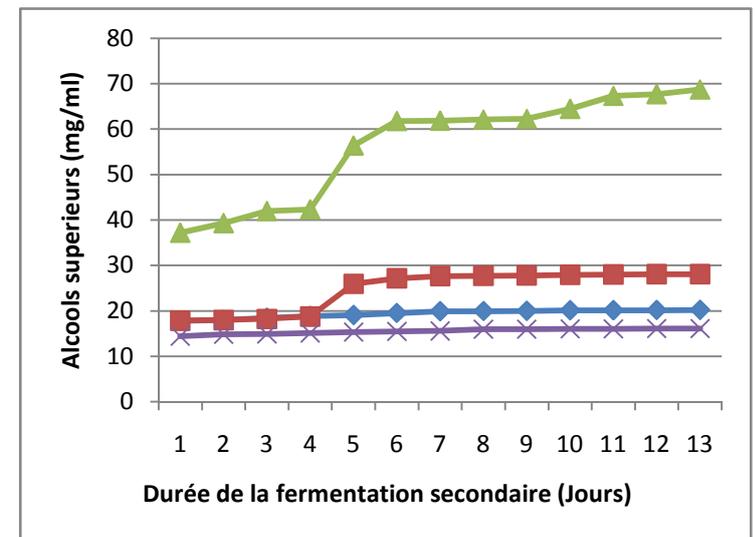
(b) : Fermentation secondaire (Malt A)



(c) : Fermentation primaire (Malt C)



(d) : Fermentation secondaire (Malt C)



△ : 2-methyl-1-propanol ; ■ : Propanol ; ◆ : 2-methyl-1-butanol ; × : 3-methyl-1-butanol

Figure 9 : Evolution des concentrations en alcools supérieurs pendant la première et la deuxième fermentation des moûts issus de malt A et de malt C pendant la fabrication de la bière.

Il ressort de la Figure 9a que les concentrations d'alcools supérieurs s'accumulent pendant toute la période de la première fermentation, les concentrations moyennes sont relativement élevées, soit 10,58 mg/ml pour le propanol, 10,24 mg/ml pour le 2-méthyl-1-propanol, 8,9 mg/ml pour le 2-méthyl-1-butanol et 50,31 mg/ml pour le 3-méthyl-1-butanol.

L'alcool supérieur le plus abondant étant 2-méthyl butanol, dont la concentration moyenne a été estimée à 50,31 mg/ml.

D'après les résultats de la figure 9b la concentration du 3-méthyl-1-propanol et du 3-méthyl-1-butanol ont légèrement augmenté, les valeurs atteintes sont respectivement 64,6 mg/ml et 20,1 mg/ml. Le propanol et le 2-méthyl-1-butanol ont très légèrement augmenté, tendent vers la stabilité, leurs concentrations finales sont 17,3mg/ml pour le propanol et 16,1 mg/ml pour le 2-méthyl-1-butanol.

Il ressort de la Figure 9c que les concentrations des alcools supérieurs s'accumulent pendant toute la période de la première fermentation, les concentrations moyennes sont relativement élevées, soit 10,58 mg/l pour le propanol, 10,24 mg/ml pour le 2-méthyl-1-propanol, 8,9 mg/ml pour le 2-méthyl-1-butanol et 50,31 mg/ml pour le 3-méthyl-1-butanol. L'alcool supérieur le plus abondant étant 3-méthyl-1-butanol, dont la concentration moyenne a été estimée à 50,31 mg/ml.

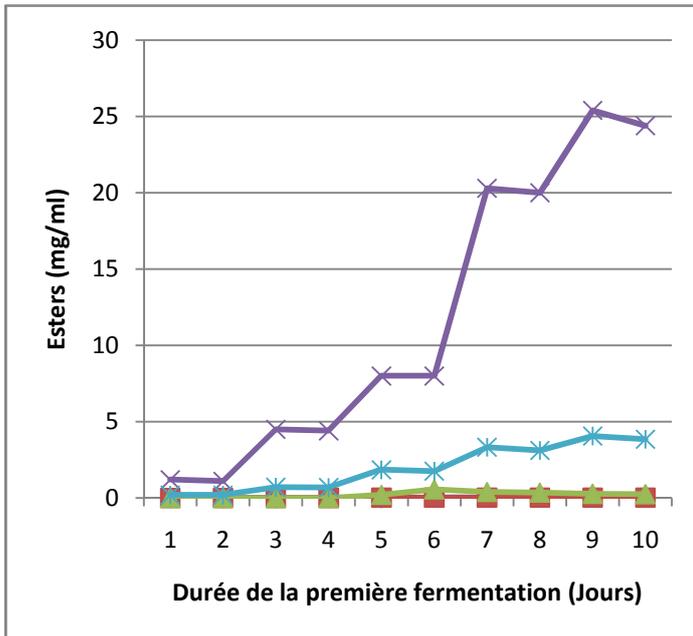
Les courbes de la figure 9d montrent une augmentation de la concentration du 3-méthyl-1-butanol qui atteint la concentration maximale de 68,75 mg/ml, du 2-méthyl-1-propanol qui atteint 28,09 mg/ml, quant au propanol et le 2-méthyl-1-butanol atteignent respectivement les valeurs de 20,22mg/ml et de 16,14 mg/ml.

Selon **KRUGER (1998)**, la production d'alcools supérieurs est directement liée au métabolisme des acides aminés et à la croissance de la levure. A titre d'exemple, le 2-Méthyl-1-Butanol est formé à partir de l'acide aminé Leucine. **BRANYIK et al., (2008)** ont rapporté que la concentration finale en alcools supérieurs est déterminée par le taux d'assimilation des acides aminés précurseurs des alcools supérieurs et par le taux d'utilisation des sucres du moût par les levures. De même, **STEWART et al., (1999)** ont signalé que les niveaux de sucres fermentescibles élevés dans les moûts peuvent conduire aussi à des concentrations élevées en certains alcools supérieurs.

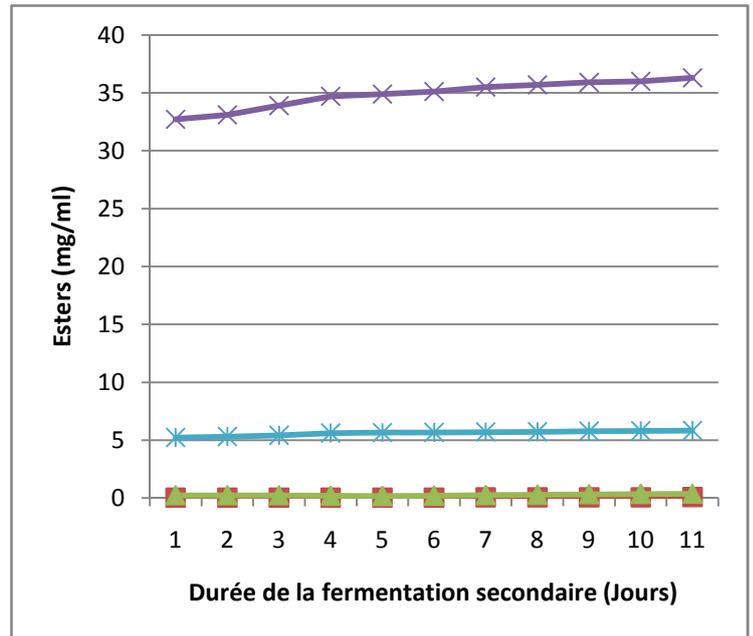
3. Evolution des concentrations en esters :

Les variations de la concentration en esters pendant la première et la deuxième fermentation des moûts issus de **malt A et de malt C** sont illustrées dans la figure 10.

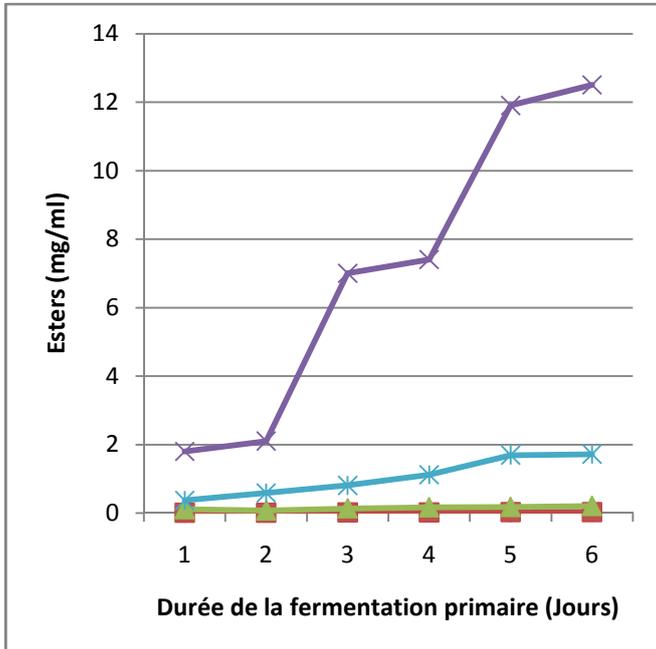
(a) : Fermentation primaire (Malt A)



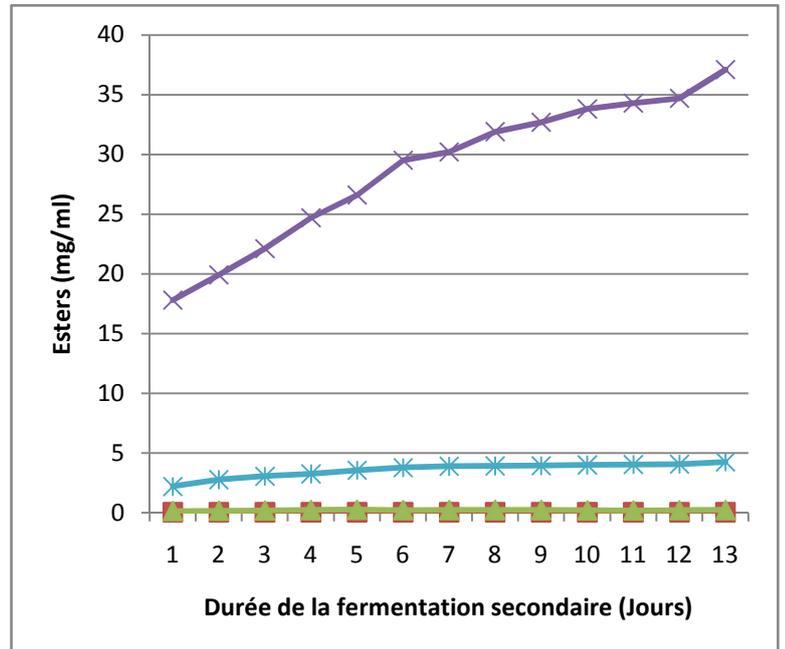
(b) : Fermentation secondaire (Malt A)



(c) : Fermentation primaire (Malt C)



(d) : Fermentation secondaire (Malt C)



: Ethylbutyrate ; : 2-methylpropylacetate ; * : Isoamylacetate ; : Ethylcaproate ; X : Ethylacetate

Figure 10 : Evolution des concentrations en esters pendant la première et la deuxième fermentation (Malt A et malt C) au cours de la fabrication de la bière.

La figure 10a, montre que les esters sont produits dans les moûts à des concentrations très variables. L'ester le plus abondant dans les moûts est l'éthylacétate dont la concentration moyenne est de 24,95 mg/ml, suivi de l'isoamyleacetate dont la concentration moyenne est de l'ordre de 3,95mg/ml. Ces deux esters ont respectivement les saveurs du solvant et de banane. Par contre, les autres esters sont présents dans les moûts à de faibles concentrations, soit 0,04 mg/ml en 2-methyl propyl acetate, 0,02 mg/ml en ethyle butyrate et 0,26 mg/ml en ethyl caproate.

Selon les résultats de la figure 10b, la concentration de l'éthylacetate évolue et atteint la valeur maximale de 36,3 mg/ml, l'isoamylacetate augmente très légèrement. La concentration de l'éthylcaproate est de 0,37 mg/ml, celle de l'éthylebutyrate est de 0,09 et 0,12mg/ml pour le 2-methylpropylacetate sont très faibles, ces concentrations sont très faibles.

Selon les résultats des figures 10c, les esters sont produits dans les moûts à des concentrations très variables. L'ester le plus abondant dans les moûts est l'éthylacétate dont la concentration moyenne est de 12,2 mg/l, suivi de l'isoamyleacetate dont la concentration moyenne est de l'ordre de 1,7 mg/l. Ces deux esters ont respectivement les saveurs du solvant et de banane. Par contre, les autres esters sont présents dans les moûts à de faibles concentrations, soit 0,03 mg/l en 2-methyl propyl acetate et en ethyle butyrate, en dernier 0,19 mg/l en ethyl caproate.

D'après la tendance des courbes de la figure 10d, la concentration de l'éthylacetate augmente significativement et atteint 37,1 mg/ml, l'isoamyacetate qui évolue légèrement, sa concentration maximale est de 4,26 mg/ml ; les concentrations des autres esters sont très faibles, soit 0,23 mg/ml pour l'éthylcaproate, 0,04 pour l'éthylbutyrate et 0,05 pour le 2-methylpropylacetate.

D'après **VANDERHAEGEN et al., (2003)**, les esters produits par la levure résultent des réactions de condensation de l'acetyl coA et des alcools supérieurs, ce qui explique la simultanéité de la production des esters et des alcools supérieurs. Ces réactions de biosynthèse sont catalysées par des enzymes telles que l'acetyl transférase. Cependant, les estérases peuvent aussi influencer la production d'esters par les réactions d'estérification. Par

exemple, l'isoamyl acétate est formé par l'estérification de l'acide citrique avec le 3-méthylbutanol.

LILLY et al., (2000), expliquent la forte proportion en Ethyle acétate par la prédominance en éthanol par rapporte aux autre alcools. Etant donné que L'acétate d'éthyle est issu d'acétylation (estérification par l'acide acétique) avec l'éthanol, cette réaction est catalysée par l'Acetyltransférase :



Des études qui ont été faites par XU et al. 2006 indiquent que la quantité d'esters produite est fortement influencée par la nature du substrat et la souche de la levure menant la fermentation alcoolique.

SAERENS et al., (2008), ont rapporté que deux facteurs sont importants pour la formation des esters : la disponibilité des deux substrats (acetyl coA et les alcools) et l'activité des enzymes (AATase). A titre d'exemple, une aération élevée du moût affecte la synthèse d'esters par la disponibilité réduite de l'acetyl CoA utilisé pour la croissance cellulaire et la synthèse des lipides.

Selon **GUIDO et al., (2004)**, l'augmentation rapide des saveurs démontre que le métabolisme des levures est robuste et le jus de malt était immédiatement utilisé.

Il faut ajouter que dans les procédés de fermentation, la température joue un rôle clé dans la production d'esters et d'autres produits associés à la levure. Des températures basses maintiennent la production d'esters au minimum, alors que les températures élevées augmentent la production d'esters.

Selon **RENGER (2003)**, la fermentation en HORAP permet une amélioration de la production des esters. En effet, la vitesse de croissance de la levure au niveau des HORAPS est très importante, du moment que la surface de contact levure-moût est plus grand.

Conclusion

L'objectif de ce travail était de suivre l'évolution des alcools supérieurs et des esters qui sont responsables du profil sensoriel de la bière au cours des étapes de la fermentation primaire et secondaire des moûts provenant de malts différents au niveau de la brasserie TANGO.

Après avoir comparé les résultats des deux différents types de bière analysés au cours de ce travail, nous avons pu tirer cette conclusion.

L'ensemble des résultats obtenus a montré que les variations de l'activité métabolique de la levure se sont traduites par les fluctuations du pH du moût fermenté et de la teneur en acétaldéhyde. L'intensité de la couleur diminue légèrement.

Lors de la croissance exponentielle de la levure au cours de la fermentation primaire, il y a une production relativement importante de l'alcool (éthanol) observée simultanément avec une chute de la densité apparente, ce qui indique une bonne conversion des substrats dans le moût en éthanol.

Il en ressort aussi que la production d'esters et d'alcools supérieurs, essentiellement l'éthylacetate et le 2-methyl butanol respectivement, évoluent proportionnellement avec la croissance exponentielle de la levure, sachant que les esters représentatifs de la bière sont essentiellement l'isoamyl acetate et l'éthylacetate, ce dernier étant donc présent en concentration plus élevée donnera à la bière la saveur fruitée du solvant.

Afin d'évaluer l'impact de ces esters et alcools supérieurs sur la qualité sensorielle de la bière produite, il serait judicieux d'effectuer un test sensoriel en choisissant un panel de dégustation.

- **BAMFORTH C W, (2003).** Beers: Chemistry of brewing ,Encyclopedie of science and nutrition, pp 440 447.
- **BAMFORTH C.W, (2002).** Nutritional aspects of beer-a review. Department of Food Science & Technology, University of California, Davis, CA 95616-8598, USA. Nutrition Research (22). pp 227–237. Berger et Deboe-Laurence (1985) édition R.Laffont.
- **BIGOIN S., BRUGNOLI L., GAYE A S., HOCHARTS T ET LEVILAIN P, (1998).** Projet bière these DESS, IUT de Lille 1,pp 160 .
- **BOULTON C ET QUAIN D., (2006).** Brewing yeast and fermentation. Blackwell Science, Oxford.
- **BOURGEOIS C.M ET LARPENT J.P., (1996).** Microbiologie alimentaire tome 2 : aliments fermentés et fermentations alimentaires. Tec & Doc, LAVOISIER.
- **BRÁNYIK T., ANTÓNIO A., VICENTE., DOSTÁLEK P ET JOSÉ A. (2008).** A Review of Flavour Formation in Continuous Beer Fermentations. J. Inst. Brew. 114(1), pp 3– 13.
- **BRÁNYIK T., ANTÓNIO A., VICENTE., DOSTÁLEK P ET JOSÉ A. (2008).** A Review of Flavour Formation in Continuous Beer Fermentations. J. Inst. Brew. 114(1), pp 3– 13.
- **BRIGGS D E., BOULTON C A., BROOKERS P A ET STEVENS R., (2004).** Brewing science and practice. *In:* Woodhead Publishing in Food Science and Technology.
- **BRIGGS D E., BOULTON C A., BROOKERS P A ET STEVENS R., (2004).** Brewing science and practice.*In:* Woodhead Publishing in Food Science and Technology.
- **BUIATTI S, (2009).** Beer in Health and Disease Prevention .Beer Composition_ An review. Department of Food Science, University of Udine, Udine, Italy. ISBN: 978-0-12-373891-2.
- **CAMPBELL L, (2008).** Yeast and fermentation. Whisky: Technology, Production and Marketing.ISBN 0-12-669202-5.
- **CARANTINO S, (1996) .**Vers une bière ideale ,biofutur ,(0160),pp 63-65.
- **COGHE S., VANDERHAEGEN B., PELGRIMS B., BASTEYNS A.,**

- ETDELVAUX F. R., (2003).** Characterization of dark specialty malts: New insights in color evaluation and proand antioxidative activity. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 61 (3), pp 125-132.
- **DE PIRO G, (2007).** Saveur Bière Primer: Arômes Fruités, AKA, Esters, CH Evans Brewing Company.
 - **DUKAN P, (1998).** Dictionnaire de diététique et de nutrition. Paris : Le cherche midi éditeur
ENSIA-SIARC, livre amateur de la bière
 - **FADEL H. H. M ET FAROUK A., (2002).** Caramelization of maltose solution in presence of alanine. *Amino Acids*, 22 (2) , pp 199- 213 .
 - **FAIST V ., LINDENMEIER M ., GEISLER C ., ERBERSDOBLER H F ETHOFMANN T., (2002).** Influence of molecular weight fractions isolated from roasted malt on the enzyme activities of NADPH-cytochrome c-reductase and glutathione-S-transferase incaco-2 cells. *J ournal of Agriculture and Food Chemistry*, (50), pp 602- 606.
 - **FEGREDO., JUSTIN A., MEYNELL R., ALAN K.H., LAL., MAX C.Y., WONG., COLIN R., MARTIN., WISEMAN H et VICTOR R. P., (2009).** The Antioxidant Capacity of Beer: Relationships Between Assays of Antioxidant Capacity, Color and Other Alcoholic and Non-alcoholic Beverages. Department of Nutrition and Dietetics, King's College. London, London, UK. *Beer in Health and Disease Prevention*. ISBN: 978-0-12-373891-2.
 - **FREEMAN W H, (2004).** *Lehninger principales of biochemistry*, Fourth edition.
 - **GODAMMER T (2008).** *The Brewer's Handbook - The Complete Book to Brewing Beer*, pp 337-340. 2nd ed. Apex Publisher, USA.
 - **GOLDAMMER T (2008).** *The Brewer's Handbook - The Complete Book to Brewing Beer*, pp 337-340. 2nd ed. Apex Publisher, USA.
 - **GORINSTEIN S., CASPI A., ZEMSER M ET TRAKHTENBERG S., (2000).** Comparative contents of some phenolics in beer, red and white wines. *Nutr. Res*, 20, pp 131- 139.
 - **GUIDO L.F., RODRIGUES P.G., RODRIGUES J.A., GONC-ALVES C.R ET BARROSA.A., (2004).** The impact of the physiological condition of the pitching yeast on beer 5lavor stability: an industrial approach. *Food Chemistry*. (87).pp 187–

- 193.
- **HARDWICK W .A, (1995).** The properties of Beer. In: Handbook of Brewing, (ed). Marcel Dekker Inc. New York. pp 551-585.
 - **HETHERINGTON M M, CAMERON F, WALLIS D J ET PIRIE L M., (2001).** Stimulation of appetite by alcohol. P hysiology and Behavior, (74), pp 283-289.
 - **HEYSE K.U, (2000).** Praxishandbuch der Brauerei , Behr's Verlag, Hamburg .
 - **HILARY A, (1992).** Ester formation in brewery fermentation, Inst.Brew,Vol 96,pp 327- 331(Brewing Research Foundation).
 - **HUGHES P.S ET BAXTER E.D., (2001).** Beer: Quality, Safety and Nutritional Aspects. Royal Society of Chemistry, UK, pp 40. In Vierling. Aliments et boissons. Edition : Doin
 - **Jean-paul Hebert le décret du (31-05-92)**
 - **Jean-paul Hebert, (25-06-2000)**
 - **KEYN ET HOUGH J., (1971).** Revue annuelle de microbiologie pp 5.
 - **KOBAYASHI M., SHIMIZU H ET SHIOYA S., (2008).** Beer volatile compounds and their application to low-malt beer fermentation. Department of biotechnology, graduate school of engineering, Osaka University, Japan. Journal of bioscience and bioengineering, vol. 106, pp 317–323.
 - **KUNZE W, (2004).** Technology Brewing and Malting, 2nd international edn. VLB, Berlin.
 - **LACOMINO G., TEDESCO I ET LUIGI RUSSO G., (2008).** Biological Properties of Beer and Its Components Compared to Wine. Institute of Food Sciences, National Research Council, Avellino, Italy. Beer in Health and Disease Prevention. ISBN: 978-0-12-373891-2
 - **LACROIX A, (2000).** Fabrication de la bière. Ed, Lavoisier.
 - **LAMY D, (1996).** Aliments - boissons - droit - consommateur – fraude.
 - **LARPENT J.P, (1991),** Biotechnologie des levures, édition MASSON PARIS.
 - **LEVEREAU et BOUIX., (1993).** Microbiologie industrielle, les microorganismes d'intérêt industriel. P : 20-46 ; 56-61; 87.

Références bibliographiques

- **LILLY M., M. G., LAMBRECHTS, ET I. S. PRETORIUS. (2000).** Effect of increased yeast alcohol acetyltransferase activity on flavor profiles of wine and distillates. *Appl. Environ. Microbiol.* (66), pp744-753.
- **LODOLO E.J., KOCK J.L., AXCELL B.C. ET BROOKS M., (2008).** The yeast *Saccharomyces cerevisiae*- the main character in beer brewing. *FEMS Yeast Res.*, 8(7), pp 1018-1036.
- **MOLL M, (1991).** Beer and coolers – Edition Tec & Doc. Lavoisier.
- **MOLL M, (1991).** Bières et coolers: définition, fabrication, composition. Tec & Doc. /Lavoisier.
- **NARZISS L ET BACK W.,(2005).** A briss der Bierbrauerei, Wiley-VCH, Weinheim.
- **NEDOVIC V A ET WILLAERT R., (2006).** Primary beer fermentation by immobilized yeast _A review on flavour formation and control strategies, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, (81), pp 1353-1367.
- **NEDOVI V., LESKOŠEK- UKALOVI ,I., BEZBRADICA D., OBRADOVI D. ET BUGARSKI, B., (2005).** New porous matrices and procedures for yeast cell immobilization for primary beer fermentation. Proceedings of the European Brewing Convention Congress, Prague, Fachverlag Hans Carl: Nürnberg, Germany, Contribution 48.
- **NURSTEN H, (2005).** *The Maillard Reaction. Chemistry, Biochemistry and Implications.* The Royal Society of Chemistry : Cambridge, UK .pp 214
- **REHM J, GMEL G, SEMPOS C.T. ET TREVISAN M., (2003).** *Alcohol Res. Health* (27), pp 39-51.
- **RENGER R.S, (2003).** Ester ratio in Heineken routine beers. heineken technical services.
- **RIBEREAU-GAYON P., DUBOURDIEU D., DONECHE B ET LONVAUD A., (2006).** Biochemistry of alcoholic fermentation and metabolic pathways of wine yeast .pp 53 -77.
- **ROGER A.M ET FLORIS R.M., (2006).** Flavor in beer, Tchn. Univ. Kaho-Sint-Lieven- KULB.
- **RUPCIC J. ET JURESIC G.C., (2010).** Influence of stressful fermentation

conditions on neutral lipids of a *Saccharomyces Cerevisiae* brewing strain, Springer Science Business Media B.V. World J Microbial Biotechnol.

- **SAERENS S.M.G., DELVAUX F., VERSTREPEN K.J., VAN DIJCK P., THEVELEIN J.M. ET DELVAUX F.R., (2008).** Parameters Affecting Ethyl Ester Production By *Saccharomyces Cerevisiae* During Fermentation, Applied And Environment Microbiology. USA .Vol 74. pp 454-461.
- **SAERENS S. M. G., VERBELEN P. J. VANBENEDEN N. THEVELEIN J. M. ETDELVAUX F. R., (2008).** Monitoring the influence of high-gravity brewing and fermentation temperature on flavour formation by analysis of gene expression levels in brewing yeast
- **SAIDANI Ahmed, MEZIANI Abdelhamid., (2004 / 2005)** Mémoire fin d'étude « Etude de l'évolution des Iso – acides au cours de la fabrication des bières type« Tango » et «Samba » F.S.I (Boumerdes).
- **SHELLHAMER T H., (2009).**Beer color, Beer: A Quality Perspective. Academic Press, New York.chapitre 7.
- **SHELLHAMER T H., (2009).**Beer color, Beer: A Quality Perspective. Academic Press, New York.chapitre 7.
- **STEWART CG, (1999).** High gravity brewing. *Brewers' Guardian*, (128), pp 31-37.
- **STEWART, (2003).** Biochemistry of Fermentation. Eriot-Watt University, Riccarton, Edinburgh, UK.
- **SWIEGERS J., BARTOWSKY P., HENSCHKE ET I. S. PRETORIUS., (2005).** Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, (11), pp139-173.
- **TAFULO P. A. R., QUEIROS R. B. C., DELERUE-MATOS M ET SALES M. G. F., (2010).** Control and comparison of the antioxidant capacity of beers. *Food Research International* (43) pp 1702-1709.
- **TAGASHIRA M., UCHIYAMA K., YOSHIMURA T., SHIROTA M. ET UEMITSUN., (1997).** Inhibition by hop bract polyphenols of cellular adherence and water-insoluble glucan synthesis of Mutans Streptococci. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, (61), pp 332-335.

- **THOMAS K C., HYNES S H. ET INGLEDEW W M., (2002).** Influence of mediumbuffering capacity on inhibition of *Saccharomyces cerevisiae* growth by acetic and lactic acids. *Appl. Environ. Microbiol.* (68), pp 1616-1623.
- **VANDERHAEGEN B., NEVEN H., COGHE S., VERSTREPEN K J., DERDELINCKX, G., ET VERACHTERTH., (2003).** Bioflavoring and beer refermentation. *Appl. Microbiol. Biotech.* (62), pp140-150.
- **VANDERHAEGEN B., NEVEN H., COGHE S., VERSTREPEN K J., DERDELINCKX, G., ET VERACHTERTH., (2003).** Bioflavoring and beer refermentation. *Appl. Microbiol. Biotech.* (62), pp140-150.
- **VANDERHAEGEN B., NEVEN H., VERACHTERT H., ET DERDELINCKX G., (2006).** The chemistry of beer aging – a critical review. *Food Chemistry*, (95), pp 357-381.
- **VELERO F., LINDENMEIER M., GEISLER C., ERBERSDOBLER H F ET HOFMANN T., (2002).** Influence of molecular weight fractions isolated from roasted malt on the enzyme activities of NADPH-cytochrome c-reductase and glutathione-S-transferase in *Caco-2* cells. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, (50), pp 602-606.
- **ZHAO H ET ZHAO M., (2012).** Effects of mashing on total phenolic contents and antioxidant activities of malts and worts. *International Journal of Food Science and Technology* (47). pp 240-247.
- Documents internet :
 - <http://tpe-levure-biere.e-monsite.com/pages/generalites-sur-leslevures/metabolisme-des-levures-respiration-et-fermentation.html#>
 - http://www.vignevisudouest.com/publications/itvcolloque/documents/COLLIQUE_saccharomyces-aromes.pdf.
 - http://scd-theses.u-strasbg.fr/2124/01/LEITAO_Celine_2011r.pdf.

Fiches d'analyses du malt A

Malt analysis

| Expected first delivery date (dd-mm-yy) Mark that delivery date is loading date | 28-10-15 | Destination | | Tango Brewery SARM - ROU | |
|--|-----------|-------------|---------------|--------------------------|-------|
| Curing temperature | °C | 80 | | | |
| Analysis | Unit | Result | Specification | Heineken | |
| | | | MIN | MAX | Chain |
| Moisture content on to.b. basis European destination delivered brewery | % | 3,8 | | 4,2 | |
| Extract yield | % | 79,0 | | | |
| Extract yield % dry malter | % | 82,1 | 80,0 | 100,0 | |
| Apparent final attenuation | % | 83,0 | 79,0 | 83,0 | |
| Wort Colour | EBC | 3,5 | 3,0 | 4,0 | |
| Bolled wort colour (EBC 4.19) | EBC | 5,5 | | 6,5 | |
| PH | pH | 5,89 | 5,80 | | |
| Protein, % of dry malter | % | 9,90 | 9,80 | 11,00 | |
| Sol.Protein % dry malter | % | 4,00 | 3,60 | 4,03 | |
| Friability | % | 89,9 | 83,0 | 90,0 | |
| Whole unmodified grains (WUG) | % | 1,1 | | 2,0 | |
| Partly unmodified grains (PUG) | % | 2,4 | | 5,0 | |
| NDMA (method GSC. prescription available on request) | P9k9 | 0,3 | | 2,5 | |
| Wort Viscosity | mPas | 1,49 | | 1,55 | |
| DMS precursor (SMM) | mg/kg | 2,1 | 1,0 | 4,0 | |
| Diastatic power | WK | 328 | 200 | | |
| Saccharification lime | min | 8 | | 15 | |
| Grading >2.5mm | % | 94,8 | 90,0 | | |
| Grading < 2,2mm (EBC 4.22) | % | 1,4 | | 1,5 | |
| Damaged and broken | % | 1,2 | | | |
| Foreign seeds | % | 0,1 | | | |
| Gushing potentiel using mineral water for the assay | g/bt | 0 | | 5 | |
| Gushing potentiel using beer for the assay | g/bt | 0 | | 50 | |
| FAN | mg/l | 133 | 120 | 135 | |

Fiche d'analyses du malt C

Malt Analysis

| | | | |
|-------------------|--------------|---------------|------------|
| Delivery note No. | Product type | Plant | Quantity |
| 79620 | malt C | Gelsenkirchen | 377,357 t. |

| Term | | Analysis |
|--------------------------------|---------|--------------|
| Moisture content | % | 4,5 |
| Extract fine grist (dry basis) | % | 81,0 |
| Saccharification time | min. | 9 |
| Wort Colour | EBC | 3,4 |
| Boiled Wort Colour | EBC | 6,1 |
| Protein | % | 10,6 |
| Soluble Nitrogen dry base | mg/100g | 0,717 |
| Soluble Protein | % | 4,5 |
| Wort pH | | 5,88 |
| Viscosity (8,6% wort) | mPas | 1,530 |
| Friability | % | 89,8 |
| Glassy Kernels (WUG) | % | 0,8 |
| Partly Unmodified Grains (PUG) | % | 2,2 |
| Screening above 2.5mm | % | 95,4 |
| Screening below 2.2mm | % | 0,9 |
| Diastatic Power | WK | 306 |
| DMS-Precursor | mg/kg | 2,2 |
| NDMA | ppb | 1,5 |
| Final Degree of Attenuation | % | 81,1 |
| Curing temperature 78 C airoff | h | 3 |

Varieties: 100% Etincel
Expiration date: December 2017

Résumé

La fermentation alcoolique est une étape clé dans la fabrication de la bière. Au cours de ce processus, les sucres du moût, sont pour l'essentiel convertis en éthanol et dioxyde de carbone. Cependant, en assimilant les acides aminés, de très nombreux autres produits sont aussi synthétisés par le métabolisme de la levure, parmi lesquels ; les esters volatils et les alcools supérieurs jouant un rôle important sur les propriétés sensorielles de la bière. Compte tenu des fortes variations de la concentration en ces composés aromatiques due à la complexité de leur processus de formation, il est difficile de contrôler le profil aromatique du produit fini (la bière). Le présent travail a pour objet de suivre l'évolution des esters et des alcools supérieurs dans les moûts issus de deux malts différents lors de la fermentation primaire et secondaire tout en considérant les différents facteurs susceptibles d'influencer leur formation. Le profil de fermentation a été déterminé en évaluant les variations du nombre de cellules, de taux d'alcool, de la densité apparente, du pH, de l'intensité de la couleur et du taux d'acétaldéhyde. Les fluctuations des concentrations en alcools supérieurs et esters ont été évaluées par méthode chromatographique (CPG). L'ensemble des résultats obtenus montre que lors de la fermentation primaire, la levure se développe pleinement (croissance exponentielle) en assimilant le substrat (chute de la densité apparente) qu'elle convertit efficacement en éthanol. Le pH et l'intensité de la couleur diminue légèrement, alors que la teneur en acétaldéhyde est réduite sensiblement. Il en ressort aussi une production croissante d'alcools supérieurs (particulièrement le 2-méthyl butanol) et d'esters (notamment l'éthylacetate).

Mots clés : bière, propriétés sensorielles, fermentation alcoolique, esters volatils, alcools supérieurs, levure.

Summary

The alcoholic fermentation is a key step in production of beer. During this process, sugars are essentially converted into ethanol and carbon dioxide. However, assimilating amino acids, many other products are also synthesized by the yeast metabolism, among which, volatile esters and higher alcohols play an important role on the sensorial properties of beer. Taking into account wide variations in the concentration given of these aromatic compounds due to the complexity of the process formation it is difficult to control the flavor profile of the finished product (beer).

This present work aims to monitor esters and higher alcohols in musts during primary and secondary fermentation while considering the various factors that may influence their formation. The fermentation profile was determined by evaluating changes in the number of cells, alcohol content, bulk density, pH, color intensity and rate of acetaldehyde. Fluctuations of the concentrations of higher alcohols and esters were evaluated by chromatographic method (GC). The overall results showed that during primary fermentation, the yeast fully develops (exponentially) by treating the substrate (drop in apparent density) that effectively converted into ethanol. PH and color intensity decreases slightly, while the acetaldehyde content is reduced substantially. It also shows a growing generation of higher alcohols (particularly 2 -methyl butanol) and esters (particularly ethyl acetate and isoamyl acetate).

Keywords: beer, sensorial properties, alcoholic fermentation, volatile esters, higher alcohols, yeast.

