

TPE de Alain Ly, Chemseddine Chelbi et Gabriel Ray, élèves de TS2

# BIOCHIMIE DE LA BIÈRE



**La Biochimie de la bière**  
**Alain ly**  
**Gabriel Ray**  
**Chemsedin Chelbi**

## Index :

Plan du TPE : Cliquez sur les parties pour y accéder directement

- [Introduction](#) - Présentation
- [I\) Histoire de la bière](#) → Gabriel Ray
- [II\) Le maltage](#) → Chemseddine Chelbi
- [III\) Le brassage](#) → Alain Ly
  - [Expérience](#) ( Ly Chelbi) \*
- [IV\) La fermentation](#) → Gabriel Ray
  - [Expérience](#) (Ray)
- [V\) La finalisation](#) → Alain Ly
- [Conclusion](#)

\* *Chemseddine a rédigé la partie « Expérience » du brassage*

Vous pouvez Cliquer sur les flèches :  pour retourner directement à l'index

## I - Introduction

Ce TPE utilise le thème Innovation/Tradition pour parler de la « Biochimie de la bière »

Dans ce TPE nous allons aborder l'historique et la fabrication de la bière, d'un point de vue traditionnel, pour la recette ancestrale de la fabrication de la bière, et d'un point de vue innovant, en utilisant les connaissances scientifiques actuelles pour expliquer les processus qui interviennent lors de cette fabrication.

Le brasseur moderne est donc à mi-chemin entre le Biochimiste, l'artisan et évidemment, le cuisinier !

Il faut cependant garder à l'esprit que dans ce TPE nous avons essayé de rester le plus général possible sur la fabrication, mais ce TPE ne sera jamais complet sur ce sujet, puisqu'il existe et existera toujours autant de méthodes que de type de bière, et aussi de brasseries dans le monde !

Car la bière est bien une boisson mondiale qui a traversé les siècles, comme nous allons le voir tout de suite dans la partie I-Historique.

Nous espérons que ce TPE vous permettra de voir la bière d'une autre manière, et même si nous parlons d'alcool, c'est *à lire sans modération*

A la votre !

# I-Histoire de la bière

Quelle est l'origine de la bière qui est aujourd'hui une des boissons alcoolisées les plus consommées dans le monde ? Les recettes de bière ont été mises au point il y a des siècles, et pourtant presque chaque année, une nouvelle bière apparaît, avec une recette toujours gardée secrète.

Au-delà d'une recette millénaire, c'est aussi la diversité géographique qui est impressionnante : on trouve des fabriques de bières sur les 5 continents, donnant lieu à une diversité infinie de bières.

Comment expliquer que cette boisson ait été si popularisée pendant des millénaires et à travers presque tous les continents ?

## I) Les Traces Historiques

### 1-L'antiquité

#### *a)Babylone et les Pharaons*

La bière est l'une des boissons alcoolisées les plus anciennes, grâce à sa fabrication simple, pour peu qu'on ait les ingrédients.

La bière est très sûrement née juste après l'apparition de l'agriculture, vers les Deltas fertiles de l'ancienne Mésopotamie située entre le Tigre et l'Euphrate.



Les principaux produits de l'agriculture de l'époque sont les céréales telles que le blé et l'orge, ainsi il suffit d'imaginer un paysan qui oublie son tas de grains sous la

pluie, et qui, le lendemain par curiosité, ou pour vérifier si ses grains sont encore comestibles, goûte à la première bière

La Mésopotamie est donc le plus ancien lieu où on ait trouvé des traces de bière, nommé sikaru par les Sumériens :

C'est là qu'a été découverte une plaque de pierre datant d'environ 4.000 av. J.-C. et qui porte des reproductions primitives d'un processus de brasserie.

La trace suivante des premières préparations de bière nous amène à Babylone, où le roi Hammourabi a rédigé en 2000 avant notre ère des préceptes dictant comment brasser et verser la bière.



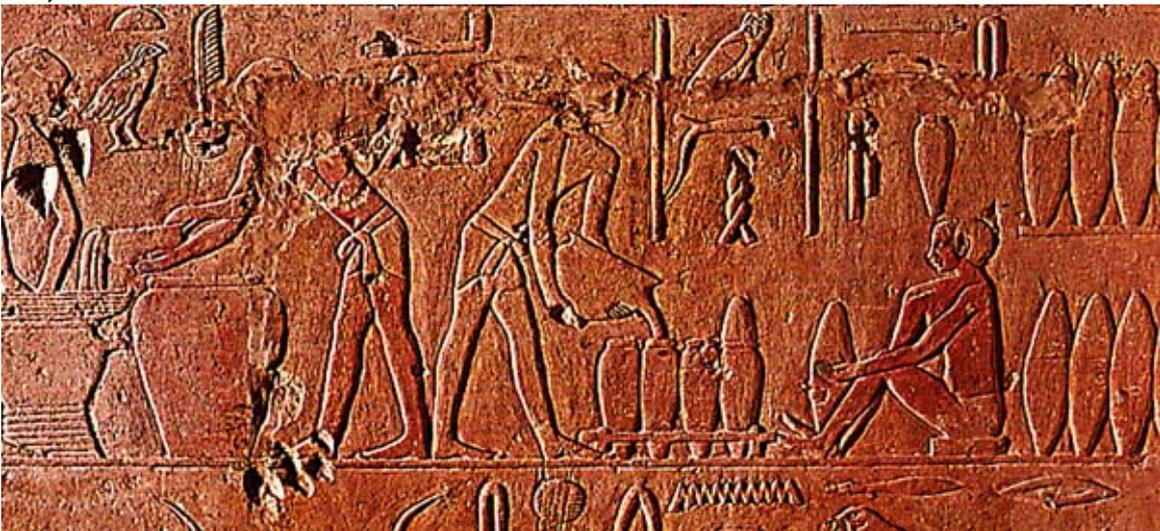
*Tablette d'argile à écriture pictographique. La tête humaine associée à un bol et à l'épi de blé évoque la ration de céréales fournie en paiement d'une Tablette d'argile à écriture pictographique.*

*Sud Mésopotamie (Irak), vers - 3300*

*Source : <http://arethuse1.free.fr/detail.php?nom=00282>*

La bière a ensuite trouvé son chemin de Babylone vers l'Égypte, où les pharaons eux-mêmes maîtrisaient parfaitement l'art de la brasserie, ce qui transparaît dans la religion :

Osiris, dieu de la mort et des cultures, est également dieu de la bière et son épouse Isis, déesse de l'orge (principale céréale utilisée dans la fabrication de la bière)



*Ci dessus, on peut voir des égyptiens versant le mout dans un hypothétique fermenteur, qui est par la suite stocké (partie droite de l'image) afin de laisser la fermentation se dérouler*

*Source : <http://www.cu.lu/labext/rcms/cpe/biere/hist.html>*

L'époque de Ramsès III nous a d'ailleurs transmis des chopes de bière qui dépassent de très loin les chopes bavaroises : elles avaient une contenance de pas

moins de 3,5 litres. On présume qu'à cette époque, la bière avait un taux d'alcool nettement inférieur à celle que nous buvons aujourd'hui. La bière était d'ailleurs utilisée comme offrande aux dieux afin de s'attirer leurs bonnes grâces.



*Servante préparant la bière en égypte. British Museum, Londres*  
*Source : <http://www.consomania.com/Oktoberfest/histoire.htm>*

**Remarque :** Dans l'ancienne Egypte, le brassage de la bière était régi par des règles très strictes. Un brasseur qui avait l'audace de fournir une bière de mauvaise qualité courrait le risque d'être noyé dans son propre produit!

### *b) L'empire romain et les Gaulois*

Apparemment, la recette de la bière a traversé la méditerranée pour se répandre en Europe, puisqu'un peu après les pharaons, c'est au tour des romains et des gaulois de s'intéresser à la bière.



*Amphore dans laquelle les romains conservaient la bière, ou le vin*  
*Source : [http://www2.unil.ch/spul/allez\\_savoir/as27/pages/3\\_vin.html](http://www2.unil.ch/spul/allez_savoir/as27/pages/3_vin.html)*

Les Romains se consacraient à la production de vin et plantaient des vignobles à perte de vue. Mais dans des régions où le raisin n'avait aucune chance de pousser à cause des conditions climatiques moins favorables, on s'est mis à cultiver du blé dont on tirait entre autres de la bière. A cette époque, la bière était destinée à étancher la soif des légions romaines, pour qui le vin était une boisson plus noble que la bière. Partout, la bière précédait le vin. Dionysos n'est devenu le dieu du Vin qu'après avoir régné comme Sabazios, le dieu archaïque de la Bière.



*Ce bas relief montre des Gaulois récoltant du raisin, et de l'orge, puis le concassant*

Contrairement aux Romains, les Gaulois considéraient la bière (brass ou cervesoie) comme leur boisson nationale.

Chez les Gaulois, la recette de la cervesoie ne change guère jusqu'au IXe siècle : céréale, eau, levures naturelles et épices « du jardin ». Les Gaulois, comme leurs prédécesseurs, n'étaient pas fous : jusqu'au Moyen âge, seules les femmes peuvent fabriquer la bière.



*Les Gaulois sont connus pour avoir inventé le tonneau, aujourd'hui il sert surtout pour la conservation du vin (encore un peu pour la bière). Mais à l'époque on imagine qu'il a du servir à stocker les litres de cervesoie !*

Le phénomène de la fermentation reste un mystère (jusqu'à Pasteur) et s'apparente semble-t-il à une opération magique.

D'ailleurs la bière reste une boisson mythique, du moins religieuse pour les Gaulois puisqu'ils la nomment « le breuvage des dieux », et l'utilisent dans leurs cérémonies tandis que Les Grecs et les Romains lui laissent une place très secondaire par rapport au vin.

## 2-Le moyen Âge

Après la chute de l'Empire romain, l'église a pris le contrôle des terres. Les ecclésiastiques et les moines se sont intéressés au brassage de la bière. Plus encore, jusqu'au onzième siècle, la brasserie était une activité qui était exclusivement pratiquée par le clergé. Les ecclésiastiques (Moines essentiellement) notaient les recettes de leurs "boissons spiritueuses" sur des parchemins.



*Cette étiquette de bouteille de bière vente l'ancienneté de la fabrication (Anno 1125). Cette bière est une des nombreuses bières belges « d'abbaye », qui utilisent leurs origines ancestrales comme gage de qualité (ici, il s'agit de l'abbaye st-Feuillien)*

*Source : <http://users.skynet.be/leclercq/lr7.htm>*

Au quatorzième et quinzième siècle les laïcs sont finalement autorisés à brasser, l'église perd le monopole, les brasseries se mettent à pousser comme des champignons. La bière est devenue une boisson populaire



*Nature morte d'un peintre Hollandais Pieter Claesz (1644)*

Cependant les moines continuent à noter soigneusement toutes leurs recettes, expérimentations sur la bière, et c'est eux qui introduisent le Houblonnage de la bière, lui donnant un goût plus amer, mais plus fin

*Remarque : Au Moyen Age, le fait de boire n'était nullement perçu comme étant nocif. Au contraire! A l'intérieur des murs des cloîtres, la bière coulait à flots. Dans certains couvents, les nonnes auraient bu plus de cinq litres de bière par jour ou avaient du moins droit à cette quantité!*



*La bière coulait à flot chez dans les monastères du moyen-âge !*

Au Moyen Age, les brasseurs se sont réunis en guildes. Aux Pays-Bas, elles constituaient des groupements puissants qui payaient des impôts (accises) au souverain avec pour conséquence que ce même souverain devait compter avec elles. A Liège, par exemple, les accises sur la bière étaient utilisées pour l'entretien de la ville et Louvain devait également sa prospérité aux diverses brasseries.



*Une brasserie, telles qu'on en voyait au XVII siècle*

Source : <http://perso.wanadoo.fr/jean.balsalobre/bieres/histobeer.html>

Le fait de brasser en guides corporatives a débouché sur l'utilisation de recettes de brassage bien déterminées dans certaines régions. C'est ainsi que sont nées les différentes bières régionales qui ont chacune leur goût typique.

### 3-Du XVIII<sup>ième</sup> à nos jours

La Révolution française (1792-1794) a signifié la fin des guildes de brasseurs disposant de moyens financiers importants. Simultanément, on a détruit maints cloîtres et une grande partie des activités de brassage au sein des communautés religieuses ont ainsi été perdues.



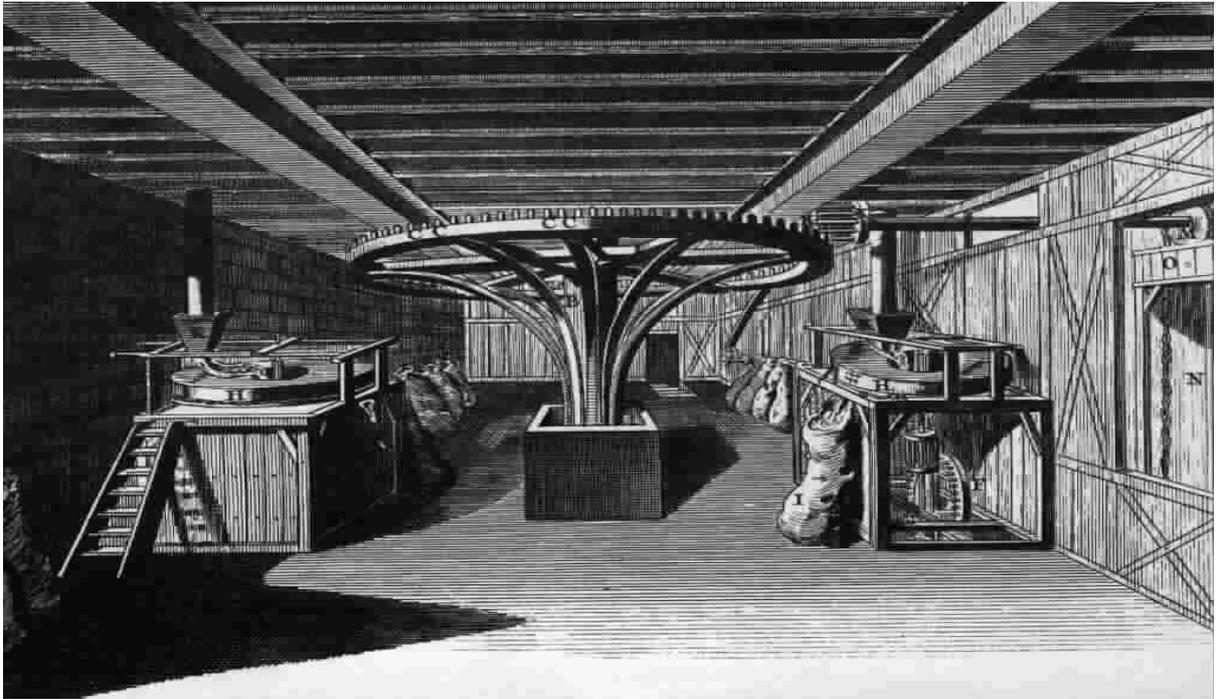
*Ci dessus : Un sigles de l'une des très nombreuses « communautés de brasseurs », regroupés en guildes, datant parfois du moyen-âge*

Le XVIII<sup>ième</sup> et XIX<sup>ième</sup> siècle sont aussi caractérisés par l'apparition de la pensée rationnelle et de véritables sciences indépendantes, et grâce aux progrès des connaissances et des instruments, Louis Pasteur (1822 - 1895) élucidera la « Magie de la fermentation » en étudiant les levures. Il introduit ainsi une avancée phénoménale dans la fabrication de la bière, puisque maintenant que l'on sait ce qui se déroule dans la cuve à fermenter, on doit être capable de contrôler un minimum le processus de fermentation. Ceci est très utile, car avant Pasteur, la fermentation était une étape très aléatoire, et le brasseur ne pouvait qu'espérer que tout aille pour le mieux.

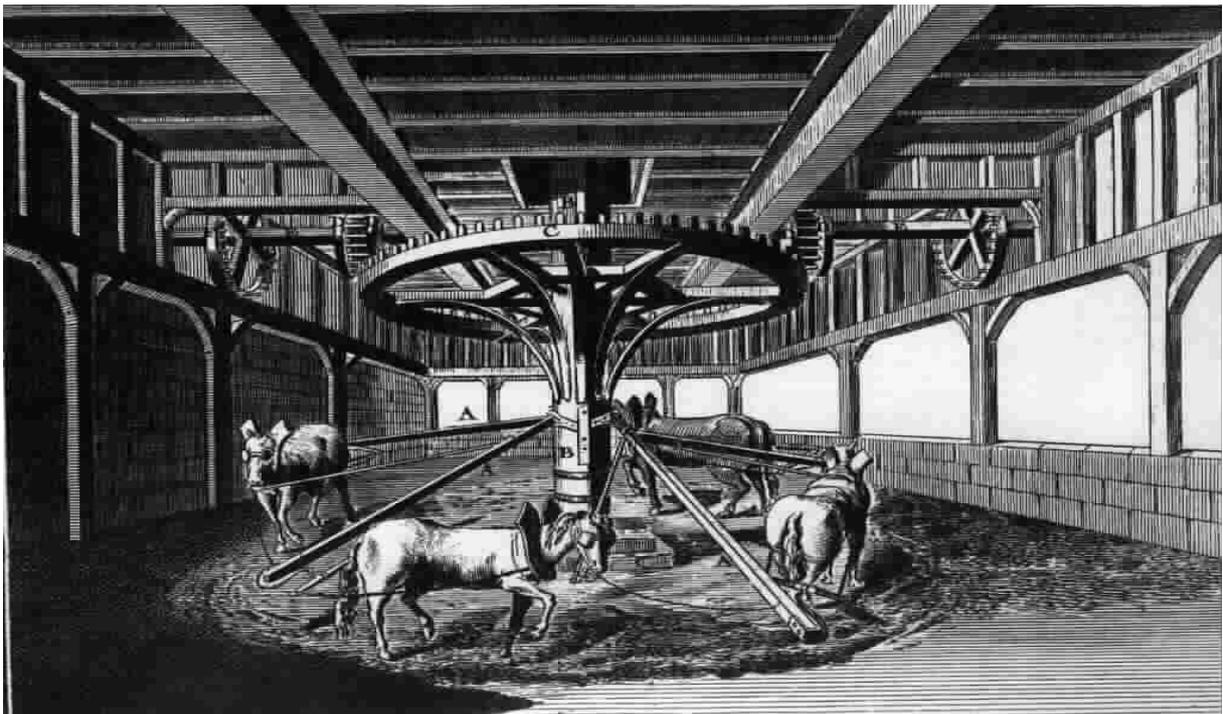
*Voici quelques gravures tirées de L'Encyclopédie de Diderot et d'Alembert, montrant une maison de brasseur de l'époque : on voit que tout est extrêmement bien pensé, chaque étage est dédié à une étape de la fabrication et un système de trappe permet d'automatiser le passage d'une étape à une autre.*

*Ce genre d'installation permet de produire de la bière en bien plus grande quantité qu'auparavant, ceci illustre bien l'utilisation des innovations de la science et de la pensée « rationaliste » dans la brasserie*

Source des gravures : <http://nlgrand1.free.fr/brasserie.htm>



*Voici le moulin mécanique utilisé pour moudre le l'orge*



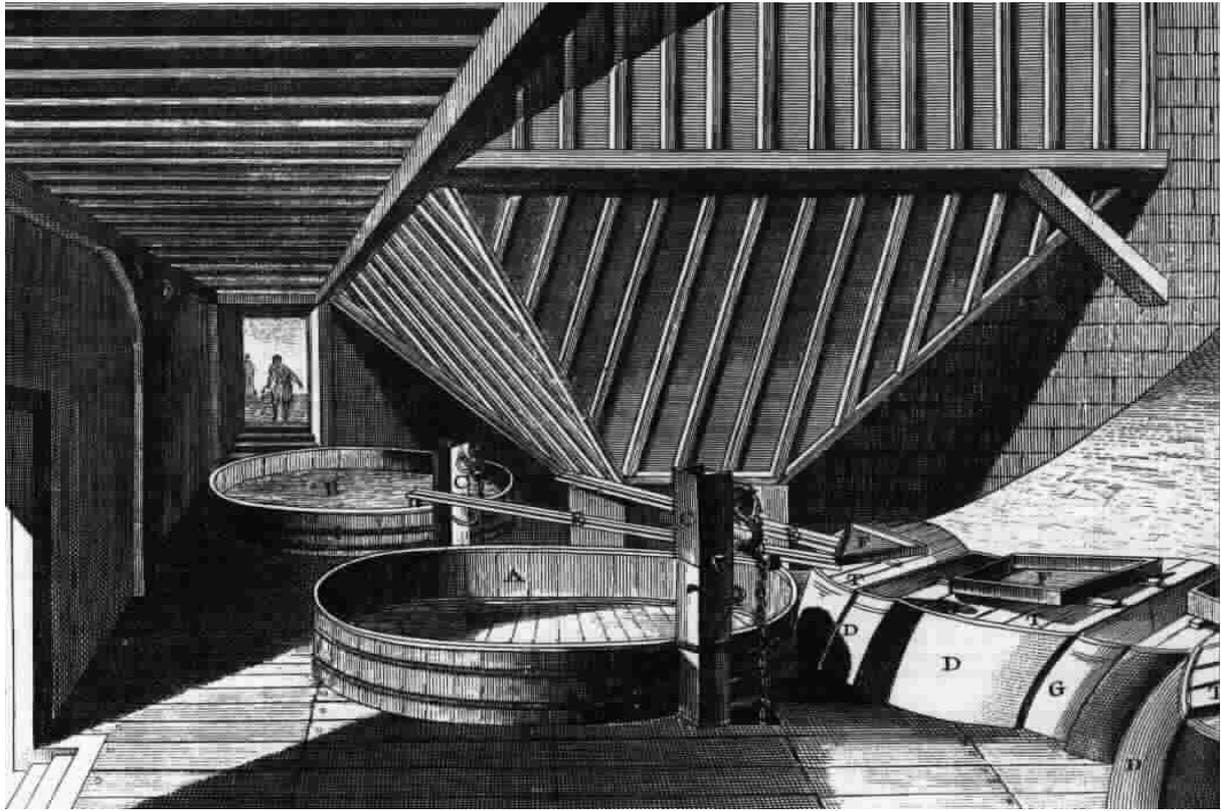
*Le moulin est tiré mécaniquement par des bêtes de trait. Plus tard, la révolution industrielle utilisera la vapeur, et encore après l'électricité*



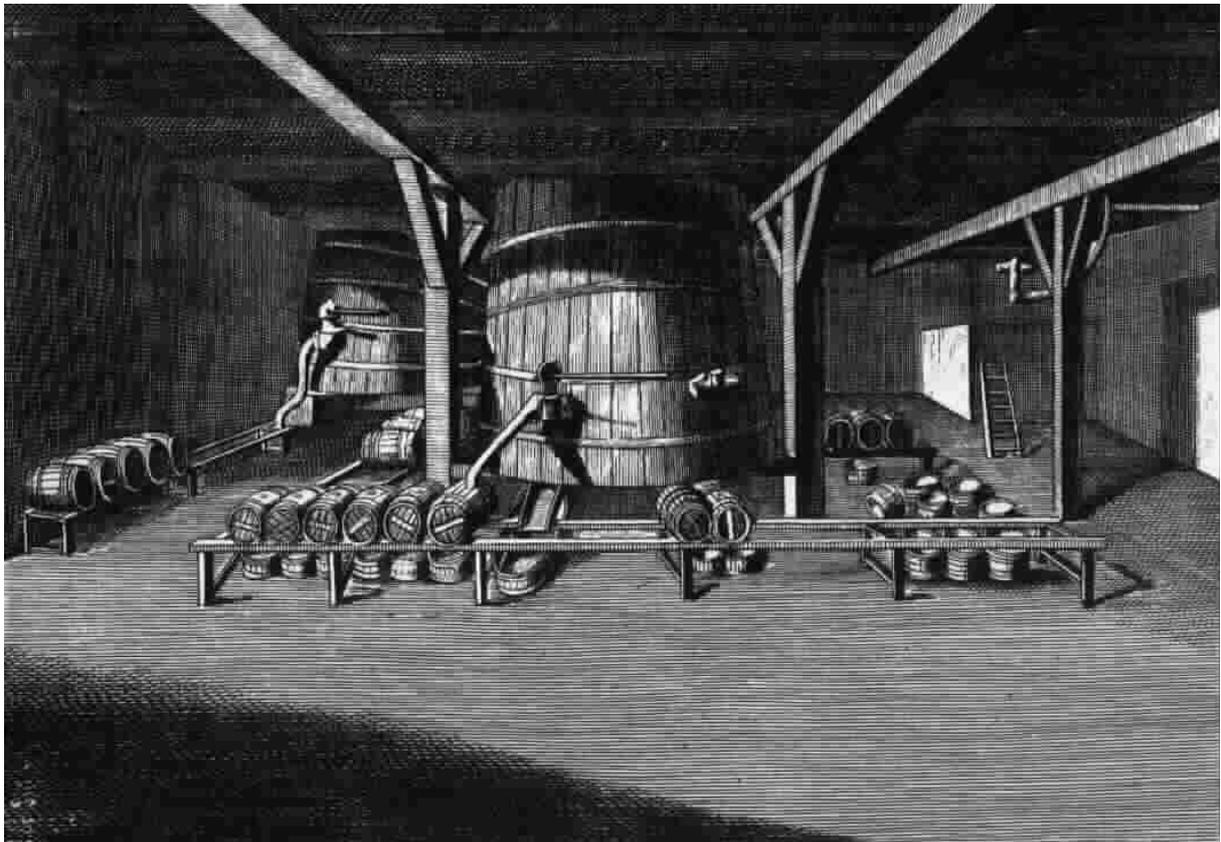
*La partie supérieure, le grenier où le grain passe par la trappe et la roue d'où l'on monte le grain à la touraille*



*Partie Inférieure ou le grain est mis à germer, on peut voir un système de poulie qui permet de monter ou descendre le grain d'un étage à l'autre*

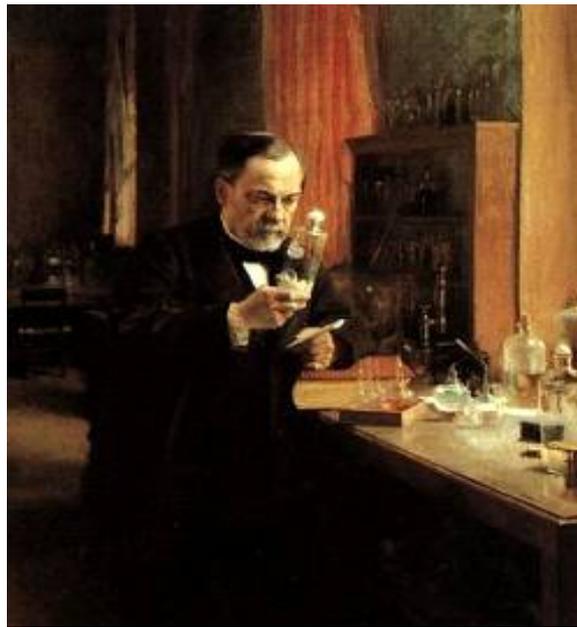


*Ici, il s'agit de la partie supérieure de l'atelier du brasseur : on y distingue les différentes cuves pour le brassage, la fermentation et un grand entonnoir permettant sûrement d'acheminer le grain moulu*



*Partie inférieure de l'atelier du brasseur(l'entonnoir) , dans lequel il met sa bière en tonneau et la laisse fermenter en « garde »*

Louis Pasteur a découvert l'existence de différents types de cellules de levure et il a également établi que toutes les levures ne conviennent pas aussi bien pour une bonne fermentation et n'assurent donc pas un goût optimal à la bière. On a dès lors entrepris de sélectionner les familles de levures les plus appropriées pour le processus de brassage. En les cultivant, les brasseurs étaient alors en mesure d'obtenir chaque fois la même fermentation et donc une bière de même goût. Pasteur a découvert en outre la possibilité de conserver des boissons en les chauffant à 70°C. A cette température, tous les micro-organismes présents sont désactivés. Cette nouvelle technique - que nous connaissons sous la dénomination de pasteurisation - permettait dorénavant de conserver la bière plus longtemps.



*Pasteur aida les brasseurs du Nord de la France (Lille) en expliquant comment éviter les contaminations bactériennes (puisque'il venait de découvrir l'existence des micro-organismes) en ayant une hygiène stricte lors de la préparation de la fermentation*

Les brasseries du XVIII<sup>ème</sup> siècle sont quasiment toujours locales, au point que presque chaque village possède sa brasserie. Ainsi se développe énormément par la suite des bières locales qui vont se différencier en fonction des recettes, matières premières locales etc... , et bientôt avec l'arrivée des transports et de la révolution industrielle, l'exportation de la bière va s'organiser.



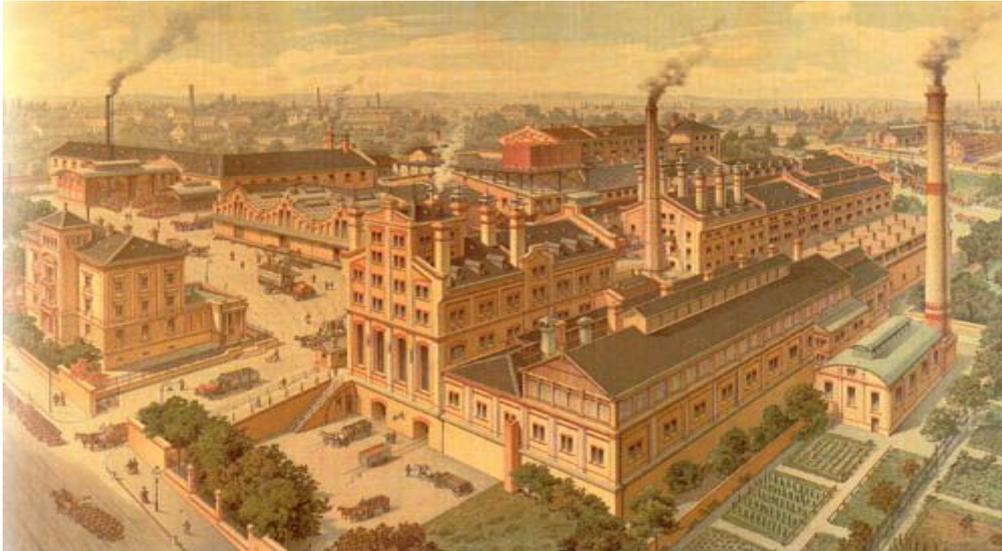
*Brasserie du XIX siècle, on peut observer une large augmentation des moyens de production , et l'apparition d'outils spécifiques*

Ainsi au départ les principales villes exportent entre elles, puis début XIX<sup>ième</sup> on peut même voir des exportations de bières étrangères. Le phénomène s'accroît jusqu'au XX<sup>ième</sup> siècle



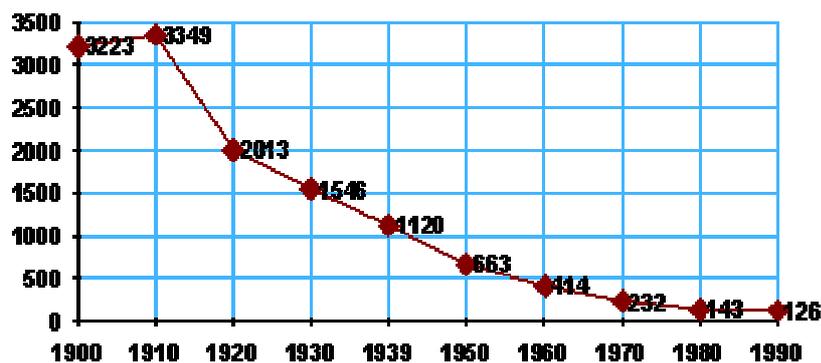
*Exportation par chemins de fer de tonneaux de la brasserie « Grubert »*

Source : [http://www.creps-strasbourg.jeunesse-sports.gouv.fr/articulation/historique/1850\\_3.htm](http://www.creps-strasbourg.jeunesse-sports.gouv.fr/articulation/historique/1850_3.htm)



*Une brasserie de l'ère industrielle, vers 1910. En comparaison aux deux autres images, cette brasserie est gigantesque, la brasserie devient une véritable usine*

Il n'y a pas de grands bouleversements notables au XXI<sup>ème</sup> siècle, mais ce nouveau siècle est marqué par les guerres qui feront disparaître énormément de petites brasseries qui seront souvent rachetées par les plus grosses brasseries survivantes.



Graphique montrant la disparition du nombre de brasseries belges depuis 1900  
 Source : <http://www.ifrance.com/cantillon/3-biere/histoire/Page11.htm>

Les nouvelles techniques acquises au cours de ce siècle sont mises au service de la fabrication de la bière : mise sous pression, chambre froide, contrôle extrême de la fermentation, sélection des souches de levures etc ...

Et peu à peu les immenses brasseries, telles que kronenbourg, heineken vont exporter des milliers de leurs bouteilles dans le monde entier, grâce aux nouvelles techniques leur permettant d'avoir un rendement élevé.

A coté de ce phénomène de mondialisation et d'immenses brasseries, il faut noter que le courant va dans le sens inverse depuis 10-15 ans, en effet de nouvelles brasseries locales s'installent un peu partout, et même si les énormes brasseries ont toujours le monopole de la bière, ces brasseries sont souvent mieux estimées et survivent (ou vivent) en vendant de la bière de qualité. Un bon exemple de ce phénomène est l'augmentation des ventes de bières trappistes (bières d'abbayes) vendues maintenant dans la grande distribution : Leffe etc ...

## Consommation de bière par pays entre 1996 et 1999 (litres / habitant)

Rang	Pays	1996	1997	1998	1999
1	Rép. Tchèque	157,3	161,4	161,1	159,4 e
2	Irlande	145,6 r	153,4 r	153,9 r	154,7
3	Allemagne	131,9	131,2	127,5 r	127,5
4	Luxembourg	113,4	118,9	110,9	109,0
5	Autriche	114,0	113,3	108,6	108,9
6	Danemark	117,6	113,7	105,0	101,9
7	UK	101,9	103,6	99,4	99,0
8	Belgique	102,0	101,0	98,0	97,5 e
9	Australie	95,3	95,5	94,5	91,2 e
10	Rép. Slovaque	90,2	94,8	85,2 e	88,1 e
11	USA	83,7 r	83,3 r	83,7 r	84,4
12	Pays-Bas	85,5	86,3	84,2	84,2
13	Nouvelle Zélande	94,1	84,1	84,7	80,7
14	Finlande	82,2 r	84,0 r	80,0 r	80,1
15	Venezuela	75,0 e	74,5 e	78,8 e	75,2 e

### Abréviations

*ca* : Données prévisionnelles

*r* : Données corrigées

*e* : Données estimées

### Source :

[http://www.alcoveb.com/french/info\\_gen/sante\\_soc/eco/consommation/biere/biere.html](http://www.alcoveb.com/french/info_gen/sante_soc/eco/consommation/biere/biere.html)

La France n'arrive qu'en 35<sup>ième</sup> position. Ce tableau montre bien comment la bière est devenue un produit mondial qui est bu aussi bien dans les gros pays producteurs tels que l'Allemagne, ou l'Irlande, mais aussi dans des pays nouveaux dans le domaine tels que le Venezuela ou la Nouvelle Zélande.

## II) La longévité et la répartition géographique de la bière

### 1-Hypothèses sur la longévité

On est aujourd'hui capable d'expliquer en partie pourquoi la bière s'est répandue aussi rapidement, et est restée aussi populaire à travers les millénaires

Les raisons sont plus largement liées aux boissons alcoolisées, car il faut savoir que l'eau n'est que rarement potable dans la nature, et qu'elle est au cours de l'histoire sûrement une des plus grandes causes de mortalité et de transmission d'épidémies qui ont décimé presque les 2/3 de la population européenne au moyen âge

L'alcool, même si on ne savait pas pourquoi, était exempt de germes et par exemple, l'ancien Testament ou les textes grecs mentionnent rarement l'eau comme une boisson répandue, puisqu'il fallait s'en méfier à tout prix

L'alcool a des propriétés antiseptiques, et la bière est naturellement acide, de sorte que si on la mélange avec de l'eau polluée, la plupart des agents pathogènes sont tués. Ceci explique la popularité des alcools, et donc de la bière qui est une des premières boissons alcoolisées, qui est restée presque identique à la bière de l'antiquité.

Une des autres causes de sa popularité est tout simplement son caractère nourrissant, en effet l'alcool est une molécule fortement énergétique, qui si elle est correctement dégradée, apporte un grand nombre de calories

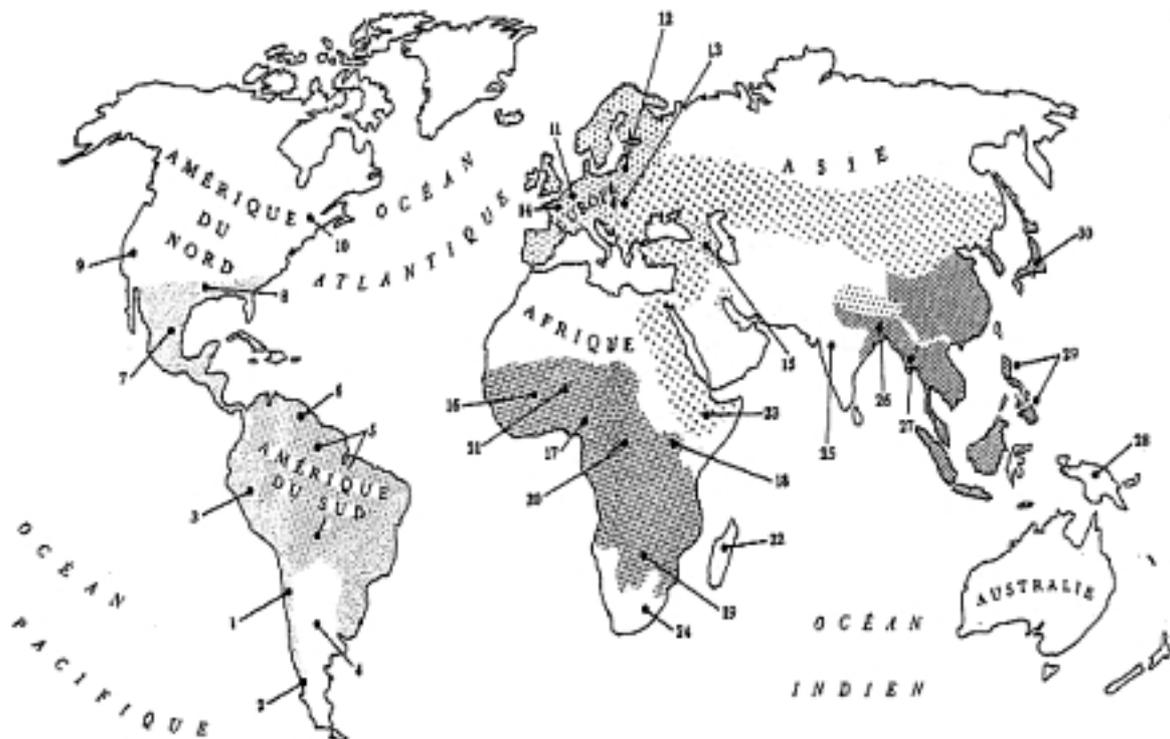
### 2-Hypothèses sur la Répartition Géographique

On remarque que la bière s'est répandue essentiellement en Europe, et que le reste des continents, à part l'Afrique, ont commencé à fabriquer de la bière (et des alcools en général) tardivement, les colons ont amené leur bière avec eux en Amérique, Australie, et parfois Asie

L'évolution des alcools en général est donc très différente en Orient par exemple, puisque depuis plus de 2000 ans, on fait bouillir l'eau pour faire du thé, obtenant ainsi des boissons potables non alcoolisées. Une observation très intéressante est que près de la moitié des asiatiques ne fabriquent pas l'une des enzymes nécessaires au métabolisme de l'alcool, ce qui rend la consommation d'alcool très désagréable.

Ceci est facilement explicable grâce à l'évolution ! En effet, les Européens-africains qui ne faisaient pas bouillir d'eau avaient compris très tôt que l'alcool permettait de transformer l'eau polluée en eau saine. À l'époque la mortalité était très élevée et il est normal que ceux qui survivaient le mieux étaient ceux qui métabolisaient mieux l'alcool, car par pur plaisir, ou par obligation, ils pouvaient boire de l'alcool. La sélection s'est donc opérée sur les populations européennes et Africaines, sélectionnant les enzymes permettant la dégradation de l'alcool, donc son assimilation plus agréable, mais en plus comme source de calories. Les Asiatiques, de leur côté n'avaient nul besoin d'alcool, puisqu'il était courant de boire du thé, qui grâce à l'eau bouillie tuait tous les mauvais germes.

Aujourd'hui il existe des bières de toutes les régions du monde, fabriqués avec les féculents de ces régions. Ainsi on trouve des bières de Bananes, ou de Bambou. Ces recettes ne sont pas forcément très anciennes mais, le mélange entre traditions locales et innovations (utilisation des outils modernes de la science) est largement observable :



- 1 Bière de bromus mango, plante bisannuelle chilienne, aujourd'hui remplacée par les céréales européennes.
- 2 Au Sud du Chili, on utilise aussi les graines d'araucaria, une variété de pin.
- 3 Bière péruvienne à base de graines de quinoa mâchées par les femmes.
- 4 Bière de caroubier dans la région du Gran Chaco en Argentine.
- 5 Bière d'igname au Paraguay et au Nord du Brésil.
- 6 Cachiri guyanais à base de manioc.
- 7 Bière de maïs de certaines ethnies indiennes mexicaines (tesguino).
- 8 Bière de maïs des Indiens cheyennes, apaches et creeks (teswin ou oafka).
- 9 Bière de glands de certaines tribus californiennes des Rocheuses (avant extermination).
- 10 Bière des colons canadiens, la Spruce Beer, additionnée de bourgeons de pin ou sapinette.
- 11 Bière de froment à fermentation spontanée en Belgique : faro et lambic
- 12 Kwasz russe et estonien à base de pain de seigle.
- 13 Kiesiel ou zur de Russie et d'Europe centrale, à base de seigle et d'avoine.
- 14 Bière de ménage dans le Nord de la France, la Belgique et la Prusse : pomme de terre et chicorée.
- 15 Bière d'orge houblonnée préparée traditionnellement dans le Causase.
- 16 Dolo voltaïque, une bière de sorgho dont les dolotières font commerce.
- 17 Pito nigérian à base de sorgho malté.
- 18 Au Rwanda et en Ouganda, on prépare une bière de bananes.
- 19 Kaffir beer en Afrique du Sud et au Zimbabwe, bue trouble et en pleine fermentation.
- 20 Bière de patates douces au Zaïre.
- 21 En Afrique occidentale, on utilise aussi les tiges du bourgou, variété de sorgho.
- 22 Bière de racines de gingembre confectionnée à Madagascar.
- 23 Le bosa ou bousa éthiopien, à base de froment. On boit aussi en Ethiopie le sala à base d'orge ou de tef. On y ajoute des feuilles ou des rameaux de guécho pour préparer le talla.
- 24 En Afrique du Sud, les tubercules de pachypodium sont utilisés.
- 25 Bière des régions pauvres de l'Inde, brassée avec le coracan
- 26 Pachwaï, une bière de riz additionnée de cannabis dans les provinces indiennes du Bengale et d'Orissa. Madhu et ruhi sont très proches des bières soupes.
- 27 Bière de riz glutineux dite vin moï ou thaï en Thaïlande.
- 28 Bière de Nouvelle-Guinée à base de moelle de palmier sagou.
- 29 Topuy des Philippines à base de riz (analogue aux yakju et takju coréens).
- 30 Les grains du bambou arundinaria japonica servent à la préparation d'une bière au Japon.

Source : <http://museum.agropolis.fr/pages/savoirs/bieres/2fabrication.htm#amylolyse>

### III) Conclusion

La bière reste une des boissons alcoolisée les plus bu au niveau mondial (environ 1 400 000 000 hectolitres en 2002, et une augmentation d'environ 2% pour 2003)

Pourtant, la bière reste une boisson simple fabriquée selon des traditions presque ancestrales, puisque les recettes les plus anciennes sont finalement très semblables aux recettes actuelles.

Les principaux changement ont eut lieu surtout dans la production de cette bière, puisque toutes les nouvelles technologies, et en particulier les bio-technologies permettent aux brasseurs non seulement de produire plus en moins de temps, mais surtout d'instaurer des critères de qualités bien plus contrôlés qu'auparavant. Ainsi, le brasseur moderne contrôle chaque étape de la fabrication de sa bière.

Et le phénomène n'est pas en diminution, au contraire, par exemple presque chaque année apparaît une nouvelle bière, et si ce rythme continue la France sera bientôt dotée d'une bière par départements !

Nous allons donc essayer d'expliquer les méthodes de fabrication de cette boisson et essayer de les comprendre, afin de pouvoir les contrôler et les optimiser , ou du moins, expliquer ce qui se passe dans notre Verre de Demi !

## II - Le maltage

### I Introduction :

#### *1- Quel est le rôle du maltage?*

L'orge est la matière première de base essentielle pour la fabrication du malt. Le maltage est un passage clé dans la fabrication de la bière. En effet, c'est lui qui va permettre de développer les enzymes présentes dans l'orge nécessaires au brassage. Le maltage transforme l'orge en malt qui existe sous différentes formes: le malt blond (pour une bière blonde), le maltage brun (pour une bière brune), malt caramel (pour une bière ambrée), etc... dues à un touraillage plus ou moins marqué. Le maltage va consister à développer les enzymes et l'amidon contenu dans le grain d'orge.

#### *2- Le maltage, un long processus de confection de la bière :*

Le maltage est constitué de cinq étapes dont le but premier sera de libérer les éléments chimiques présents dans l'orge, notamment les enzymes qui vont transformer les hydrates de carbone (glucides) en maltose, durant le brassage. La première étape est la préparation de l'orge, la seconde est le trempage, puis s'ensuivent la germination, le touraillage, et enfin le traitement du malt. Ces cinq étapes et leurs visées seront détaillées dans les parties suivantes concernant donc le maltage.

### II La préparation :

#### *1- Le but de la préparation de l'orge :*

Elle commence par une sélection des grains d'orge récoltés. En effet, cela permet de ne garder que les grains prêts à germer car tous ne le sont pas, on aura alors un taux de germination maximal, évitant ainsi tout gaspillage de grains, d'eau, de travail et de temps.



*salle de nettoyage et de calibrage de l'orge  
([http://biere.champigneulles.free.fr/brasseries\\_visit.htm](http://biere.champigneulles.free.fr/brasseries_visit.htm))*

Mais la préparation n'est pas uniquement le tri des grains d'orge; ces derniers contiennent des poussières, petites pierres, mottes de terre. Il est donc nécessaire de les nettoyer.

## *2- Son processus :*

Dans un premier temps on fait sécher les grains (sur la touraille, par exemple), pour éviter que des petites particules (poussières, terre...) s'y accrochent. On fait alors mûrir le grain entreposé sur de grandes surfaces aménagées de telle façon que l'orge ait toujours à disposition l'oxygène nécessaire à sa vie et à son développement, le CO<sub>2</sub> et l'eau libérés sont évacués pour ne pas lui nuire et ainsi empêcher la germination de se produire prématurément.

Puis, à l'aide de divers appareils (tamis, aimants...), l'orge et les corps étrangers sont séparés et une soufflerie évacue la poussière. Ensuite, notre bon grain sera séparé de ses congénères cassés qui ne peuvent germer, cela se fait à l'aide d'un tamis. Enfin, le grain propre à l'utilisation est convoyé vers de nouveaux silos avant l'étape suivante.

## **III Le trempage :**

### *1- Le trempage ou approvisionnement des grains d'orge en eau et en oxygène :*

La germination, étape ultérieure, nécessite une grosse dépense d'énergie. Le trempage permettra donc au grain d'accumuler la quantité nécessaire d'H<sub>2</sub>O et d'O pour permettre une germination dans les meilleures conditions possibles.



entrepôt de silos de trempage  
([Http://biere.champigneulles.free.fr/brasseries\\_visit.htm](http://biere.champigneulles.free.fr/brasseries_visit.htm))



silos vu de dessus lors du trempage  
([Http://biere.champigneulles.free.fr/brasseries\\_visit.htm](http://biere.champigneulles.free.fr/brasseries_visit.htm))

Les grains sont mis à tremper pendant une douzaine d'heures à une température entre 12°C et 14°C, puis on évacue l'eau dans laquelle ils baignaient qui contient des poussières, des agents contaminants... On laisse alors l'orge respirer à l'air libre pendant 10 heures. Puis on le met à tremper pendant 4 heures dans de l'eau propre. Ensuite, on évacue de nouveau l'eau et les grains "respirent" pendant 6 à 8 heures pour encore se retrouver en apnée.

Ce cycle se poursuit, le but étant d'alterner les périodes de trempage et d'évacuation pendant près de 36 heures. Pour vérifier que l'orge a bien trempé, chaque brasseur a sa méthode, à savoir que le grain doit se comprimer facilement entre les doigts, ne plus piquer à ses extrémités, et ne doit pas résister lorsqu'on l'écrase avec les dents (éviter cependant cette dernière méthode pouvant s'avérer douloureuse si le grain est encore dur).

## *2- Conditions de qualité des éléments :*

La qualité de l'eau est un facteur essentiel au bon déroulement de la fabrication de la bière. C'est par ailleurs pour cette raison, dans un souci de propreté, que l'eau des silos à trempage est régulièrement changée, on évitera de la sorte toute apparition de moisissures, bien évidemment néfastes à tout point de vue.

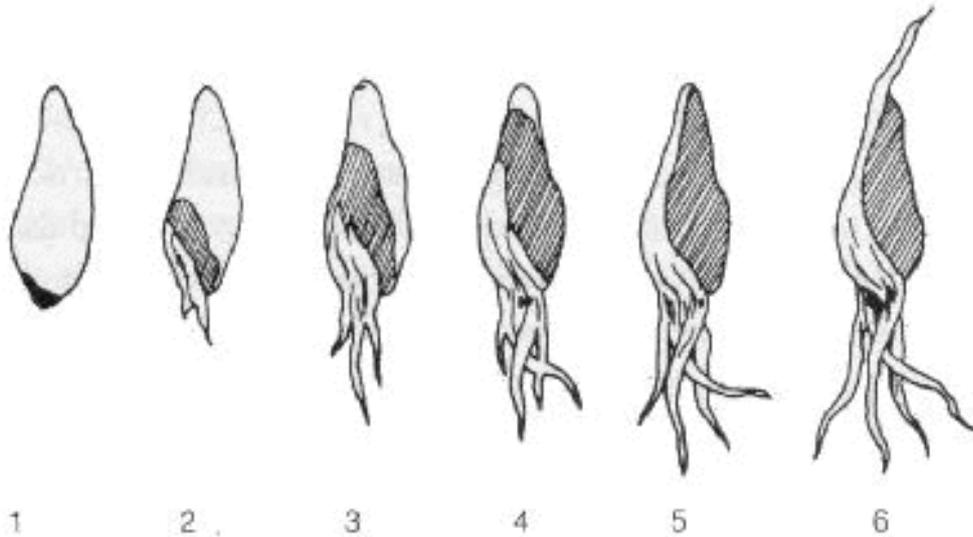
De plus, l'eau utilisée ne doit pas contenir de sels. Bien que ces derniers ne puissent entrer dans l'orge (grâce à sa membrane), les grains auraient tendance à rééquilibrer le taux de salinité intra cellulaire en évacuant leur eau, ce qui est bien loin de nous arranger puisque le but premier du trempage est, comme son nom l'indique, de faire en sorte que les grains se gorgent d'eau.

## IV La germination de l'orge :

### 1- *La germination proprement dite :*

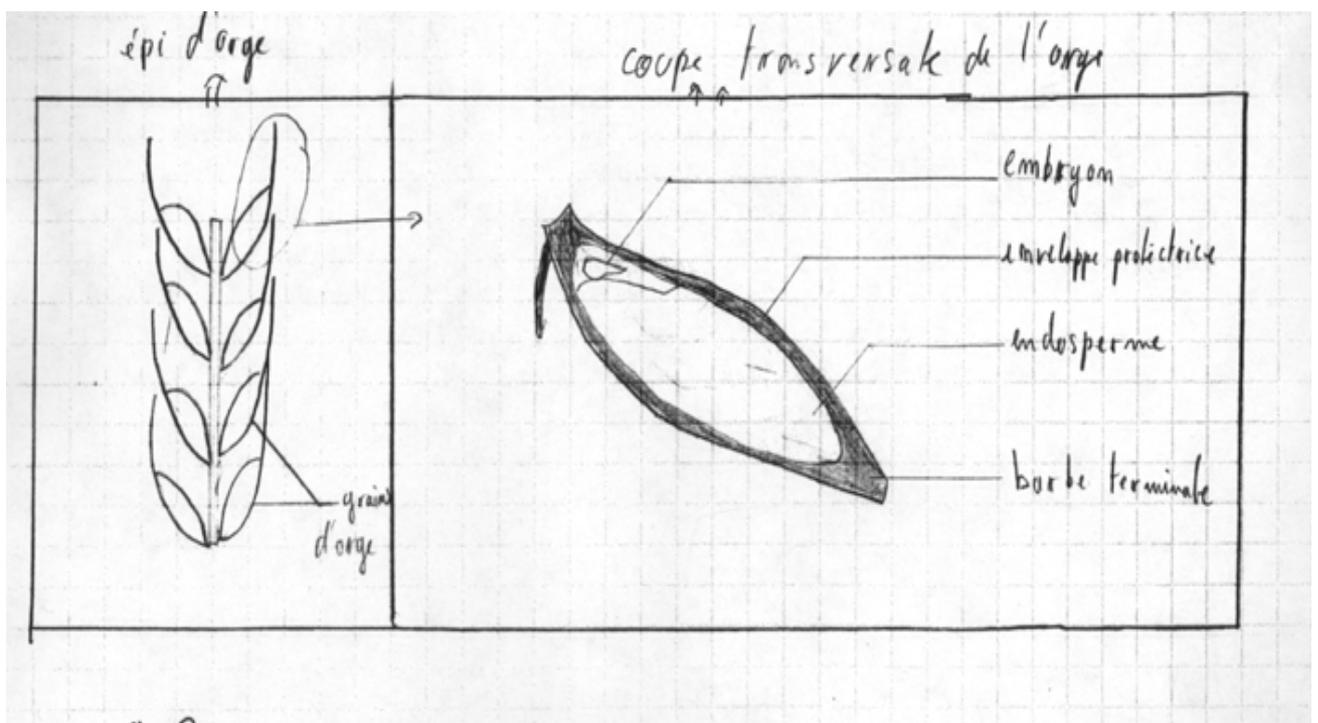
Nos grains ont bien trempé, mais leur périple est encore loin d'être terminé. Il va maintenant leur falloir germer, ce pourquoi ils ont besoin d'une grande dépense d'énergie.

IMAGE : étapes du développement des racicules sur le grain lors de la germination



(<http://home.online.nol/~knafi/malt01.gif>)

étapes du développement des racicules et radicules sur le grain lors de la germination



La germination va provoquer la sécrétion d'enzymes qui transformeront l'amidon et les protéines en acides aminés, permettant ainsi la saccharification lors du brassage ultérieur. Les protéines que contient le malt seront responsables de la mousse de la bière et du moelleux de cette boisson si convoitée, ce qui fait de la germination une étape importante dans la confection de la bière puisque ayant une influence sur le produit final.



entrepôt de germination

([Http://biere.champigneulles.free.fr/brasseries\\_visit.htm](http://biere.champigneulles.free.fr/brasseries_visit.htm))

Cette étape se fait dans de vastes entrepôts où les grains sont étalés uniformément, et en mouvement constant pour aérer l'orge et ne pas le priver de l'oxygène nécessaire à sa germination. La température de la salle doit avoisiner les 15°C et celle-ci doit présenter un taux d'humidité assez élevé, la germination se fera ainsi de façon optimale et naturelle (en effet, les substances accélérant la germination sont interdites).

Lors de la germination, l'amylase contenue dans les cellules de l'orge "digèrera" l'amidon pour en faire des sucres plus simples tels que le maltose et le glucose. La réaction qui se produit est semblable à celle du brassage, on a l'action des amylases A et B; c'est donc lors de la germination que se déclenche l'activité enzymatique, mais avec un taux relativement faible.

En effet, ce n'est qu'environ 5% de l'amidon de l'orge qui seront transformés en sucres rapides. Ces sucres sont nécessaires pour nourrir le germe. Ce dernier atteint sa maturité lorsque tous les sucres ont été consommés. C'est pour cela que la germination doit être interrompue à un instant précis, de façon à ce qu'il reste assez de sucres pour la fabrication de la bière.

Elle est donc stoppée lorsqu'il y a suffisamment d'enzymes pour dégrader l'amidon et les protéines restantes. A cet instant, le malt contient 7,5% à 10% de sucres.

## *2- Liquéfaction des parois cellulaires :*

La liquéfaction des parois cellulaires est un des phénomènes importants de la germination. En effet, ce qui ne paraît qu'être un détail a en réalité une fonction prépondérante. Ici, 3 enzymes (la cytose, la xylanase et les pectases) vont agir l'une après l'autre pour aboutir à la perte par les cellules de l'orge de leurs parois. L'intérieur de la graine pourra ainsi être désagrégé pour pouvoir en extraire la farine de malt.

Quand le brasseur estime que la germination est suffisante, il arrête en supprimant

toute humidité du grain. Il pourra utiliser pour cela un gigantesque séchoir (voir photo ci-dessous).



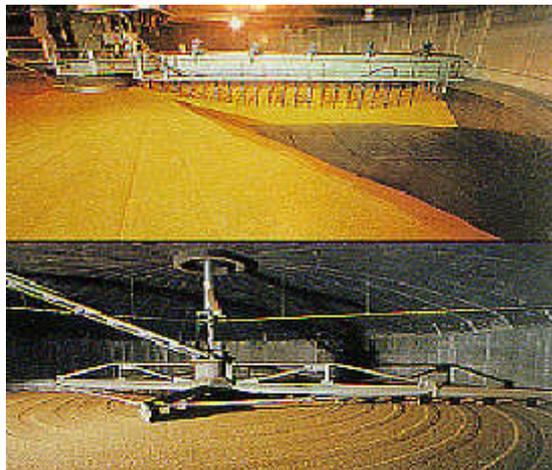
le séchage de l'orge germé  
([Http://biere.champigneulles.free.fr/brasseries\\_visit.htm](http://biere.champigneulles.free.fr/brasseries_visit.htm))

Les grains sont alors prêts pour l'étape suivante.

## v Le touraillage :

### *1- Le processus du touraillage :*

Le touraillage consiste à supprimer l'humidité e la précédente germination. Pour cela, les grains sont transportés dans une touraille; un immense four où ils seront grillés.



la touraille

Le touraillage dure environ 35 heures en tout et pour tout. Pendant les 30 premières, les grains sont chauffés à une température relativement faible (environ 45°C). Il n'y a pas de risques que l'amidon soit dégradé car il n'y a pas assez d'un à l'intérieur du grain pour que la réaction se produise. Les 30 premières heures passées paisiblement, on donne alors ce qu'on appelle le "coup de feu", c'est-à-dire qu'on augmente brusquement la température.

Si les étapes précédentes sont essentiellement des étapes de préparation du grain aux étapes ultérieures, le rôle du touraillage est tout autre, celui-ci est en effet un tournant dans la fabrication de la bière car le type de celle-ci (blonde, brune, caramélisée...) dépendra de l'intensité de chaleur de la 2ème étape de chauffage des grains.

## *2- Différents types de caisson: différents types de bières :*

Il est possible d'obtenir des malts de saveurs et de couleurs différentes en fonction de la vitesse de séchage et de température (plus ou moins élevée) de touraillage. Les grains d'orge (dont la membrane contient de l'amidon) vont voir la première de leur surface augmenter lors du coup de feu. L'amidon est dégradé en de plus en plus petits sucres à cause des hautes températures, puis cette chaleur va faire caraméliser les sucres rapides formés. C'est le principe de la réaction de Maillard. Ainsi, l'obtention de plusieurs types de malt (et donc de bières) est possible, selon un coup de feu à une température relativement faible (80°C) ou élevée (105°C pour l'extrême). Une bière blonde, par exemple, est faite à partir de grains légèrement torréfiés, une bière brune à partir de grains moyennement torréfiés et une bière noire aura besoin de grains très torréfiés, mais elle s'approche plus, de par son apparence et son goût, d'un café noir.

On peut donc jouer sur le facteur touraillage pour donner (sans mauvais jeu de mots) un panaché de bières intéressant.



grains blonds

[www.beer-brewing.com/beer-brewing-malt.htm](http://www.beer-brewing.com/beer-brewing-malt.htm)



([home.freiepresse.de/ anst/bier/bier1.htm](http://home.freiepresse.de/anst/bier/bier1.htm))

Différents exemples de malt:

\* malts caramels = on distingue -le carapilis (ou caramel clair), c'est un malt faiblement caramélisé donnant du corps à la bière. A utiliser avec modération (plus de 10% par bassin) car son goût devient désagréable.

-le caramel foncé, malt très caramélisé ayant les mêmes propriétés que le précédent, avec un goût de caramel plus Prononcé.

-le cristal malt, amène en plus du caramel foncé une saveur amère de sucre bien brûlé.

\* malt ambré = il donne un goût de biscuit plus ou moins prononcé. Pour un tel malt, le coup de feu se fait à environ 135°C.

\* malt chocolat = il donne un goût de chocolat noir très fort et se caractérise par son amertume.

\* malt noir = c'est le malt le plus torréfié lavant d'obtenir de petits cailloux noirs caramélisés en guise de malt! Il a les mêmes attributs que le malt chocolat mais donne plutôt un goût de café très noir: estomacs sensibles: s'abstenir!  
Aux vues des grandes températures infligées au malt, on peut être amené à se demander quel sera l'avenir des enzymes qu'il contient.

### 3- Les enzymes lors du touraillage :

La première phase du touraillage (les 30 1ères heures) a pour but de stopper l'action des enzymes dans le grain. Les enzymes sont sensibles aux températures extrêmes, on peut donc s'inquiéter de leur état à partir du coup de feu donné lors du touraillage.

Si les grains sont ramollis pendant la germination, ils concernent toutefois leur membrane protectrice. C'est celle-ci qui va préserver les grains des grosses chaleurs, la réaction de Maillard ne se produira qu'en surface (c'est un principe de la cuisson en cuisine ; pour le pain par exemple, il est évident que la croûte ne va être présente qu'en surface et non à l'intérieur) préservant ainsi les enzymes du grain.

Tous les enzymes ne s'en sortent toutefois pas indemne, notamment lorsque le

touraillage se fait à toute température. Le taux de dénaturation des enzymes est donc un facteur de goût pour la bière car si la température est haute pendant cette étape, il n'en restera pas beaucoup pour le brassage qui arrive à grands pas !

## **VI Le traitement du malt :**

Ceci est une étape de finition qui consiste à retirer les radicules du grain. On le laisse se remettre de ses émotions pendant une période allant de 2 à 3 semaines lors desquelles le grain reste tel quel en composition car il ne contient plus assez d'eau (1% à 3% de sa masse) pour se transformer. La masse finale de malt obtenue représente 75% de celle de l'orge de départ; perte notamment due à la disparition des radicules et à l'évaporation de l'eau. Les grains (alors rebaptisés "malt") sont prêts pour le brassage.

## III - Le brassage de la bière

Le maltage, étape précédente, préparant au brassage qui lui-même a pour rôle de préparer la fermentation.

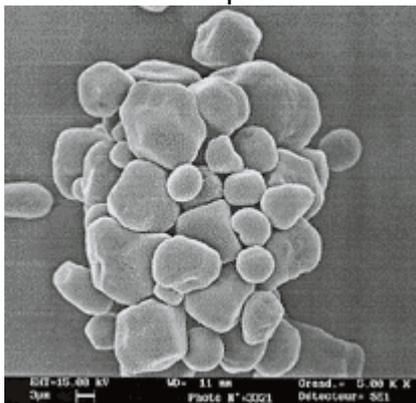
Le brassage est donc aussi déterminant que le maltage. La qualité de ce premier influant directement sur la fermentation et sur la qualité même de la bière naissante.

Il sera donc ici décrit les points essentiels du brassage.

Objectif du brassage: casser les molécules d'amidon en disaccharides.

### 1. Un mot sur l'amidon

Macromolécule de la famille des glucides, on parle de polysaccharide si l'on copie le vocable anglo-saxon. L'amidon est la substance de réserve par excellence des végétaux, il constitue le matériau de base pour l'alimentation humaine.



*Une molécule d'amidon observée au microscope électronique*

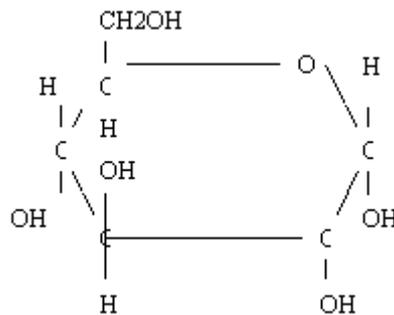
Source : <http://www.vegemat.com/images/amidon.gif>

Dans notre cas, l'amidon sera dégradé en sucres plus simples, comme le glucose ou le maltose (le glucose étant le sucre "élémentaire" et le maltose étant constitué de deux unités glucose). En effet, l'amidon est une structure macromoléculaire constituée de plusieurs dizaines de milliers d'unités. Un tel élément n'est pas assimilable par des levures en raison de sa taille, d'où l'utilité de casser cette molécule.

Mais pour bien comprendre le phénomène (dégradation de l'amidon), nous allons d'abord l'étudier en sens inverse, c'est-à-dire qu'à partir d'une unité glucose nous allons reconstituer une molécule d'amidon.

Voici la représentation d'une molécule de glucose:

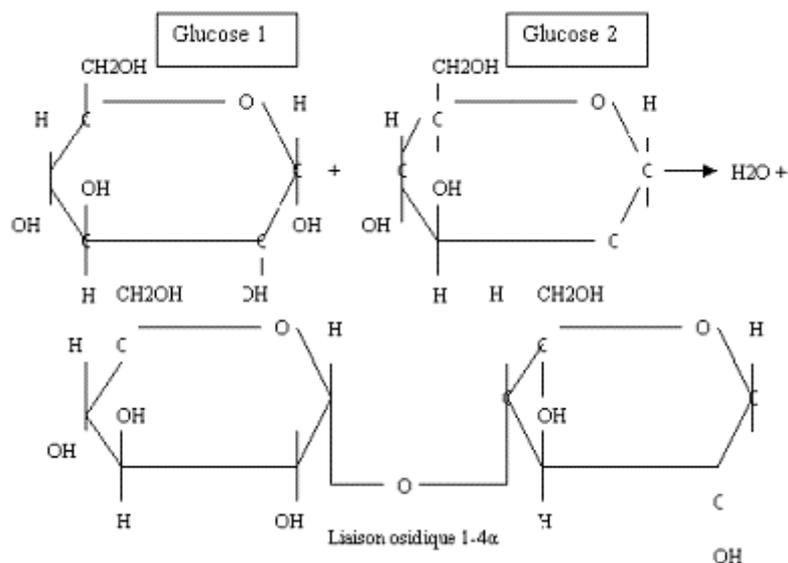
C étant le carbone, O l'oxygène et H l'hydrogène



Source des images 2-3-4 :

<http://museum.agropolis.fr/pages/savoirs/bieres/2fabrication.htm#amidon>

Et maintenant voici le schéma de la liaison de 2 glucoses entre eux :

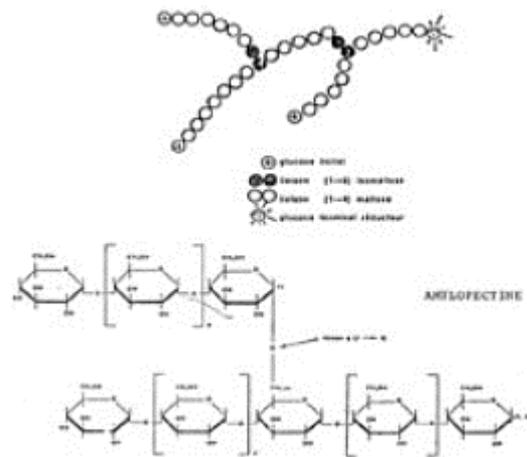
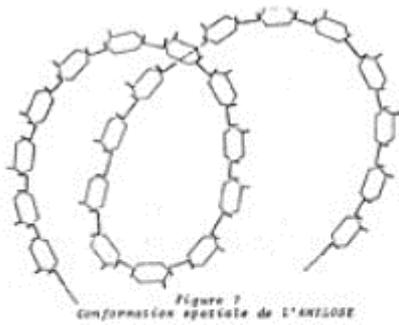


Le glucose 1 et 2 s'enchaînent entre eux par liaison Osidique (= 1.4 ?)  
Se traduisant par une perte d'une molécule d'eau (H<sub>2</sub>O) à cet emplacement.

**Remarque :** *L'Amylosynthétase permet de synthétiser de l'amidon à partir de glucose et d'eau. On la rencontre dans la plupart des végétaux stockant leur réserves énergétiques sous forme d'amidon.*

**Ex :** *La pomme de terre*

En poursuivant les enchaînements (la polymérisation) on obtient une chaîne l'amylose qui dans l'espace, en fonction du milieu, s'entortillera de façon complexe. Pour compliquer l'ensemble une autre molécule résulte de l'enchaînement d'unité glucose ; il s'agit de l'amylopectine. Sur une chaîne de type amylose "linéaire" tous les 30 à 40 glucoses vient se greffer une branche co-latérale ; on parle de liaison 1-6.



Finalement, l'amidon est une macromolécule constituée d'amylose et d'amylopectine : la fréquence de cette dernière détermine un type d'amidon spécifique

## 2. Le brassage proprement dit

### a) La biochimie du brassage

- Concassage du grain ( Malt)

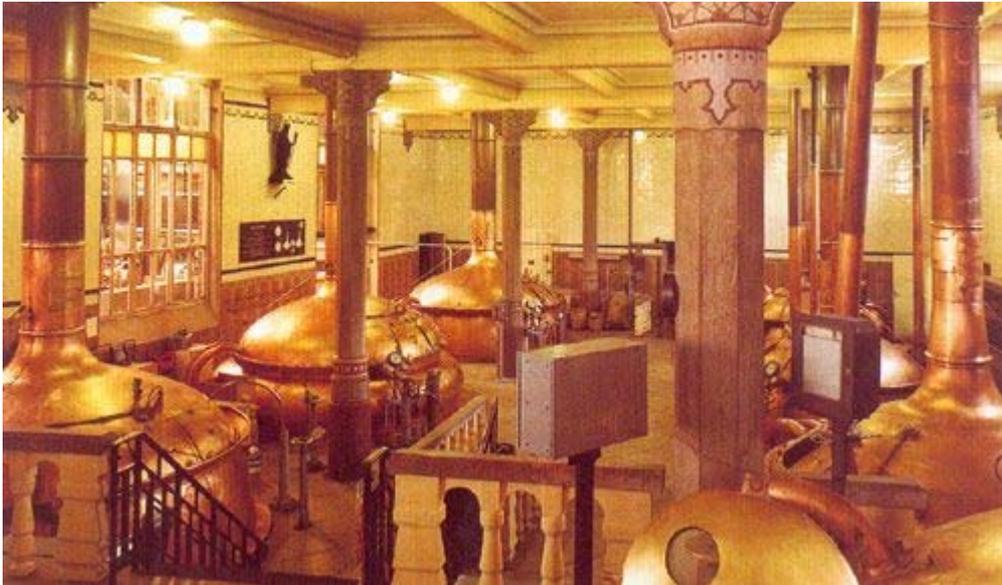
Le malt subit une mouture grossière (concassage) afin d'exposer l'amidon et les enzymes à l'empâtage. Le malt est ainsi transformé en farine, mais qui reste néanmoins assez épaisse, sans quoi la filtration ultérieure serait impossible.

- L'empâtage

L'empâtage est l'étape durant laquelle on mélange le malt moulu avec l'eau chaude. Cette étape précède le brassage.

Ce mélange s'appelle le brassin ( Maïche) , celui ci sera transvasé dans une cuve de brassage et sera soumis à plusieurs paliers de températures dont le rôle sera toujours spécifique

***Remarque :*** La qualité de l'eau lors du brassage est largement aussi importante que celle des ingrédients que l'on verse dedans. Elle doit être assez neutre, avec une tendance légèrement acide afin de favoriser l'action des enzymes du brassage



Cuves de brassage

Source : <http://perso.wanadoo.fr/jean.balsalobre/bieres/fabribeer.html>

Avant de détailler les réactions ayant lieu pendant le brassage, nous allons d'abord nous intéresser aux différents paliers de température et leur influence sur la bière, ceci dans le tableau suivant :

TEMPERATURE	ACTIVITES ENZYMATIQUES	INFLUENCES SUR LA BIÈRE
entre 45°C et 55°C	Protéases actives : dégradation de protéines en peptides et acides aminés	Tenue de la mousse Limpidité
entre 55°C et 60°C	Début de formation du Maltose par la $\beta$ -amylase	Degré d'alcool bière plus mince
entre 60°C et 65°C	Activité maximale de la $\beta$ -amylase	
entre 65°C et 70°C	Formation croissante de dextrines par l' $\alpha$ -amylase Formation décroissante de maltose	Corps de la bière bière plus moelleuse
entre 70°C et 75°C	Activité maximale de l' $\alpha$ -amylase	
Au-delà de 75°C	Destruction des enzymes	

Entrons maintenant dans les Détails du brassage :

Lorsque l'on brasse du grain on utilise les propriétés de trois enzymes la protéase , l'Alpha amylase et la Béta-amylase

- La protéase :

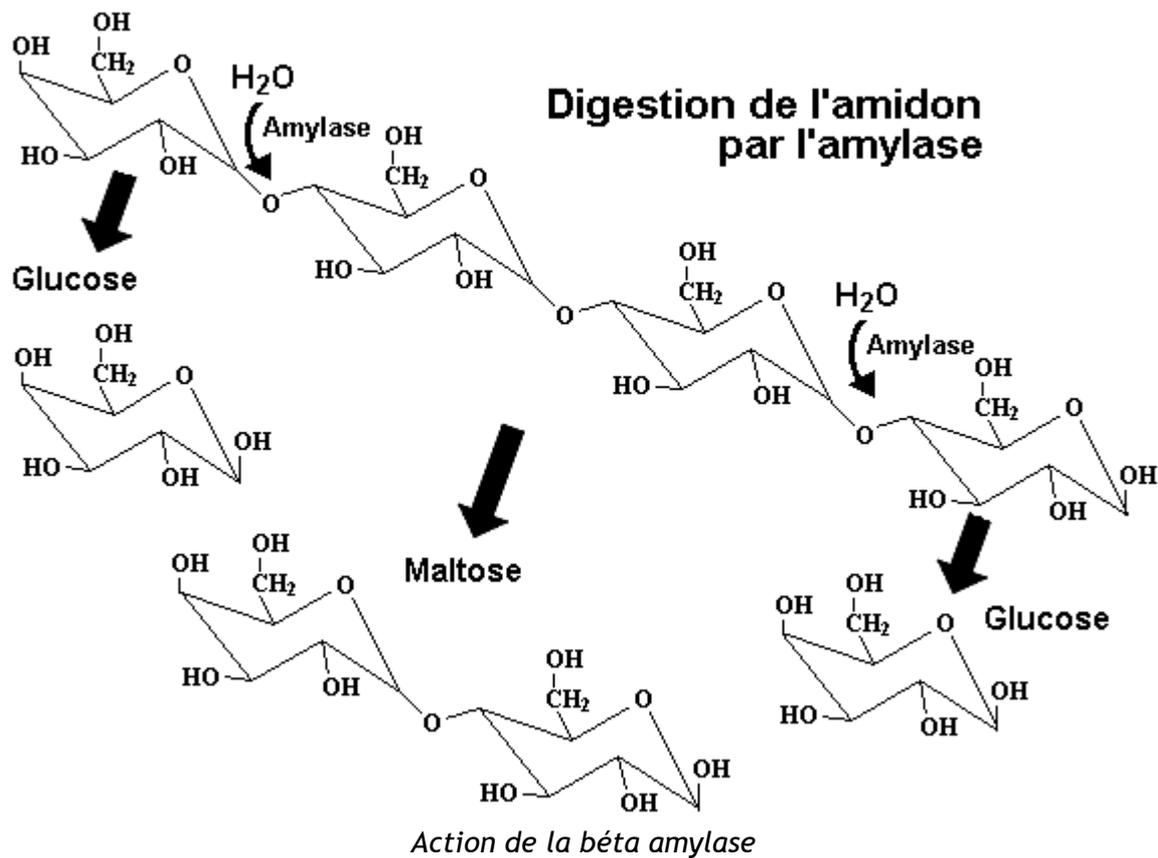
Elle va couper les protéines en unités plus petites : acides aminés et peptides. Ceux ci sont source de nourriture pour les levures, mais aussi peptides et protéines ont la propriété de se lier d'un coté à l'air (CO<sub>2</sub>) et de l'autre l'eau, elles se placent donc à l'interface Eau/air et, assurent une bonne cohésion des bulles présentes dans la bière après la fermentation. Ainsi lorsque les bulles de gaz remontent à la surface, celles ci sont piégées à la surface, et créent cette structure mousseuse, humide et épaisse caractéristique de la bière.

Et en plus d'être un atout esthétique et un facteur de plaisir supplémentaire, ce col protège la bière de l'oxydation permettant de sauvegarder toute sa saveur.

Mais le principal rôle du brassage sera l'amylolyse ,c'est à dire la rupture de la macromolécule d'amidon en sucres plus petits.

Pour cela, on recrute deux enzymes principales : l'amylase alpha et l'amylase béta.

- le rôle de l'amylase alpha est dit liquéfiant , elle va faire des cassures de la molécule d'amidon afin de former une molécule de dextrine composée de plusieurs milliers d'unités glucose.
- le rôle de l'amylase béta est dit saccharifiant , elle va en effet faire de petites cassures au sein de la molécule d'amidon pour former des molécules de maltose (composé deux molécules de glucoses)



*N.B.: les amylases alpha et bêta agissent de la même manière pour faire leur cassure de l'amidon ; elles procèdent par amylolyse , ou plus précisément par hydrolyse : l'incorporation d'une molécule d'eau (hydro) permet la séparation des liaisons osidiques (liaison entre oses) , c'est le schéma inverse de la formation d'une molécule d'amidon par perte d'eau.*

Amylases : liaisons 1-4a :

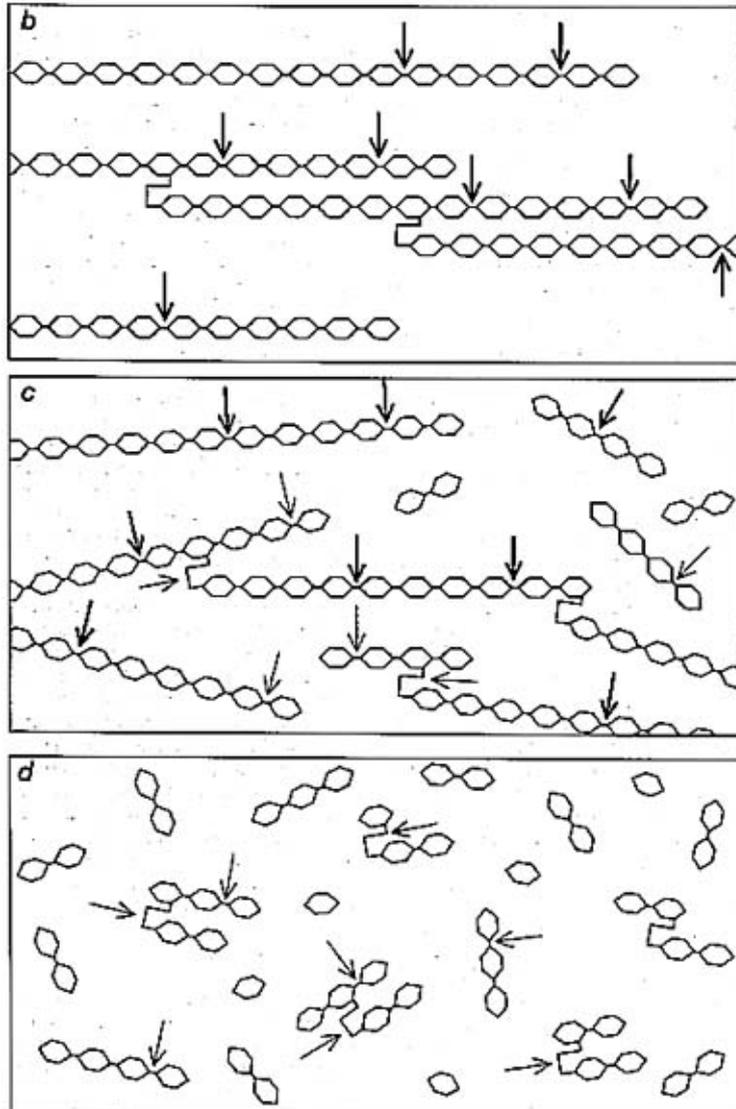
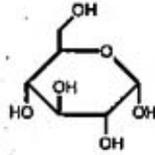
- amylase  $\beta$  (saccharifiante)
- amylase  $\alpha$  (liquéfiante)

liaisons 1-6 : - déramifiante

Produits d'hydrolyse:

amidon => dextrines = n glucoses => maltose = 2 glucoses

a



a) Hexose (glucose , fructose, lactose... ) correspond à un hexagone des schémas suivants  
b) l'amidon de l'orge est dégradé par la bêta-amylase qui coupe des disaccharides en fin de chaîne et on obtient du maltose. L'alpha-amylase coupe à l'intérieur de la chaîne et on obtient des dextrines.

c) et d) l'amyloglucosidase dégrade les dextrines en molécules de glucose. Grâce à ces enzymes, l'amidon est entièrement dégradé ce qui permet la production de bières "light".

Source : Pour la science n°58 « boissons et aliments alcoolisés »

Les enzymes alpha & bêta ayant toutes les deux des domaines de température prédominant, c'est à dire l'optimum ( entre 55°C et 65°C pour la bêta, et 65°C et 75°C pour la alpha )

Il est possible de former plus de dextrine, ou plus de maltose en fonction de la durée pendant laquelle on laisse agir plus une amylase par rapport à l'autre (en maintenant à une température choisie)

En jouant sur ce paramètre , il est possible de faire des bières plus ou moins moelleuses (dextrines) ou alcoolisées (petits sucres, voir partie fermentation).

## b) Les différents types de brassages

Ayant vu le fonctionnement de l'amylolyse, nous pouvons maintenant expliciter les deux principales méthodes utilisées en brasserie, à savoir le brassage par infusion, utilisé surtout pour les bières de fermentation haute, et le brassage par décoction, utilisé pour les bières de fermentation basse

- Brassage par infusion :

L'infusion se pratique en chauffant progressivement le brassin (mélange les grains avec l'eau). On élève généralement la température à 45°C, température maintenue pendant une demi-heure environ, pour obtenir une dissolution des matières azotées. Puis on augmente la température à 62°C, pendant une demi-heure encore, pour la formation de sucres fermentescibles, puis à 70°C, pour la formation de dextrans. Le brassage par infusion se termine à 75°C.

- Brassage par décoction :

Le brassage par décoction est plus long et plus difficile. Il consiste à prélever une partie du brassin que l'on chauffe à part à 70°C avant de le faire bouillir. Puis on remet ce brassin bouillant avec le brassin non prélevé, ce qui a pour effet de faire monter la température à environ 55°C. L'opération est renouvelée deux autres fois, permettant d'obtenir une température de 75°C.

Pour un brassage amateur, on agit plutôt comme cela :

- On chauffe 20 minutes à 60 degrés (Béta) , et 40 minutes à 70° , pour un moût , dense et riche en dextrine.
- Ou, on chauffe 40 minutes à 60° (Béta) et 20 minutes à 70° , pour un moût mince et riche en sucres fermentescibles

Finalement, l'empâtage ou brassage proprement dit est donc l'étape où on prend le malt concassé et y ajoutons de l'eau pour lui faire subir différents plateaux de température en vue d'obtenir un liquide plus ou moins fermentescible. On appelle saccharification l'action de transformer l'amidon en glucose et dextrans. On obtient ainsi le moût

## 3- Filtration et aromatisation du moût

- filtration :

Généralement, les bonnes cuves de brassage sont munies d'un second fond troué par lequel le moût va passer et sera filtré. On avait précédemment concassé les grains de malt sans pour autant en faire de la farine : les grains de malt concassé de taille raisonnable vont servir de filtres naturels. On nomme ce filtre la drèche , qui ensuite est utilisé pour nourrir le bétail. Donc la filtration se fait en recueillant le moût qui a traversé les drèches. Si le moût ressort trouble , on répète l'opération, on le reverse dans la cuve de brassage, et de nouveau celui ci traverse les drèche, et ce jusqu'à clarification du moût, c'est à dire lorsque celui ci est débarrassé de ses impuretés. On appelle cette étape la re-circulation. Si la cuve de brassage n'est pas munie d'un second fond, on transvase le moût et les drèches vers un autre récipient qui fera office de cuves trouée

- Aromatisation :

Le moût clarifié obtenu est très vulnérable aux différents micro organismes environnants, c'est pour cela qu'il est nécessaire de stériliser le moût. La meilleure façon de procéder reste encore de le faire bouillir dans une chaudière. Pendant la durée de l'ébullition généralement comprise entre 60 et 90 minutes, on va "houblonner" le moût, c'est à dire y incorporer du houblon

Avant de poursuivre , nous allons faire une petite description du houblon. Le houblon fait partie de la famille des Cannabinacées c'est une plante rampante qui produit des fleurs (cônes) très aromatiques

Seules les fleurs femelles sont utilisées en brasserie , car les fleurs mâles ne possèdent pas de cônes.

Pour houblonner la bière, on utilise les cônes de la plante, cette partie de la plante est riche en humulone , ou acide Alpha

Le pourcentage d'acide alpha est donc une fonction croissante de l'amertume de la bière.



*Cônes de houblon fécondé*

*Plantation de houblon*

*Les images suivantes sont issues du même site : <http://www.vet-lyon.fr/ens/nut/webBromato/cours/cmospgrai/fabiere/houblon.html>*



*Cônes de houblon , fleur femelle non fécondée*

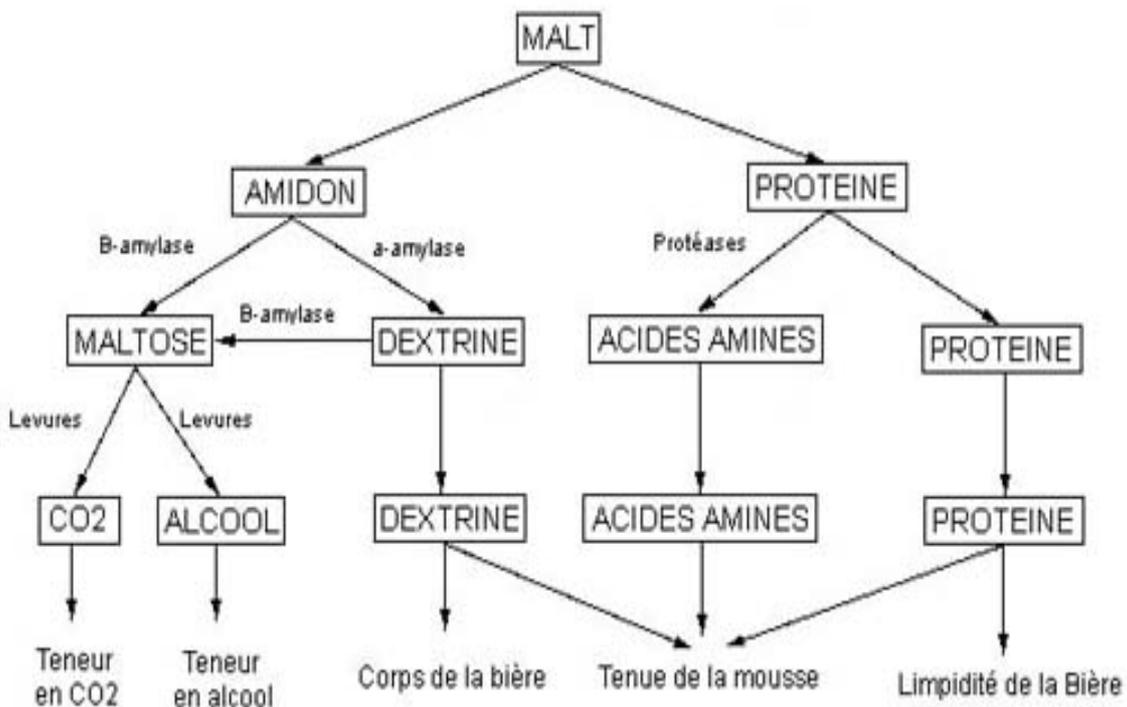
Reprenons maintenant le houblonnage, il se fait en deux étapes:

- la première dure entre 60 et 90 minutes pendant la période de stérilisation du mout ( mout porté à ébullition ).  
Pendant cette période le mout à ébullition est régulièrement agité (soit à la main soit grâce à une hélice placée au fond de la cuve ) pour éviter la caramélisation du maltose Cette étape contribue surtout à l'arrière goût de la bière car la majorité des huiles essentielles des cônes de houblons seront évaporées durant l'ébullition
- La deuxième étape à lieu à la fin des 60 à 90 minutes de l'ébullition et a une fonction aromatique : les huiles essentielles qui contiennent les acides alpha se retrouveront presque intactes après refroidissement du mout, ce qui contribuera à l'amertume de la bière

NB : l'ébullition du moût permet aussi de dénaturer les amylases alpha et bêta, ainsi que les protéases. Il est aussi important de souligner le double rôle que joue le houblon. Bien que sa principale raison d'être soit ses vertus organoleptiques, il possède aussi d'excellentes propriétés antiseptiques ce qui assure plus de succès lors de l'élaboration d'une bière et permet au houblon d'être le principal arôme naturel apporté à la bière depuis des siècles. Ses propriétés antiseptiques viennent du fait qu'il acidifie le moût ce qui permet d'éliminer nombre de bactéries

Enfin, les cônes de houblon sont récupérés au moment de la vidange de la chaudière, dans un bac qui joue le rôle de filtre. Le moût clarifié est refroidis à l'abri de l'air dans un bac de refroidissement , où il est en contact au travers de minces plaques d'acier inoxydable , avec de l'eau très froide. L'acier est un bon conducteur, donc le transfert thermique est optimum. Le moût atteint sa température idéale en vue de la fermentation.

Avant de passer à la fermentation , voici un schéma résumant bien la situation :



## EXPERIENCE : test de la dégradation de l'amidon par les enzymes du malt lors du brassage

On se propose de reproduire les conditions du brassage et de s'assurer que, lors de cette étape, la quantité d'amidon baisse par l'action des enzymes contenues dans le malt. Parallèlement, on vérifiera que les petits sucres (inférieurs ou égal en taille au maltose) apparaissent au cours du brassage à l'aide de la liqueur de Fehling L'autre observation proposée par ce TP est de montrer que les enzymes du brassage possèdent un net optimum.

matériel :

- \_bêcher de glace
- \_tubes à essai
- \_eau iodée
- \_4 bains-marie
- \_malt concassé
- \_balance
- \_agitateur magnétique
- \_thermomètres

Protocole expérimental :

On prépare une solution d'eau distillée (la plus froide possible pour éviter que la réaction ne se produise) et de malt pillé à l'aide d'un mixeur (on ne le broie pas trop afin de ne pas détruire la structure du grain) qu'on homogénéise à l'aide d'un agitateur magnétique.

On prélève ensuite un volume équivalant de la solution mère que l'on verse dans un tube à essais. Celui ci est ensuite placé dans un bain marie qui sera chauffé à une température respective. Cependant, chaque tube est placé dans le bain marie en même temps que les autres, pour  $t = 0$

**Bain marie n°1 = 20°C**

**Bain marie n°2 = 60°C**

**Bain marie n°3 = 75°C**

**Bain marie n°4 = 95°C**

On réalise des tests à l'eau iodée et à la liqueur de fehling à des intervalles de temps de 5 minutes. Pour cela, les quatre premiers tubes ( un à chaque température ) de moût sont prélevés à  $t=0$ , le test à l'eau iodée est effectué pour chacun d'eux. On recommence la manœuvre toutes les 5 minutes, jusqu'au dernier prélèvement à  $t=30$  minutes.

Résultats/observations :

Tube 1 :  $T^{\circ}=20^{\circ}\text{C}$

Tube 2 :  $T^{\circ}=60^{\circ}\text{C}$

Tube 3 :  $T^{\circ}=75^{\circ}\text{C}$

**Tube 4 :  $T^{\circ}=95^{\circ}\text{C}$**

***Remarque : l'eau iodée est un réactif quantitatif de l'amidon , plus il y en a plus il tend vers le bleu foncé (marine) , moins il y en a moins la réaction se produit***

Vidéo montrant les résultats observés pour les différents tubes à différents temps



*Double cliquez sur la vidéo pour la lire*  
 Nom de la vidéo sur le CD : experience\_lyschems.mpg

<i>Temps \ Tubes</i>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>0</b>	forte coloration bleu marine	forte coloration bleu marine	forte coloration bleu marine	forte coloration bleu marine
<b>5</b>	forte coloration bleu marine	coloration moindre mais tjrs accentuée	coloration moyenne	forte coloration bleu marine
<b>10</b>	Coloration moindre mais tjrs accentuée	coloration moyenne	coloration faible	forte coloration bleu marine
<b>15</b>	la coloration reste importante	coloration visible bien que peu marquée	coloration presque nulle	forte coloration bleu marine
<b>30</b>	Faible diminution de la coloration	Coloration quasi nulle	Aucune réaction	Coloration bleue marine marquée

Le test à la liqueur de fehling n'a pas été fait, car en réalité, le malt pillé, contenait déjà quelques sucres fermentescibles. Cependant, la coloration rouge brique n'était pas très prononcée. Elle s'est prononcée d'un coup pour les tubes 2-3-4 après 5 minutes de brassage

Le tube 1 à eut un test à la liqueur de fehling totalement positif vers 10 minutes Ceci montre que le maltage produit quelques sucres fermentescibles qui sont automatiquement détectés lors du test. Cependant, on peut aussi constater que les tubes 2-3-4 ont activés leurs enzymes plus rapidement que le tube 1

## Conclusion :

On observe donc que, conformément au processus du brassage, la quantité d'amidon diminue au cours du temps.

L'apparition des sucres fermentescibles se fait dès les premières minutes

De plus, la diminution rapide de la quantité d'amidon à l'optimum ainsi que la stagnation de celle-ci à 95°C (température extrême) montre bien que ce sont les enzymes présentes dans le malt qui sont responsables de la réduction de l'amidon.

Dans le cas de la stagnation totale à 95°C, on suppose que les enzymes ont été irrémédiablement déformés par la température importante, et n'ont pu jouer aucun rôle pendant le brassage

## IV - La fermentation et le rôle des levures dans la bière

### 1-Généralités

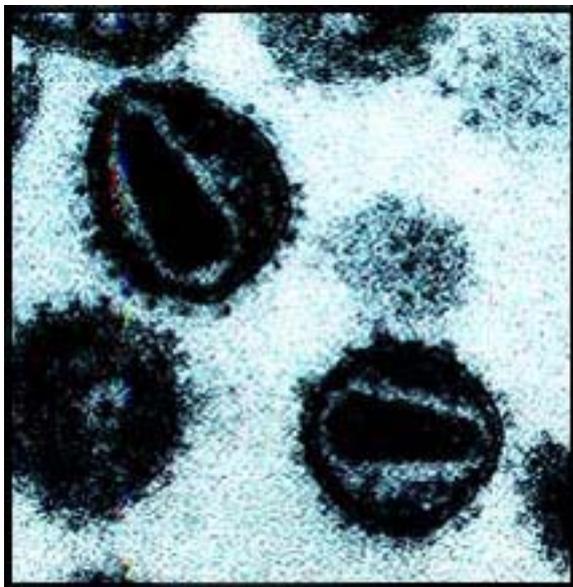
#### a) les micro-organismes

Les micro-organismes sont des organismes soit unicellulaires, soit pluricellulaires, mais dont les cellules sont indifférenciées. Ils sont bien sur composés de trop peu de cellules pour être observables individus par individus à l'œil nu.

Ce groupe est assez hétérogène car on peut aussi bien y trouver des organismes végétaux qu'animaux, procaryotes ou eucaryotes.

On peut cependant distinguer différentes catégories :

- les algues
- les protozoaires
- les bactéries
- les virus
- Les champignons : Filamenteux, levures
- ...



*Le virus HIV en pleine prolifération*



*Des colonies de bactéries.*

Leurs actions sont toutes aussi hétérogènes, allant de la synthèse de médicament aux virus pathogènes.

L'industrie utilise beaucoup ces micros organismes du fait de leur résistance à toute épreuve : ce sont bien souvent des micros organismes qui sont les seules traces de vie dans les milieux extrêmes (température, pH, et même pour certains en milieu radioactif)

Leur faible coût est aussi un avantage énorme pour l'industrie, du fait de leur faible exigence énergétique. Mais ce qui intéresse surtout l'industrie est leur

capacité à synthétiser (ou dégrader) des molécules soit parce qu'ils sont génétiquement modifiés dans ce but, soit parce ces molécules sont tout simplement les déchets de leur *métabolisme*

L'action d'un micro-organisme qui nous intéresse dans ce Tpe est la Fermentation, qui permet la fabrication des boissons alcoolisées, mais aussi du pain, et de manière plus large des laitages

## b) la levure et la bière

Nous nous intéressons ici au rôle des levures dans la bière : ces sont elles qui produisent l'alcool et le dioxyde de carbone présent dans la bière, sous l'action de la fermentation alcoolique

La fermentation est donc une voie catabolique (dégradant des molécules organiques) qu'utilisent les levures pour tirer de l'énergie de leur milieu (et donc pour vivre) et l'alcool et le CO<sub>2</sub> en sont les déchets finaux

L'industrie de la bière à grande échelle les utilise énormément, et garde jalousement leurs propres souches triées sur le volet (en fonction de leur rendement et de leur influence sur le goût !)



*saccharomyce Cerevisiae, une des espèces de levures la plus utilisée  
(observé au microscope électronique)*

*les traces visibles à la surface sont des hernies, d'où sont partis les bourgeonnements (mitoses)*

**Remarque** : les levures ne sont pas les seules à utiliser la fermentation, puisque certaines bactéries sont aussi capables de fermenter, mais contrairement aux levures, elles ne produisent pas d'alcool, mais, par exemple, de l'acide lactique, on parle donc de fermentation alcoolique pour les levures

Même si dans la plupart des bières, ce sont uniquement les levures (spécifiques à la bière) qui sont les agents de la fermentation (d'où une exposition minimum des cuves à l'air pour éviter les contaminations), certains brasseurs belges, fabricant de bière dites « lambic » exposent volontairement leur cuve à fermentation à l'air afin de faire participer les bactéries et différentes souches de levures sauvages à la fermentation

Bizarrement, cette pratique ne réussit que dans un certain lieu précis de Belgique, où les bonnes souches de levures, et de bactéries sont présentes dans l'air

## c) la place chronologique de la fermentation dans la fabrication de la bière

### 1-la fermentation principale

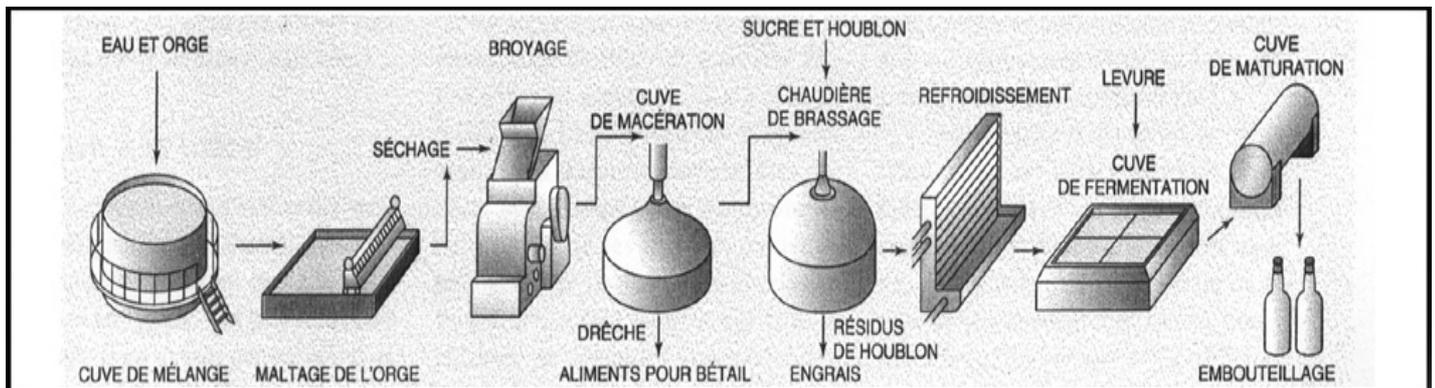
Les levures occupent la place centrale dans la fabrication de la bière, en effet le maltage puis le brassage servent en fin de compte à produire la nourriture des levures qui par le biais de la fermentation, tirent l'énergie présente dans le glucose et les autres sucres fermentescibles (fructose, maltose) et rejettent comme déchet de l'Ethanol, et du CO<sub>2</sub>.

Elles produisent aussi d'autres molécules dans leur milieu qui influent sur le goût (souffre ...)

Elles sont donc essentielles à la fabrication de la bière, même si l'orge, et le houblon et les divers ingrédients possibles comptent aussi (on ne fait pas une bière en plongeant des levures dans de l'eau sucrée)

La fermentation est une étape à part entière de la bière, elle se situe après le maltage et le brassage qui sont nécessaires à la fermentation

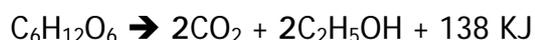
Cette étape est globalement très longue par rapport aux autres étapes puisqu'elle dure généralement une à deux semaines pour la 1<sup>ère</sup> fermentation



Source : Pour la Science n° 55 p.88

Le brasseur peut ainsi modifier le goût de la bière en jouant sur la quantité de sucres fermentescibles, de levures (un peu comme des réactifs en chimie) et sur la durée de fermentation

Ainsi il aura plus ou moins de produits suivant l'équation bilan de la fermentation :



Glucose/Fructose → 2 Dioxyde de carbone + Ethanol + Energie

On peut remarquer que l'oxygène n'intervient pas dans la réaction, pourtant il ne s'agit ni de la photosynthèse puisque c'est une réaction hétérotrophe (consomme des molécules organiques comme le glucose), ni de la respiration puisque l'oxygène n'intervient pas

C'est le propre de la fermentation : dégrader des matières organiques en anaérobie (sans O<sub>2</sub>) afin d'en utiliser l'énergie

Cependant cette voie catabolique ne représente qu'une partie du métabolisme de levure, qui est un organisme exceptionnel car elle est capable de s'adapter à un milieu aérobie, ou anaérobie, utilisant la respiration dans le premier cas et la fermentation dans le second

La fermentation principale se déroule dans les cuves de fermentation dans lesquelles on a versé le moût et où on introduit la quantité choisie de levure

Ces cuves referment aussi de l'air, cependant elles sont fermées hermétiquement, ou possèdent un système laissant passer l'air uniquement vers l'extérieur. Ceci a pour but :

1-d'éviter les contaminations bactériennes en ne laissant rentrer qu'un volume d'air qui peut même être contrôlé (par exemple on peut établir un système qui laisse rentrer l'air par un tuyau bordé de produits anti-séptiques, laissant passer l'air, mais pas de bactéries)

2-de laisser un peu d'air en contact avec la surface du Moût en pleine fermentation, ainsi les levures présentes à la surface peuvent respirer et se reproduire plus rapidement (maintient du nombre d'individus)

Bien que la fermentation principale (ou primaire) soit beaucoup plus courte que la secondaire, c'est celle qui produit 70% de l'alcool (environ) d'une bière car elle se déroule à la température optimum du type de levure choisit



Même si la fermentation est une voie catabolique commune à toutes les levures, certaines sont capables de la réaliser à des températures impossibles pour d'autres C'est pourquoi on parle de fermentation Haute, et de fermentation Basse La différence étant tout simplement la température à laquelle a lieu la fermentation

Dans le cas de la fermentation haute, les levures sont de type **Saccharomyces cerevisiae** et ne sont capables de fermenter qu'à des températures comprises entre 15° et 25°C

Ce type de fermentation conduit à des bières de type « Ale » pour la plupart d'origine anglaise, avec plus d'alcool et un goût un peu plus fort

A la fin de la fermentation, les levures remontent à la surface du Moût à cause de la formation des mousses (elles remontent en même temps que la mousse) et de la plus forte teneur en CO<sub>2</sub>

La plus forte teneur en alcool est due à la plus grande concentration en sucres du moût, et au rendement supérieur des levures de type *Cerevisiae*

Dans la fermentation basse, ce sont des levures de type *Saccharomyces carlsbergensis* qui sont utilisées. Celles-ci sont capables d'effectuer la fermentation à des températures beaucoup plus basses : entre 5° et 10°C. Ce type de fermentation conduit à une bière de type lager (blonde) plus utilisée en Europe de l'Est.

Cette fermentation produit moins d'alcool et de CO<sub>2</sub>, le goût s'en retrouve donc moins fort et les levures restent au fond des cuves car la densité du moût et le taux de CO<sub>2</sub> est trop faible pour les faire remonter.

*Remarque : les boissons alcoolisées naturellement par l'action des levures ne peuvent dépasser les 12° d'alcool, car à partir de cette concentration d'alcool (12 centilitres d'alcool pour 1 L), celui-ci devient nocif, même pour les levures, qui saturent et meurent*

*Pour arriver à des degrés supérieurs, on est obligé d'employer la distillation. Les bières « moyennes » dépassent rarement les 5°-6° d'alcool*

## 2-la fermentation secondaire

À la fin de la fermentation principale, le moût alcoolisé va ensuite être transféré dans des tanks de garde, qui sont des grandes cuves hermétiquement fermées avec le moins d'air possible dedans. En général, les brasseurs choisissent de filtrer le moût alcoolisé et d'enlever les levures présentes lors de la fermentation principale, pour en remettre des « fraîches » dans les tanks de garde. L'intérêt n'est pas seulement de remettre des levures en pleine forme, mais aussi de contrôler la quantité de levures présente lors de la fermentation secondaire : c'est une fermentation qui va durer beaucoup plus longtemps que la première et où il est important de ne pas ouvrir les tanks de garde, donc il est impossible de rectifier les erreurs si jamais il restait trop ou pas assez de levures dans le moût alcoolisé par rapport à la durée de fermentation secondaire.

En effet l'intérêt de la fermentation secondaire est essentiellement la mise sous pression de la bière par dissolution du CO<sub>2</sub> dans le moût. C'est pourquoi il faut des tanks de garde résistants à de fortes pressions et avec le moins d'air possible, car on ne cherche surtout pas à laisser se développer les levures !



Les cuves de garde ou tanks sont totalement hermétiques et attendent  
*D'être vidés dans des couloirs réfrigérés*

C'est le CO<sub>2</sub> sous pression qui va produire le pétillant des bières, encore une fois le brasseur peut influencer sur le pétillant en choisissant la température, le type de levures et la durée de la fermentation secondaire...

Cette fermentation secondaire est une fermentation ralentie (afin de ne pas produire trop d'alcool) qui dure bien plus longtemps que la principale (2 à 3 semaines, voire plus)

Pour la ralentir, il suffit d'abaisser de 10°C environ la température de l'optimum utilisé pendant la fermentation principale, qu'elle soit haute ou basse :  
Pour une fermentation secondaire basse, la garde s'effectue aux alentours de 0°C  
Et aux alentours de 8°-10°C pour la fermentation secondaire haute

A la fin de ces deux fermentations, le moût restant est pratiquement la bière, puisqu'il ne reste plus qu'à le pasteuriser, le filtrer, bref le finaliser

*Remarque : Beaucoup de brasseurs oxygènent le moût lorsqu'ils le versent dans les cuves à fermentation, ainsi les levures peuvent respirer dans un premier temps et se multiplier, et une fois tout l'oxygène dissout consommé, elles commencent à fermenter*

*Une autre pratique dans les brasseries industrielles est de récupérer le CO<sub>2</sub> dégagé lors de la première fermentation et de le réinjecter lors de la garde pour être sûr d'avoir une bière vraiment pétillante*

#### d) L'influence de la fermentation sur le goût de la bière

Outre le CO<sub>2</sub> et l'Éthanol qui font que le moût devient de la bière, il y a énormément de réactions catalysées à part et qui, lorsqu'elles produisent certaines molécules, et les rejettent dans le milieu les entourant modifie beaucoup le goût

En voici quelques-unes, qui de toutes façons sont non-exhaustives puisqu'il existe pratiquement autant de molécules possibles que de souche de levures :

Les acides aminés du moût sont les sources azotées préférentielles des levures. Dans les conditions brassicoles, certains sont absorbés immédiatement : c'est le cas des acides aspartique et glutamique, de l'asparagine, la glutamine, la sérine, la thréonine, la lysine et l'arginine. A l'inverse, la proline, qui représente pourtant le tiers des acides aminés du moût, est très peu absorbée. Cet acide Aminé contribue donc au goût de la bière puisqu'il reste présent dans le produit final

Les nombreux métabolites formés pendant la fermentation sont aussi en grande partie responsable du goût et de l'odeur de la bière. Ils sont très influencés par le choix des souches sélectionnées et leur taux d'ensemencement, même si d'autres paramètres participent à leur expression : la composition initiale du moût, sa densité, son aération, la température de fermentation...

Parmi ces métabolites, le principal, au niveau quantitatif, l'éthanol, n'est pas celui qui intervient le plus dans la saveur (et odeur) du produit. Il s'agit d'avantage :

- Des alcools supérieurs (fusels) issus d'une réaction en chaîne, sur un acide aminé, d'une transaminase, d'une décarboxylase et d'un alcool déshydrogénase.
- De composés carbonyles (aldéhydes et cétones). Le plus important et aussi le plus étudié est certainement le diacétyle. Marqueur essentiel du suivi de la fermentation, à côté de la densité du moût, il peut atteindre 1 mg/l avant d'être partiellement réduit en acétoïne. L'acétaldéhyde représente à lui seul de l'ordre de 90 % de tous les aldéhydes.
- De composés soufrés, qui jouent un rôle clé dans la saveur. Certains proviennent des matières premières, d'autres des métabolismes de la levure. C'est le cas de l'hydrogène sulfuré, excrété par les *Saccharomyces* à partir du sulfate, du diméthylsulfure qui provient du diméthylsulfoxyde ou des mercaptans dont les seuils de perception sont particulièrement bas.

- D'esters provenant du métabolisme lipidique de la levure (acétate d'éthyle ou d'isoamyle...).
- D'acides organiques volatils ou non. Plus d'une centaine ont été mis en évidence.

Maintenant que nous avons vu la fermentation du point de vue du brasseur (observation des résultats de la fermentation), nous allons voir la fermentation du point de vue biologique, qui permet d'expliquer les résultats observés en pratique

## 2-Biologie de la levure

### 1)Métabolisme de la levure

#### a)les différentes voies métaboliques

Ce qui intéresse le brasseur est en fait les déchets de la fermentation alcoolique, c'est pourquoi il force ses levures à vivre en anaérobiose en les plongeant dans le moût

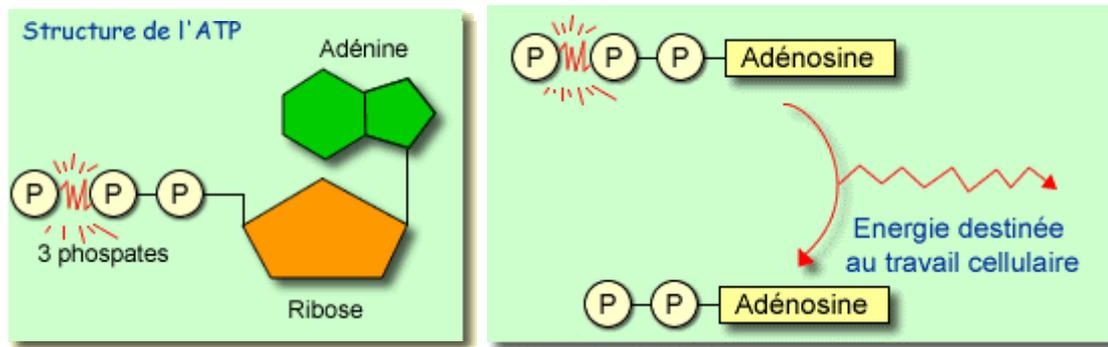
dans la cuve à fermentation, et encore plus dans le tank de garde où la levure fermente dans des conditions proches de l'anaérobiose totale, puisque l'oxygène dissous du moût étant assimilé 4 heures après le début de la fermentation.

***Remarque :** la plupart des brasseurs cultivent, ou laissent s'oxygéner leurs levures quelques jours avant la fermentation, car celles-ci sont plus résistantes et efficaces que si elles avaient été plongées directement en anaérobiose. Voir l'Expérience à la fin de cette partie pour plus de détails*

Eh oui, la levure est un organisme exceptionnel car il peut s'adapter à un milieu aérobie, ou anaérobie en utilisant la respiration dans le premier cas et la fermentation dans le second

La fermentation est juste une partie du Catabolisme de la levure et comme la respiration permet de dégrader plus complètement les molécules de glucose (ou de tout autre nutriment dégradable par la levure), la levure choisit toujours la respiration lorsqu'elle le peut, car une dégradation plus complète du glucose se traduit par un gain plus grand d'énergie pour la levure, en utilisant la même quantité de glucose. Un gain plus grand d'énergie veut dire au niveau moléculaire une plus grande synthèse d'ATP (Adénosine-tri-phosphate) à partir d'ADP (Adénosine-bi-phosphate) et de Phosphate inorganique. En effet l'ATP est une molécule universellement porteuse d'énergie et utilisable par le vivant. Le but de la dégradation du glucose est donc la synthèse d'ATP, que la levure pourra ensuite utiliser à ses propres fins

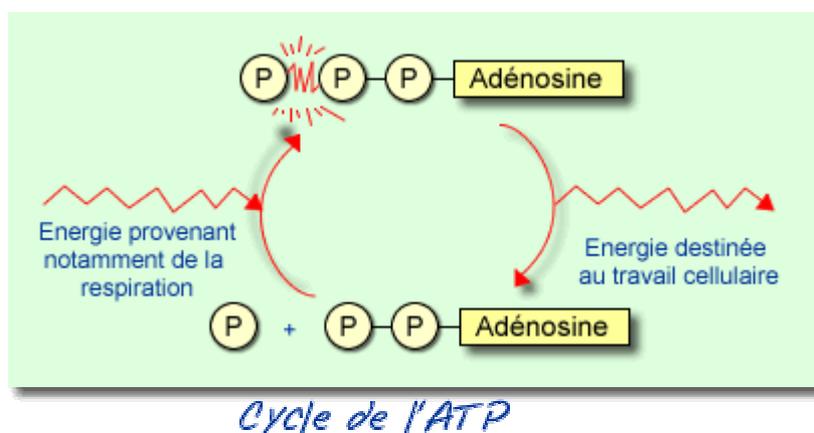
L'énergie de L'adénosine-tri-phosphate est contenue dans ses liaisons phosphates, et celle ci est libérée lors de la lyse d'une de ces liaisons phosphate, transformant l'ATP en Adénosine-bi-phosphate (ADP). Parfois la deuxième liaison phosphate est aussi cassée, on obtient donc de l'Adénosine-mono-phosphate



Source :

<http://www.sciences.fundp.ac.be/websciences/biologie/Fichesderevision/revision2%20fonctionnement/atp.htm>

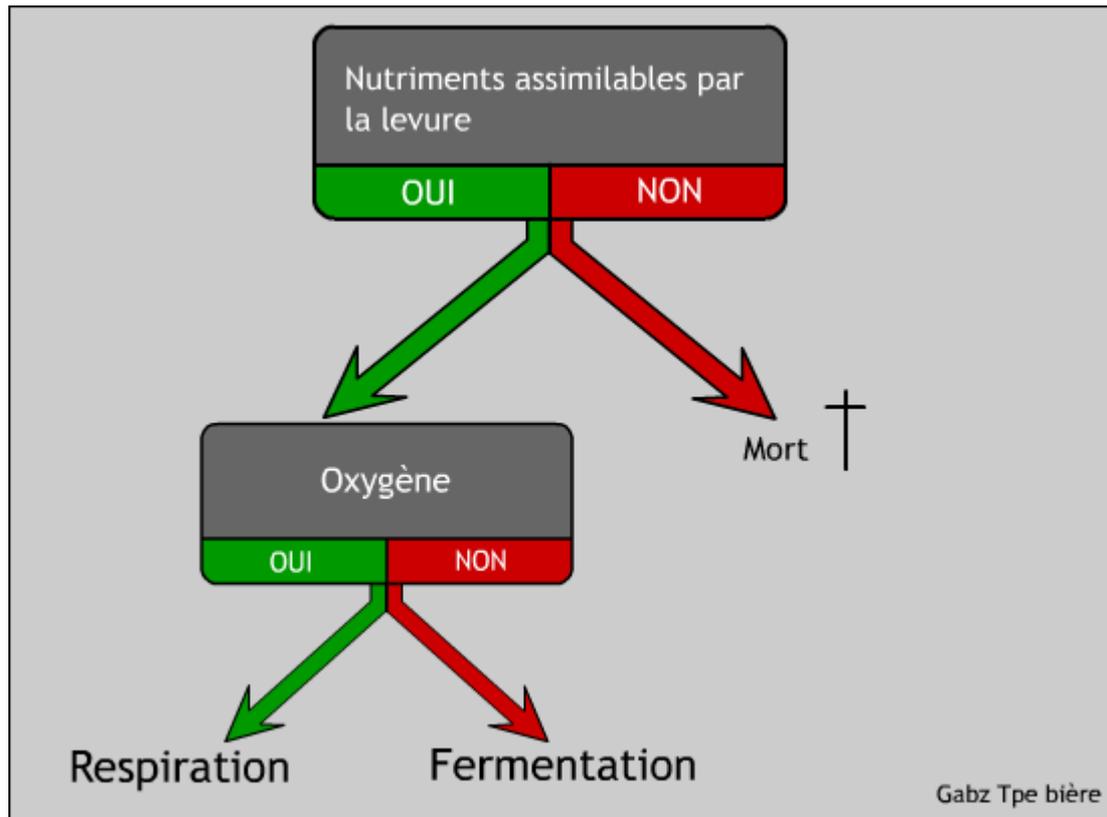
L'inverse est aussi possible : Utiliser de l'énergie pour reformer une liaison phosphate à partir d'ADP ou d'AMP (et de Phosphate)  
On obtient ainsi une molécule porteuse d'énergie et utilisable par n'importe quelle cellule de l'organisme, ceci est schématisé par le cycle de l'ATP :



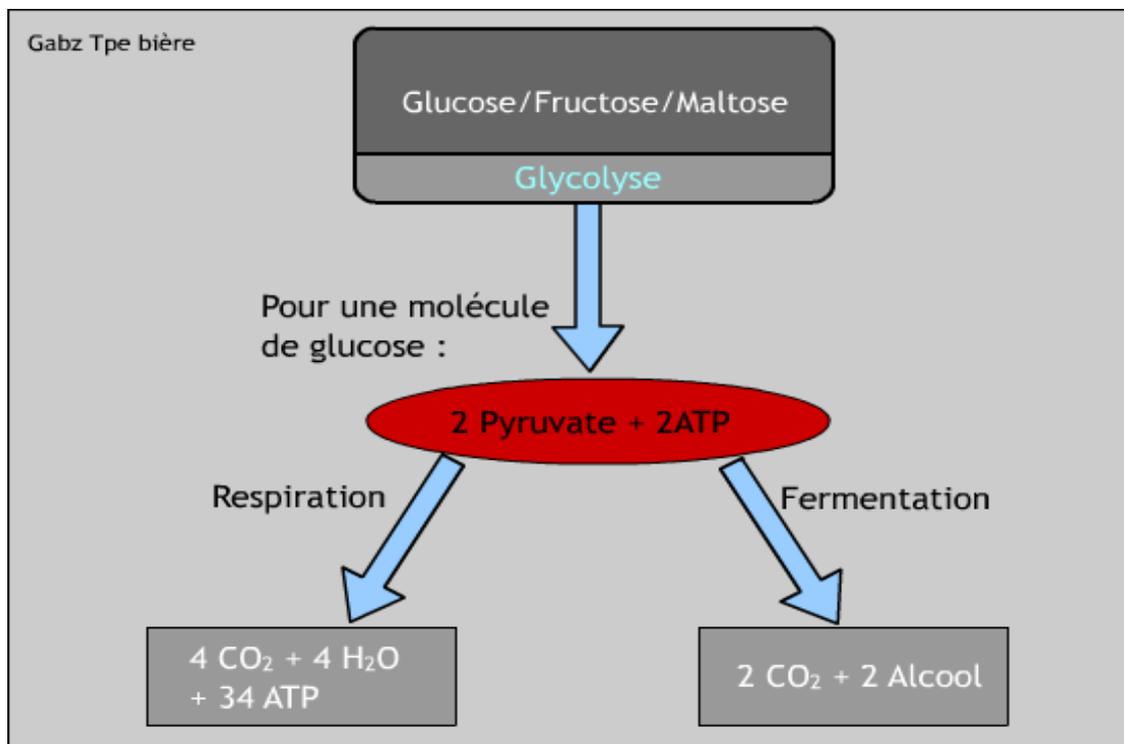
Source :

<http://www.sciences.fundp.ac.be/websciences/biologie/Fichesderevision/revision2%20fonctionnement/atp.htm>

Ce schéma résume de manière globale les possibilités de la levure



Il faut savoir que la respiration et la fermentation sont deux voies cataboliques provenant toutes deux d'une voie commune à tous les être vivants : la Glycolyse



En milieu Aérobie, la levure ne tire donc pas son énergie de la fermentation, mais de la glycolyse. La fermentation sert juste à évacuer les déchets de la glycolyse tout en les utilisant pour régénérer les transporteurs d'énergie (NADH et FADH)

Maintenant que l'on connaît le fonctionnement général du métabolisme de la levure, nous allons le voir plus en détail, en commençant par la glycolyse, voie catabolique utilisée par l'ensemble du vivant.

## b) La glycolyse

Cette voie est considérée comme la plus ancienne permettant de dégrader la matière organique, puisqu'elle est la première étape pour les hétérotrophes et la dernière pour les autotrophes.

La glycolyse, comme son nom l'indique est la dégradation successive du glucose en pyruvate accompagné de consommation, puis formation d'ATP

La glycolyse se déroule dans le Hyaloplasme. Dans le cas de la levure, les sources de glucose sont tous les sucres dits « fermentescibles », sachant que la plus grosse molécule de sucre fermentescible est le maltose (ou isomères disaccharides) , qui est cassé en deux molécules de glucose grâce à l'enzyme **invertase** sécrétée par la levure dans le milieu extérieur

Ce processus est catalysé par **dix enzymes** cytosoliques, et tous les intermédiaires sont des composés phosphorylés.

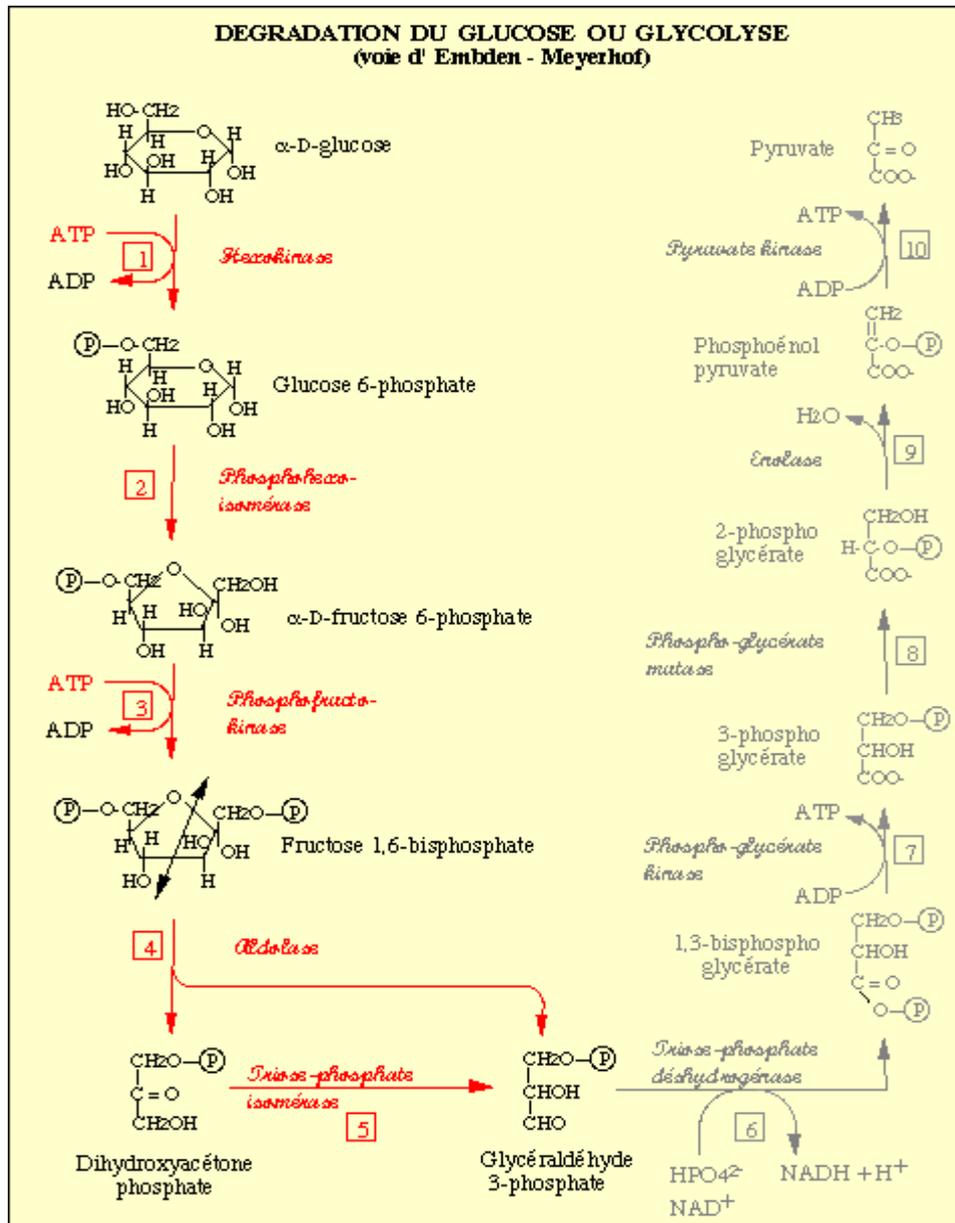
### 1- Phase préparatoire

Le glucose est transporté à travers la membrane plasmique grâce a des protéines transporteuses : les glucoses perméases (GLUT)

A chaque forme de GLUT est liée une forme d'héxokinase qui a pour but de phosphoryler l'ose transporté en utilisant l'énergie et un phosphate fournie par un ATP devenant à son tour ADP.

Dans la phase préparatoire de la glycolyse, de l'ATP est investi pour transformer le glucose en un intermédiaire phosphorylé, le fructose-1,6-bisphosphate, puis la liaison carbone-carbone entre le C-3 et le C-4 est rompue pour fournir deux molécules de trioses phosphate.

Le but de ces étapes était de transformer la molécule de glucose en deux trioses avec un groupement phosphate chacun, afin de pouvoir le casser pour reformer de l'ATP

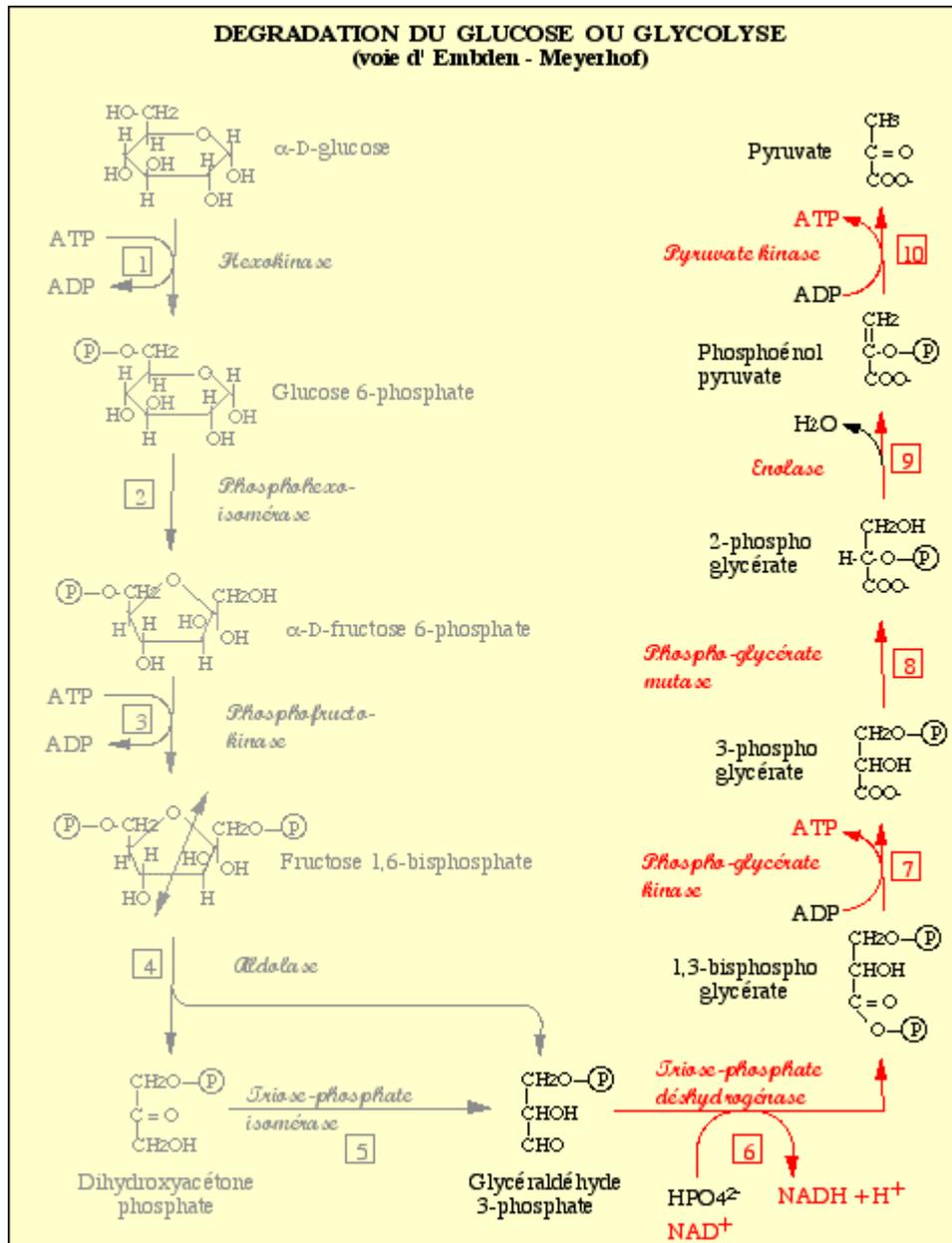


Source : <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/Metabo%20glyco1.html>

## 2- Phase de remboursement

Dans la phase de remboursement de la glycolyse, chacune des deux molécules de glyceraldéhyde-3-phosphate provenant du glucose subit une oxydation au niveau du C-1; l'énergie de cette réaction d'oxydation est conservée dans la formation de NADH et d'une liaison acylphosphate dans le 1,3bisphosphoglycérate.

Ce composé possède un potentiel de transfert de groupement phosphate élevé, et dans une phosphorylation au niveau du substrat catalysée par la phosphoglycérate kinase, le groupement phosphate est transféré à l'ADP, formant de l'ATP et du 3-phosphoglycérate. Le réarrangement des atomes dans le 3-phosphoglycérate avec la perte d'H<sub>2</sub>O donne une augmentation de phosphoenolpyruvate, un autre composé avec un potentiel de transfert de groupement phosphate élevé.



Source : <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/Metabo%20glyco1.html>

Le phosphoénolpyruvate donne un groupement phosphate à l'ADP pour former de l'ATP dans une seconde phosphorylation au niveau du substrat; l'autre produit de cette réaction est le pyruvate, le produit terminal de la phase de récupération de la glycolyse. L'équation globale de la glycolyse est:



Il existe donc un gain net de deux ATP.

*Remarque : la glycolyse est régulée par le taux d'ATP/ADP dans le cytoplasme de chaque cellule, plus il y a d'ATP (et moins d'ADP), plus la glycolyse est inhibée, et à l'inverse, plus il y a d'ADP (et moins d'ATP) la glycolyse est favorisée. Pour inhiber ou favoriser la glycolyse, il suffit d'agir sur les enzymes utilisant l'ATP : les différentes enzymes Kinases (fabrication inhibée, ...)*

Le NADH formé dans la glycolyse doit être recyclé pour régénérer le NAD<sup>+</sup> qui est nécessaire comme accepteur d'électrons dans la première étape de la phase de remboursement de la glycolyse.

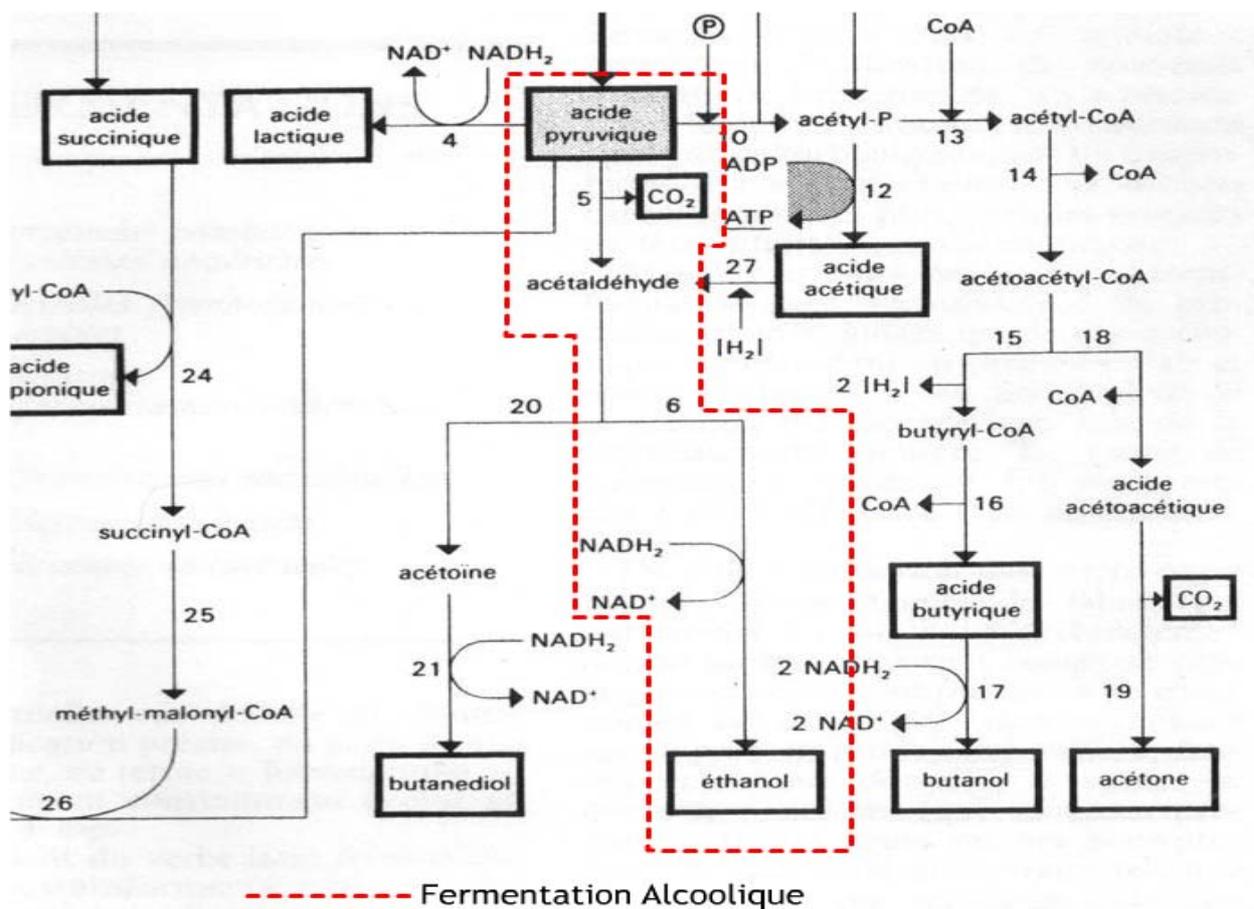
En milieu aérobie, la respiration utilise les NADH de la glycolyse, et d'autres NADH produits lors d'une dégradation succédant à la glycolyse (donc la dégradation du pyruvate)

Les électrons passent du NADH à O<sub>2</sub> à travers une chaîne de transporteurs d'électrons au cours de la respiration mitochondriale, c'est pourquoi la respiration rejette des molécules de H<sub>2</sub>O (H<sup>+</sup> + e<sup>-</sup> + O<sub>2</sub> = H<sub>2</sub>O).

C'est ainsi que la respiration produit beaucoup plus d'ATP, et régénère aussi beaucoup plus de NADH, grâce à une dégradation plus complète de la molécule de glucose, et une régénération des transporteurs d'électrons via O<sub>2</sub>

### c) La fermentation

Le recyclage du NADH dans le cas d'un milieu anaérobie est fait par la fermentation : l'unique utilité de la fermentation est de régénérer NADH en NAD<sup>+</sup>, sans lequel la glycolyse n'est pas possible. Les levures plongées dans un milieu anaérobie produisent seulement 2 ATP pour une Molécule de glucose, tout simplement parce que la fermentation ne crée aucun ATP



Source : Universalis , page « fermentation »

Dans la fermentation alcoolique, le pyruvate est converti en acétaldéhyde (2 carbones) et le CO<sub>2</sub> est libéré. L'acétaldéhyde est ensuite réduit par le NADH pour produire l'alcool

On en déduit l'équation de la fermentation :



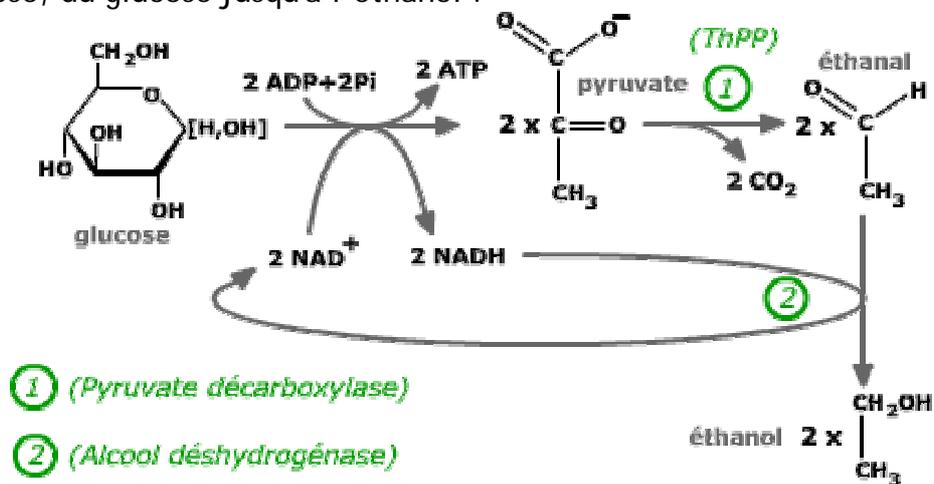
Donc de manière générale :



Ce qui correspond à :



On peut donc maintenant résumer le cycle entier du métabolisme d'une levure en anaérobiose, du glucose jusqu'à l'éthanol :



On remarque donc que pour une mole de Glucose , on obtient 2 moles d'ATP et d'éthanol

Sachant qu'une mole de Glucose contient environ 2876 Kj et une mole d'ATP environ 31 Kj , on peut calculer le rendement de la fermentation :

$$((2876 - 62) * 100) / 2876 \approx 98 \%$$

Le rendement de la fermentation est donc très faible, seulement 2 %

Le reste de l'énergie du glucose est en grande partie évacuée dans l'éthanol et est utilisée (en petite quantité) directement lors des réactions de la glycolyse et de la régénération de NAD<sup>+</sup>

En comparaison, la respiration est efficace à plus de 40%.

On comprend mieux pourquoi les levures préfèrent respirer !

## a) Autres aspects du métabolisme de la levure

Les autres voies métaboliques de la levure développées dans cette partie sont plutôt mineures face à la glycolyse et à la fermentation pour ce qui est de la survie de la levure, par contre, elles influent beaucoup sur le goût et sur le choix des levures par le brasseur : Ces voies servent en fait à maintenir, synthétiser des molécules utiles pour la structure même de la levure, contrairement au métabolisme énergétique, qui est en fait le fondement de toute vie car il permet aux autres voies métaboliques de se dérouler.

Ces nouvelles voies métaboliques sont trop nombreuses et sûrement pas encore toutes élucidées à l'heure actuelle pour en parler ici de manière exhaustive.

Voici les plus importants :

### 1) Choc Osmotique

La levure, lorsqu'elle est introduite dans le bac à fermenter est brutalement mise en présence d'une solution très concentrée en diverses molécules, et notamment en sucres.

Selon le principe de l'osmose qui dit que des deux côtés d'une paroi (cellulaire) perméable, si la concentration d'un côté est supérieure à l'autre, alors les molécules du soluté auront tendance à évoluer vers un état d'équilibre, donc à aller à travers la paroi vers la solution la moins concentrée, jusqu'à ce qu'il y ait équilibre, et donc même concentration des deux côtés. C'est à cause de ce principe que par exemple, peu d'organismes peuvent vivre dans des milieux très salés, car ils sont obligés de « pomper » le sel à l'intérieur de leurs cellules pour l'expulser.

Bien sûr, ce principe ne s'applique que si la paroi est perméable aux molécules du soluté. Or la levure est bien obligée de laisser passer les sucres, (glucose, fructose et isomères) ainsi que beaucoup d'autres molécules présentes dans le brassin. Bien sûr, normalement ces molécules sont utiles pour la levure, pourquoi se plaint-elle alors ? Car leur trop grande concentration dans le cytoplasme causerait d'énormes désordres physiologiques, et aussi un passage trop brutal de grosses molécules peut abîmer la paroi cellulaire.

La levure doit donc se protéger, du moins équilibrer la concentration de son côté afin de faire balance et de laisser rentrer une quantité de sucre moindre :

Elle synthétise du glycérol afin de modifier la concentration de son cytoplasme, mais aussi parce que le glycérol est un des composants de la paroi de la levure, ainsi il peut régénérer la paroi dans le cas de dommages.

La levure est capable de réguler la synthèse de glycérol en fonction de la pression osmotique subie : plus le moût est sucré, plus la levure va synthétiser de glycérol. Par des mécanismes liés, la plus forte production de glycérol entraîne un risque de plus forte production d'acidité volatile : acide acétique.

Il est à noter aussi que le glycérol permet aussi à la levure de se protéger contre une trop forte teneur en éthanol.

Ce phénomène de « Stress osmotique » subi par la levure peut donc avoir une petite influence sur le goût de la bière :

A la dégustation, le glycérol provoque une sensation douceâtre passagère en milieu de bouche.

Cependant, il participe beaucoup moins que les polysaccharides au volume et à la longueur en bouche.

Par contre, l'acide acétique est à bannir absolument, donc le brasseur doit veiller à ne pas trop stresser ses levures.

## 2) Sources d'azote

Il ne s'agit pas ici d'une voie métabolique à proprement parler, c'est un aspect général du métabolisme de la levure : celle-ci a besoin d'azote pour diverses réactions physiologiques.

La levure trouvera une source d'azote dans les acides aminés (peptides) produits lors du brassage. Ils lui permettront aussi une synthèse protéique rapide dès le début de la fermentation.

Souvent, le Moût contient aussi une quantité assez grande d'ammoniac provenant des enveloppes des grains.

L'ammoniac constitue une bonne alternative pour la levure comme source d'azote. Une carence en Azote de la levure est extrêmement grave car différents composés sont produits par la levure à partir de différentes sources du moût : SO<sub>2</sub> (composé soufré), certains acides aminés. Ces composés ont des odeurs très désagréables : œuf pourri, ail, allumette brûlée, caoutchouc, etc. Les différentes levures ont différentes aptitudes de production. Quand la levure est stressée et qu'elle n'a pas une nutrition azotée suffisante et équilibrée elle produit plus de ces composés. C'est un risque majeur à gérer tout au long de la fermentation.

Remarque : les levures mourant dans le moût ont tendance à relâcher leur contenu cytoplasmique, or elles ont subi un stress important et elles risquent donc de relâcher des composés soufrés. Il est important donc de ne pas laisser trop de levures mourir.

## 3) Influer sur le métabolisme

Le brasseur moderne peut influencer en partie sur ces phénomènes et ainsi contrôler le goût de sa bière. Pour le choc osmotique, il lui suffit tout d'abord de prendre une souche de levure ayant une membrane résistante. Il peut ensuite contrôler la synthèse de stérols (glycérol), ou plutôt la favoriser en cultivant auparavant ses levures en aérobic (elles sont incapables de synthétiser les stérols en anaérobic). En ce qui concerne les composés soufrés, il peut injecter une source d'azote supplémentaire dans le moût, comme du phosphate d'ammoniac, ou des acides aminés essentiels.

Dans tous les cas, le brasseur doit absolument éviter les stress, et sélectionner la souche de levure adaptée au type de fermentation qu'il désire

## 2) Reproduction de la levure

Maintenant que nous avons vu comment la levure survie dans le bac à fermenter, nous allons voir comment elle s'y reproduit

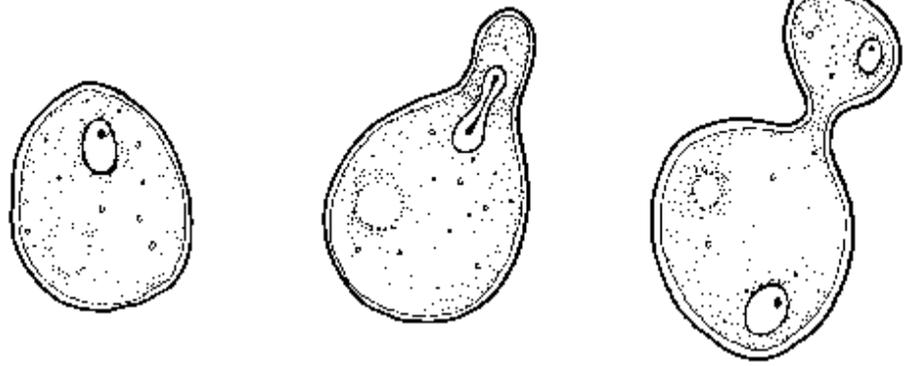
Si les levures sont des organismes polyvalents et adaptables au niveau du métabolisme, ils le sont aussi au niveau du système de reproduction, car capable de choisir leur méthode de reproduction en fonction du milieu. Les levures se reproduisent par voie asexuée (bourgeonnement) ou par voie sexuée (sporulation).

### 1- Bourgeonnement

les levures se reproduisent surtout par bourgeonnement de la cellule. Chez *Saccharomyces*, une petite hernie apparaît en un point de la surface d'une cellule mère, grossit et s'étrangle ; le bourgeon ou cellule fille peut alors se détacher, grossir encore, puis bourgeonner à son tour. Chez d'autres Levures (*Kloeckera*, *Hanseniaspora* ...), le bourgeonnement n'a lieu qu'aux deux pôles de la cellule, qui prend alors un aspect en citron. Chez certaines levures (*Schizosaccharomyces*), le bourgeonnement est remplacé par un autre système de multiplication : une cloison se forme et sépare la cellule initiale en deux cellules égales.

Le bourgeonnement est en fait une simple mitose dont la télophase (séparation des cloisons) peut varier en fonction des espèces de levures

Ceci sous-entend, que chaque levure née d'un bourgeonnement est strictement identique, à moins qu'une erreur se soit glissée durant la mitose (chose très rare)



*étapes du bourgeonnement*



*Levure en bourgeonnement observé en immersion X 1000*

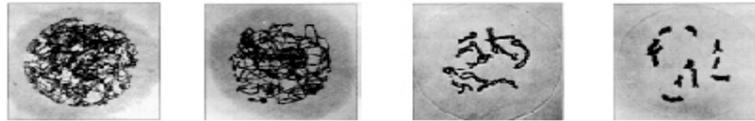
- **Sporulation :**

l'autre mode de reproduction des levures est une reproduction sexuée. La cellule de levure produit des **spores**, ou ascospores (en général quatre), qui sont enfermées dans une sorte de sac appelé asque. Arrivé à maturité, l'asque libère les spores qui donnent naissance à quatre cellules de levures haploïde (c'est-à-dire à N chromosomes).

La reproduction sexuée utilise deux mécanismes :

- La Méiose : permet de passer de la diploïdie à l'haploïdie cellulaire. La méiose part donc d'une cellule diploïde à 2N chromosomes pour arriver à 4 Cellules haploïdes à N chromosomes. Ces 4 cellules sont appelées Gamètes et sont regroupées, pour les levures les plus communes dans une « tétrade » (asque) sorte de sac contenant les 4 gamètes (spores)
- La fécondation : c'est la rencontre des deux gamètes, avec fusion de leur noyau. Donc un retour à la diploïdie cellulaire. La fusion des noyaux implique que la nouvelle cellule possède une moitié du génotype de chaque gamète qui l'a engendré, donc une moitié du génotype de l'individu qui a engendré le gamète (spore)

**Prophase I**  
2n



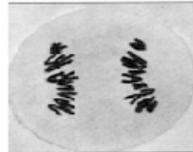
La membrane nucléaire s'efface. Les chromosomes homologues se rapprochent l'un de l'autre et s'accrochent. Ils constituent alors un ensemble de 4 chromatides appelé tétrades. Les chromosomes sont très condensés à la fin de prophase. De fréquents échanges de segments homologues se produisent entre les chromatides étroitement appariés. Ces échanges sont appelés crossing-over et aboutissent à des chromatides recombinés.

**Métaphase I**  
2n



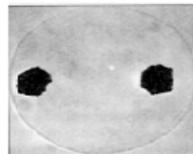
Les tétrades se disposent sur la plaque équatoriale.

**Anaphase I**  
2n



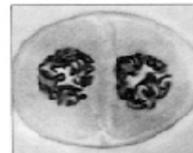
Les deux chromosomes homologues se disjoignent, sans duplication des centromères, et s'éloignent l'un de l'autre, se dirigeant vers les centrosomes.

**Télophase I**  
2C à n



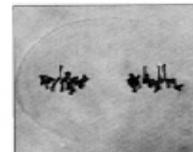
La télophase est très écourtée par rapport à une mitose. Chaque nouvelle cellule formée possède un ensemble de chromosomes à deux chromatides. Cette division ne sera pas suivie de l'interphase: il n'y aura pas de réplication d'ADN.

**Prophase II**  
2C à n



La membrane nucléaire s'efface. La chromatine se condense.

**Métaphase II**  
2C à n



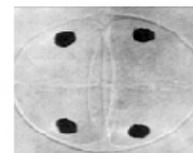
Les chromosomes sont en plaque équatoriale.

**Anaphase II**  
4C à n



Les centromères se divisent en deux et les chromatides se séparent, se dirigeant vers les centrosomes.

**Télophase II**  
4C à n



On obtient en fin de télophase II quatre cellules contenant chacune n chromosomes.

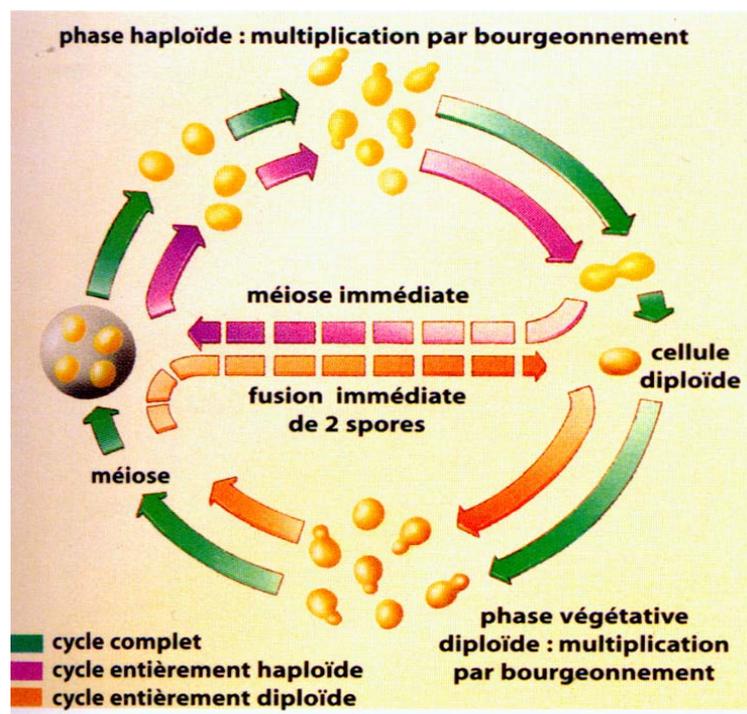
*Etapes de la méiose (les tétrades du texte n'ont rien à voir avec les tétrades des levures)*  
source : <http://membres.lycos.fr/schnoufy/meiose.htm>

Ceci signifie donc que les levures issues de fécondation sont quasi-obligatoirement de génotype différent de leurs parents.

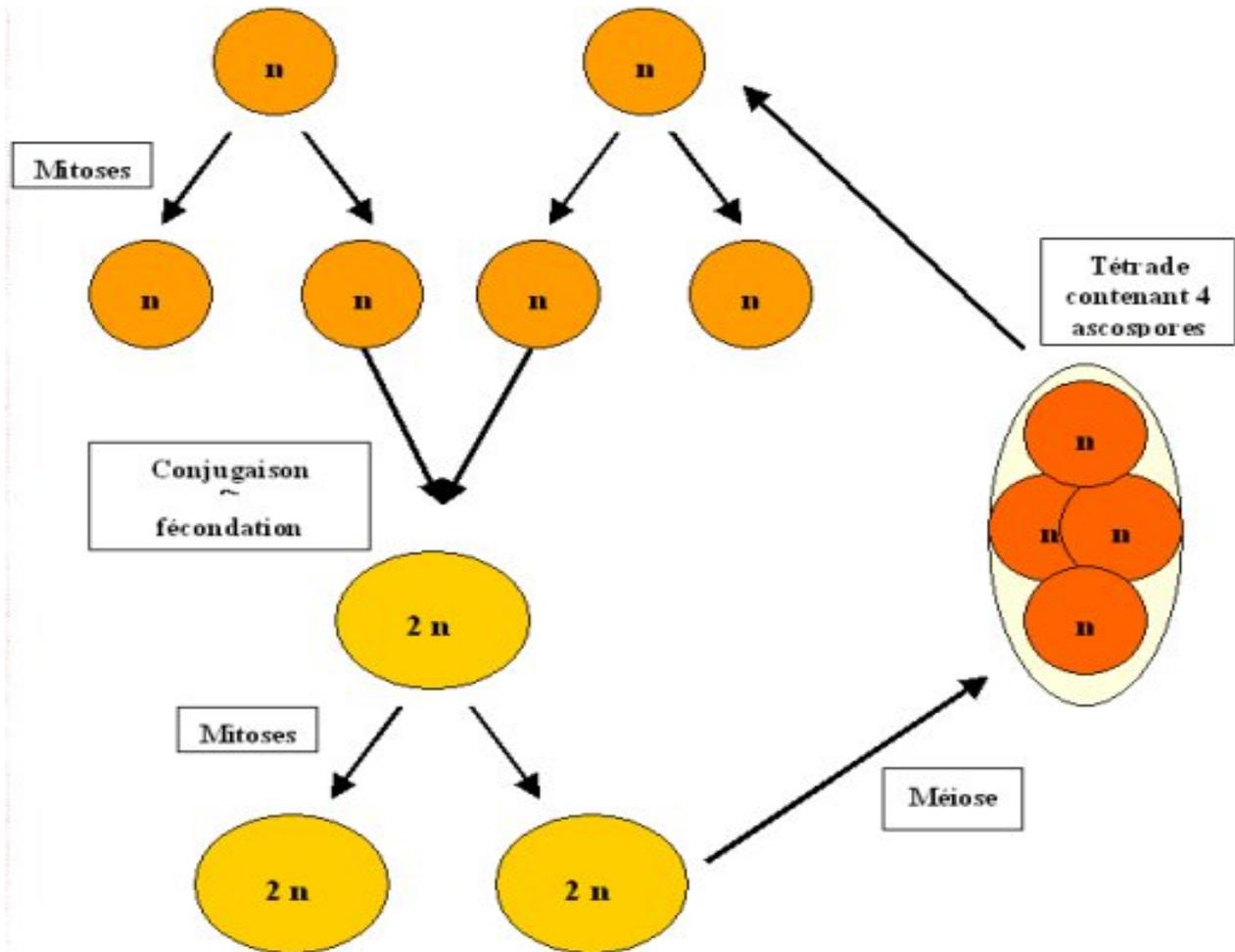
Cela explique pourquoi les levures effectuent la reproduction sexuée dans le cas de conditions du milieu défavorable : Les levures de la génération suivante n'auront pas exactement le même génotype, grâce au brassage inter et intra chromosomique de la méiose, et ainsi il y a aura plus de chance que parmi tous les individus de la génération suivante il y en ait qui aient un génotype mieux adapté à leur environnement. L'évolution a sélectionné le mécanisme favorisant la reproduction dans un environnement hostile, sans quoi les levures utilisant en permanence la mitose ne pourraient quasiment jamais évoluer et donner naissance à de nouvelles souches de levures mieux adaptées à un certain milieu.

La levure est un organisme à cycle Haplophasique, ce qui veut dire que le gros de sa vie, la levure est une cellule à N chromosomes. Si l'environnement pousse la levure à effectuer une reproduction sexuée, deux levures à N chromosomes vont se rencontrer, se conjuguer (fécondation) et donc revenir à un cycle diplophasique. Immédiatement, la levure peut soit continuer à vivre en phase diploïde en faisant des mitoses à partir du zygote (assez rare) ou alors effectuer la méiose et engendrer 4 cellules à N chromosomes dans une tétrade, par les mécanismes expliqués plus haut. Après quoi chaque levure de la tétrade peut se multiplier à l'infini par mitose

On obtient donc un cycle :



L'ensemble des choix de la levure en matière de reproduction peut donc se résumer par ce schéma :



Le génome haploïde ( $n$  chromosomes) de levure contient 16 chromosomes + le chromosome mitochondrial ce qui fait 17.

Il existe 2 types sexuels appelé mata et mata a. Les cellules haploïdes mata ou mata a, peuvent se diviser par mitose et générer des clones. La division s'effectue par bourgeonnement donnant deux cellules de tailles différentes : la cellule mère et la cellule fille. La conjugaison (équivalent à la fécondation) ne peut avoir lieu qu'entre une cellule haploïde mata et une cellule haploïde mata a. La cellule diploïde résultant de la fusion peut aussi se diviser par mitose. Lorsque se produit une carence en nutriment, la cellule effectue une méiose. Celle-ci ne peut se produire que dans une cellule diploïde mata / mata a. Elle produit 4 spores haploïdes empaquetées dans un asque (les spores sont appelées des ascospores) que l'on appelle une tétrade.

Source : <http://perso.wanadoo.fr/repertoires/biere/Levure/levurerepro.html>

Dans la cuve à fermenter, les levures auront plutôt tendance à se reproduire par mitose, car leur milieu est riche en nutriment. Ainsi, le brasseur est quasi-sûr que les propriétés pour lesquelles il a sélectionné ses levures seront conservées au fil des générations de levures. Sachant que le cycle cellulaire pour une mitose de levure dure environ 3H (très variable selon les souches), en partant de 1000 levures, on en obtient  $1000 \cdot 2^n$  avec  $n$  le nombre de cycles cellulaires effectués. Cette formule est simple à mettre en place, puisque à chaque fin de cycle, le nombre de levure a doublé ! Par exemple au bout de 12 heures (donc 4 cycles effectués) on obtient 16000 levures (en partant de 1000)

Ces résultats sont vraiment extrêmement théoriques, car la levure n'effectue pas des mitoses sans arrêt, elle passe une bonne partie de sa vie en début d'interphase. Ensuite, la durée du cycle peut être très variable, et surtout, les levures en milieu anaérobie ont tendance à se reproduire peu par rapport à des conditions aérobies, en général la population de levures est maintenue, voire augmente légèrement.

### Application numérique :

On cherche à savoir combien de glucose est nécessaire pour faire augmenter la boisson d'un degré.

On dispose des informations suivantes :

- Masse Molaire du glucose  $M1 = 180 \text{ g.mol}^{-1}$
- Masse Molaire du glucose  $M2 = 46 \text{ g.mol}^{-1}$
- Masse Volumique de l'alcool pur  $\rho1 = 0.79 \text{ Kg.L}^{-1}$

De plus on sait que le degré alcoolique d'une boisson est *le nombre de cL d'alcool pur contenu dans un litre.*

Donc, une augmentation d'un degré, se traduit par la production d'un cL d'alcool dans un litre de bière.

Masse d'alcool formé pour 1.0 cL :

Masse d'alcool formée  $m_{\text{alcool}} \text{ (Kg)} = \text{Masse volumique d'alcool pur (Kg.L}^{-1}) * \text{volume d'alcool (L)}$

$$m_{\text{alcool}} = 0.79 * 1.0 * 10^{-2} = 7.9 * 10^{-3} \text{ Kg}$$

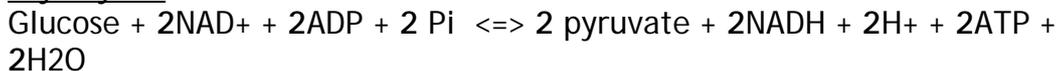
Quantité de matière d'alcool formée pour 1.0 cL :

Quantité d'alcool formée  $n_{\text{alcool}} \text{ (mol)} = \text{Masse d'alcool formée } m_{\text{alcool}} \text{ (g)} / \text{Masse Molaire de l'alcool (g.mol}^{-1})$

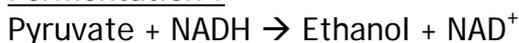
$$n_{\text{alcool}} = 7.9 / 46 = 0.17 \text{ mol}$$

Or, d'après l'équation de la glycolyse et de la fermentation :

Glycolyse :



Fermentation :



Donc, une mol de Glucose donne 2 mol d'alcool (en théorie, car tout le glucose n'est pas entièrement engagé dans la glycolyse, le reste peut servir à la synthèse d'autres molécules, telle que les glycérides)

On admettra donc que seul 90% du glucose est engagé dans la glycolyse, les 10% restants servent à d'autres réaction métaboliques mineures

Ainsi, seul 90% introduit donne le pyruvate, et donc l'éthanol :

Donc,  $n_{\text{glucose-théorique}} = 0.17/2 = 0.085 \text{ mol}$

Or en prenant en compte l'utilisation de 90% du glucose on obtient :

$$n_{\text{glucose-exp}} = 0.085 + (10/100) \cdot 0.085 = 0.093 \text{ mol}$$

$$\text{Or } m_{\text{glucose-exp}} = n_{\text{glucose-exp}} \cdot M_1 = 0.093 \cdot 180 \cong 17\text{g} \text{ (16.74 g)}$$

On en déduit qu'il faut 17g de glucose par litre pour faire monter ce litre d'un degré alcoolique

Cette application est évidemment bien trop théorique puisque les levures ne peuvent pas être étudiées comme des réactifs de chimie, et aussi par rapport à la complexité de la composition chimique du moût

Cependant ceci permet d'avoir une idée du glucose nécessaire pour obtenir une bière de 5° : environ 85g de sucre pour 1 litre. Sachant que les cuves de brasseries peuvent contenir plus de 50 hectolitres, il faut environ 425 Kilos de glucose par cuve pour obtenir une bière à 5°

Expérience : (auteur Gabriel ray)

### Etude de l'optimum du métabolisme des levures de bière en fonction des conditions du milieu

Le but de cette expérience est de déterminer l'optimum du métabolisme des levures de bière, en conditions Anaérobies, en les plongeant dans de l'eau mélangée avec du glucose

L'indicateur de la production des levures sera la quantité de CO<sub>2</sub> rejetée par les levures dans leur milieu respectif. En effet le CO<sub>2</sub> étant un gaz, il est facile à étudier quantitativement sans appareil spécifique, contrairement à l'alcool qui est l'autre produit de la fermentation des levures.

Nous allons étudier Deux paramètres du milieu dans cette expérience :

- Le pH
- La température

Ce TP est bien-sûr fait dans l'optique de la fabrication de la bière, donc les tubes à essais contenant l'eau sucrée et les levures jouent le rôle des cuves de fermentation

Passons maintenant à l'aspect pratique :

Chaque paramètre est étudié séparément, nous avons donc besoin d'autant de tube à essais que nous ferons de variations de ce paramètre.

Pour des raisons de temps, je décide d'étudier trois variations de chaque paramètre :

- pH : 5.3 ; 6.2 ; 8
- Température : 5°C ; 35°C ; 60°C

Ensuite, un problème évident est d'avoir la même quantité de levure dans chaque tube à essais afin de pouvoir les comparer

Pour cela, il suffit de faire une solution de levures et d'en prélever le même volume pour chaque tube

Le dernier problème est de pouvoir observer Quantitativement le dégagement de CO<sub>2</sub>, pour cela, il suffit de mettre un tube à dégagement qui aboutira dans un tube renversé et rempli d'eau. Ainsi, on pourra observer le volume de CO<sub>2</sub> dégagé

Maintenant que les problèmes de l'expérience ont été résolus, il faut trouver le matériel :

#### Matériel pour la préparation de l'expérience :

- Levures *Saccharomyces Cerevisiae* en cube, ou Lyophilisées
- 3 erlenmeyer
- Agitateur magnétique + barreau aimanté
- Solutions Tampons préparés à l'avance (à pH 5.3, 6.2 et 8)
- Glucose en poudre
- Pipettes jaugées ou graduées
- Balance

#### Matériel pour l'expérience :

- 6 Tubes à essais
- 6 Tubes à dégagement
- 3 Bains chauffants
- 3 Thermomètres
- 6 Eprouvettes graduées
- Pipettes jaugées
- 3 Cuves en verre assez profondes (entre 10 et 15 cm) (cristallisoirs)
- Glaçons
- Marqueur
- Blouse
- Eau

#### Préparation

Il faut préparer les futurs « moût » avec un pH donné, pour ceci on utilise les solutions tampons que l'on va mélanger chacune dans un Erlenmeyer avec un peu d'eau et de glucose

Même si ce n'est pas Très important pour les résultats, pour plus de précision, il vaut mieux mettre la même quantité de glucose en poudre. Il suffit de le peser et de verser la même masse dans chaque erlenmeyer

On obtient donc 3 erlenmeyer, le n° 1 est un moût avec un pH de 5.3

n° 2 ----- 6.2

n° 3 ----- 8

Pour les moût avec des températures données, la température sera modifiée au moment de l'expérience. Il suffit donc de préparer une grande solution A de glucose et d'eau, peu importe la quantité de glucose, pourvu qu'il y en ait en excès par rapport à la consommation de glucose en heure pour une quantité raisonnable de levures

Le pH de cette solution est assez neutre (de préférence légèrement acide pour favoriser les levures)

Il faut faire attention a ne pas dépasser ou être en dessous d'un pH de 8 ou de 6 auquel cas les levures ne seraient pas en état de fermenter

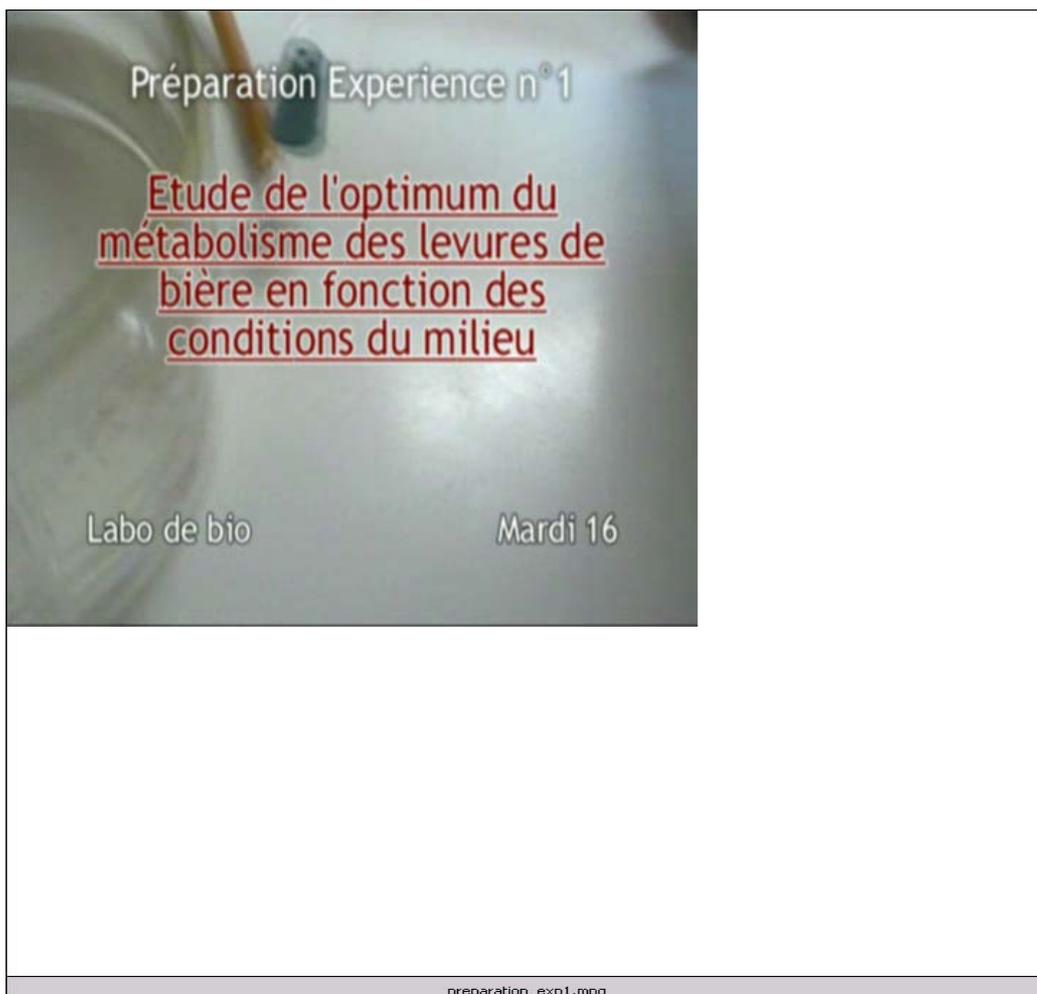
On prépare ensuite la solution de levure B en dissolvant 10 grammes de levures dans environ 150 mL d'eau. Ici, la précision des mesures n'est pas important du tout.

Chaque solution est bien agitée afin d'être homogénéisé (en particulier celle des levures)

On met ensuite en place tout le matériel qui ne bougera pas : bains chauffants, cuves en verre, thermomètres et on marque chaque verrerie.  
On remplit les cuves en verre d'eau et retourne les éprouvettes graduées dans ces cuves, alors qu'elles sont elle-même entièrement remplies d'eau  
Il faut faire très attention à ce qu'il ne reste plus une bulle dans les éprouvettes car, cela fausserai les observations

Il faut aussi régler les bains chauffant sur leurs températures respectives :  
5° , 35° et 60°  
pour le bain à 5° on utilise évidemment les glaçons

Voici la Vidéo montrant la préparation de l'expérience n°1



Double cliquez sur la vidéo pour la lire  
Nom de la vidéo sur le CD : preparation\_exp1.mpg

## Manipulation

On mélange maintenant chaque moût à une même quantité de levure dans un tube à essais marqué.

On prélève les levures de la solution **B** avec une pipette jaugée, car il est important d'avoir une même quantité de levures dans chaque tubes à essais

Tube n°1 → moût n° 1 + levures

Tube n°2 → moût n° 2 + levures

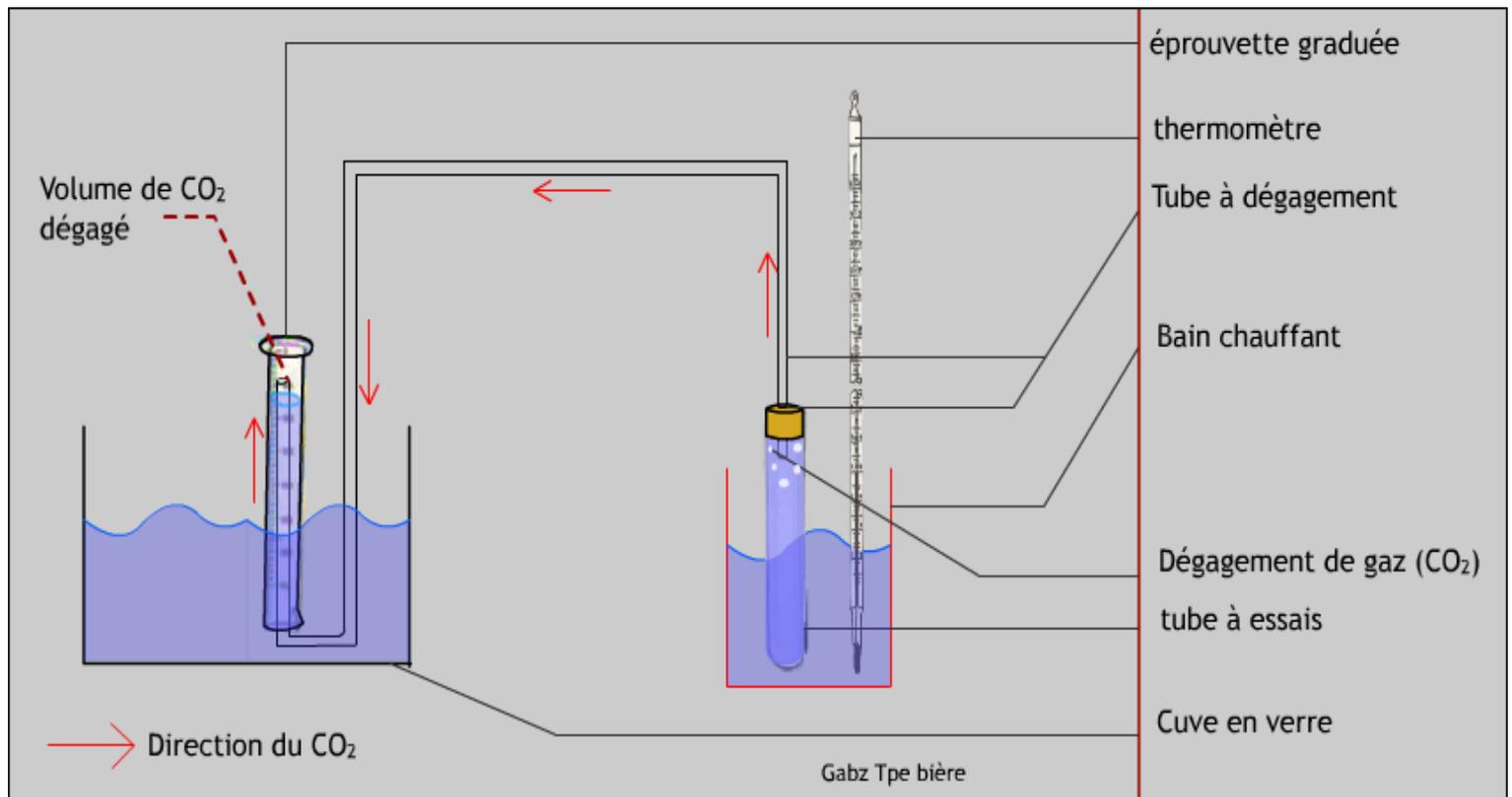
Tube n°3 → moût n° 3 + levures

Tube n°4 ; 5 ; 6 → moût **A** + levures

Chaque tube est ensuite rapidement bouché avec un tube à dégagement dont le bout est mis dans les éprouvettes gradués remplies d'eau qui sont elles même dans les cuves en verre

On marque les tubes ainsi :

- Tube n°1 = pH 5.3
- Tube n°2 = pH 6.2
- Tube n°3 = pH 8
- Tube n°4 = temp 5°C
- Tube n°5 = temp 35°C
- Tube n°6 = temp 60°C



Une autre précaution à prendre : lors de la pose du tube à dégagement , il ne faut pas que le bout du tube soit déjà dans l'éprouvette graduée, auquel cas on risque d'introduire par pression de l'air dans l'éprouvette

On vérifie que les températures des bains chauffant sont stables, et place les tubes à essais comme ceci :

Tubes n° 1 ; 2 ; 3 dans le bain chauffant à 35°C , tube n° 4 dans le bain à 5°C, n°5 dans celui à 35°C et tube n°6 dans le bain à 60°C

Ainsi, on étudie un seul paramètre à la fois : tous les tubes avec pH différents sont à la même température, et tous les tubes à températures différentes sont de même pH

On vérifie chaque éprouvette graduée toutes les 15 minutes et l'expérience totale se déroule sur une durée d'environ 1h15

Les vidéos suivantes montrent deux relevés à  $t = 30$  minutes et  $t = 60$  minutes



Double cliquez sur les vidéo pour les lire

Nom des vidéos sur le CD : *resultats\_exp1\_t30.mpg*  
*resultats\_exp1\_t60.mpg*



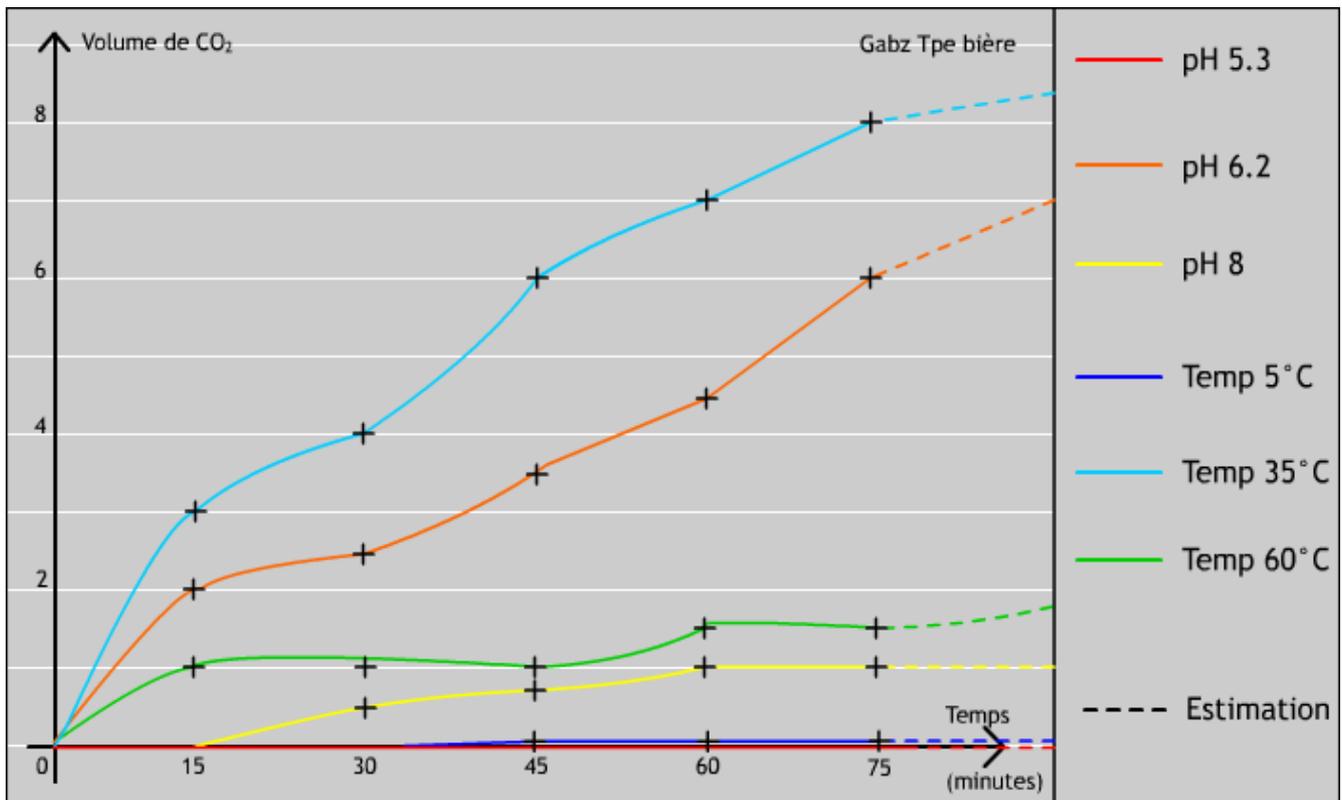
### Résultats :

Temps (minutes)	pH 5.3	pH 6.2	pH 8	Temp 5°C	Temp 35°C	Temp 60°C
0	0	0	0	0	0	0
15	0	2	0	0	3	1
30	0	2.5	0.5	0	4	1
45	≈ 0	3.5	0.75	0.1	6	1
60	≈ 0	4.5	1	0.1	7	1.5
75	≈ 0	6	1	≈ 0.1	8	1.5

Les résultats notés en rouge sont les volumes en mL (ou cm<sup>3</sup>) de CO<sub>2</sub> présents dans l'éprouvette graduée pour un certain t

Cependant, les résultats sont plutôt utilisés de manière comparative, car la précision des mesures est vraiment faibles à cause : de l'imprécision des éprouvettes gradués, du fait qu'à un certain instant t, les bulles de CO<sub>2</sub> émises par les levures pouvaient rester coincés dans une partie du tube a dégagement, et apparaître d'un coup dans l'éprouvette.

Cependant les résultats sont quand même flagrants et il suffit de tracer les fonctions suivantes pour s'en rendre compte :



*On peut remarquer que très souvent la production de CO<sub>2</sub> est la plus forte de 0 à 15 minutes, (pente de la courbe plus forte) , ceci est explicable par la présence d'oxygène dissous dans l'eau pendant les premières minutes, les levures peuvent donc respirer, et produisent donc plus de CO<sub>2</sub> en moins de temps. Une fois l'oxygène dissous consommé, les levures retournent à la fermentation*

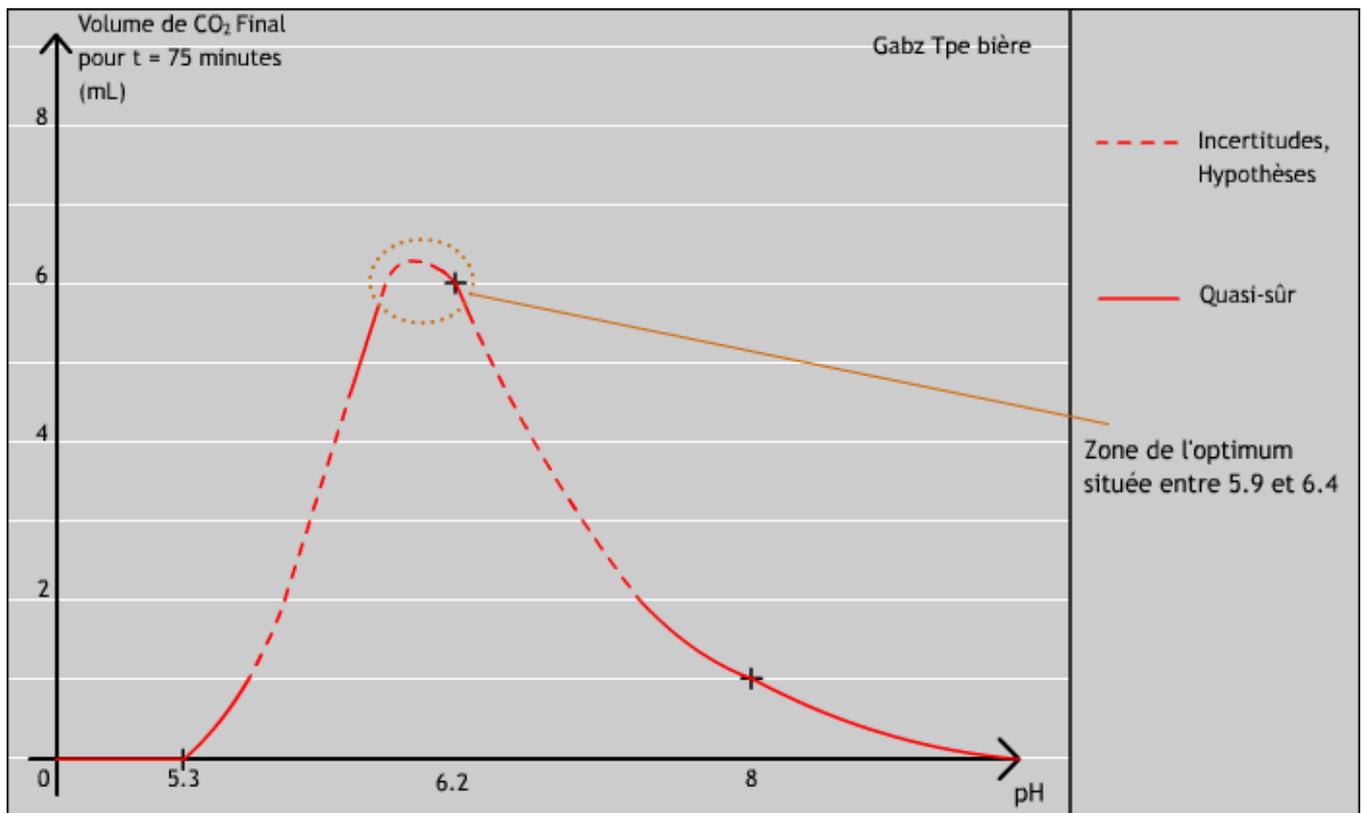
Ici la variable x est le temps en minutes, et la fonction  $f(x)$  = volume de CO<sub>2</sub> en mL. Il est évident que le pH 6.2 et la température 35°C sont les deux paramètres les plus favorables pour la fermentation des levures.

De plus, il semble que ces deux paramètres peuvent ajouter leurs effets positifs : en effet, les levures dans le tube à essais à pH 6.2 étaient à une température de 35°C (comme les deux autres tubes pH 5.3 et 8 , pour pouvoir comparer)

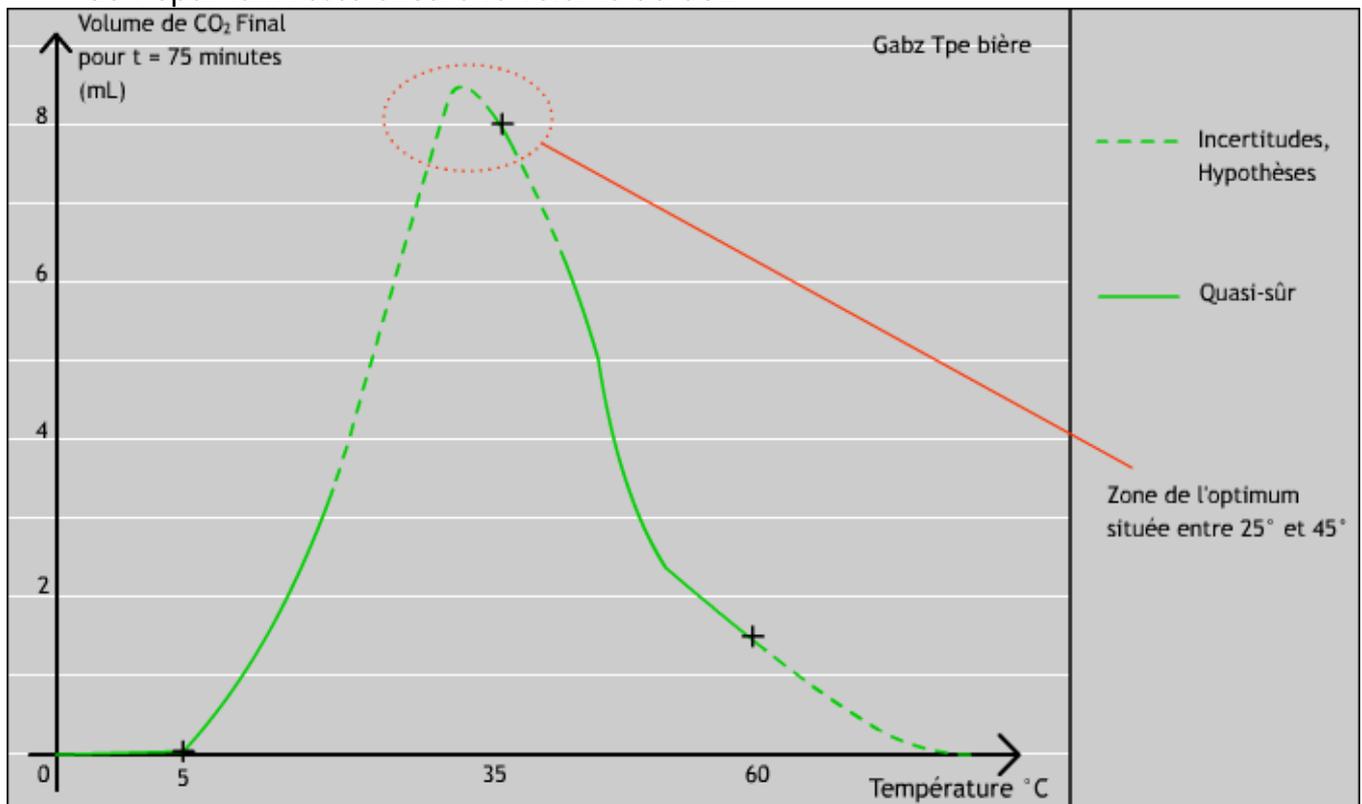
Or on remarque que la courbe bleu ciel est légèrement plus forte que la courbe orange, ceci est peut-être explicable par un pH légèrement supérieur dans les tubes servant à étudier la température (préparés avec de l'eau pure, donc avec un pH aux alentours de 6.8-7)

Ceci sous-entend non seulement que le pH 6.2 n'est pas l'optimum exact des levures, mais qu'en plus la combinaison de deux paramètres (à leur optimum) donne un optimum encore plus fort

Je vais donc essayer de déterminer l'optimum de pH et de température, même si le manque de mesure m'interdit d'affirmer une valeur précise :



Ici, le temps n'est plus la variable, puisqu'on fixe le paramètre temps sur la dernière valeur t = 75, la variable x est le pH, ou la température, et l'indicateur de l'optimum reste encore le volume de CO<sub>2</sub>



Il est très important de noter que cet optimum n'est valable que pour la Souche, et peut être à plus généralement au type de levures employé  
En effet, il suffit d'employer des levures qui accomplissent la fermentation « basse », pour avoir un optimum de température vers les 15°C , ce qui est un changement assez énorme

### Seconde partie de l'expérience (expérience n°2)

J'ai voulu vérifier les dires de certains brasseurs, confirmés par beaucoup de sites. Ceux ci disent que la plupart des brasseurs, avant de plonger directement leur levures dans le moût pour la fermentation, les oxygènent une journée ou deux avant, afin qu'elles soient plus résistantes , ou plus performantes lors de la fermentation

La manipulation est sensiblement la même que la précédente, le CO2 sert toujours d'indicateur des performances des levures.

Ici nous n'allons pas comparer les conditions du milieu immédiates pour les levures comme précédemment, mais l'influence des conditions antérieures à l'expérience

Il est donc impératif, puisqu'on est en comparaison, d'avoir exactement :

- le même nombre de levures dans chaque tube
- le même milieu dans chaque tube

La seule différence étant l'oxygénation des levures, (ou pas) précédant l'expérience

Il faudra donc cultiver deux à trois jours à l'avance des levures en milieu aérobie, les autres levures seront ajoutées au moût directement sans avoir été cultivées

On peut voir dans cette vidéo la préparation de l'expérience n°2



[Cliquez sur la vidéo pour la lire](#)  
Nom de la vidéo sur le cd : preparation\_exp2.avi  
(nécessite le codec divX 5.05 disponible sur le cd)

La difficulté est d'avoir le même nombre de levures dans chaque tube, car elles ne seront pas issues de la même solution, et donc seront de concentrations différentes. Il faut donc connaître la concentration de chaque solution pour pouvoir en diluer une et obtenir une même concentration en levures dans chaque tube à essais.

Pour cela, une seule méthode : compter les levures au microscope dans des grilles de 1mL.

On pourra ensuite diluer l'une des deux solutions, et mélanger chaque solution dans un tube à essai avec un même moût préparé à l'avance.

Le reste de l'expérience se déroule exactement comme précédemment avec le tube à dégagement dans des conditions à peu près optimum (35° et pH neutre) etc...

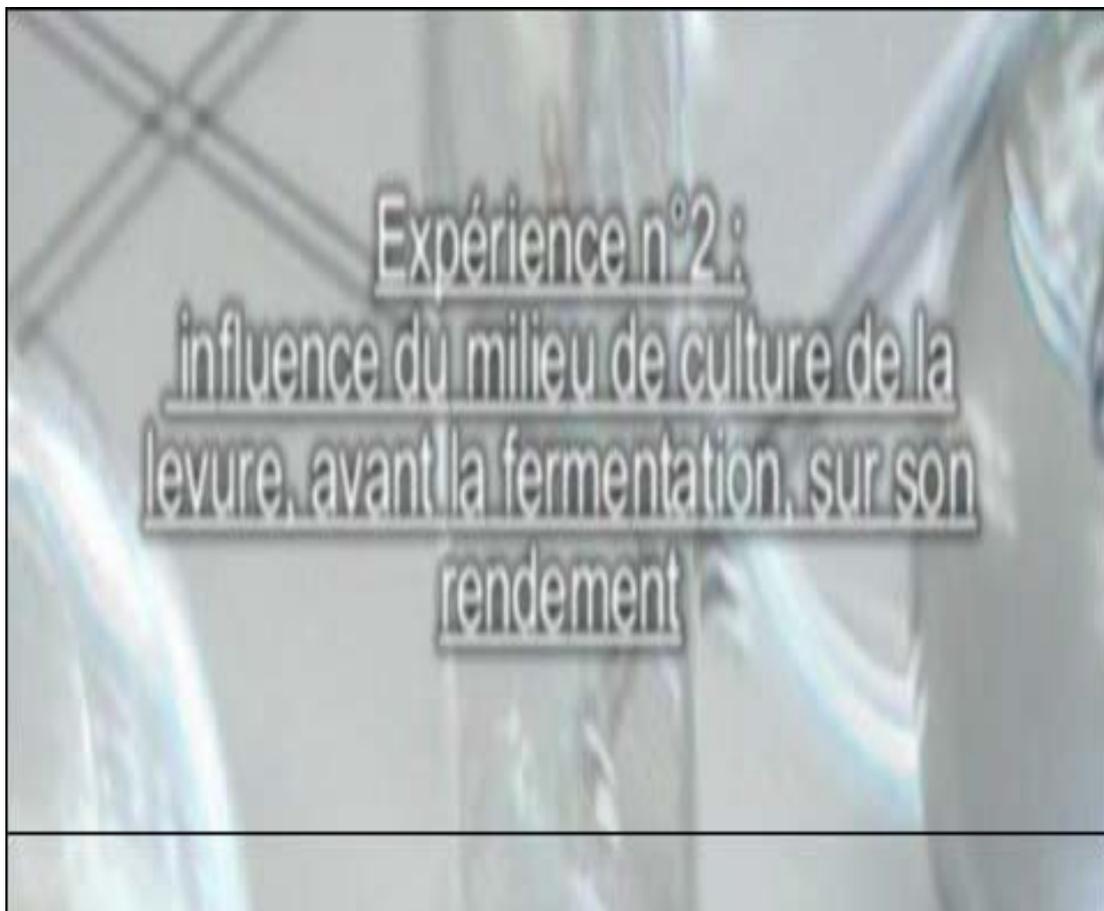
Cette expérience n'a pas vraiment réussi la première fois, et complètement raté la deuxième fois.

Les raisons sont simples : lorsque l'on compte les levures au microscope, on est obligé de les diluer pour ne pas avoir à compter 25 milliards de levures dans un 1mL.

(le comptage se fait dans des grilles contenant exactement 1mL)

Or à force de trop diluer pour que ce soit comptable, on finit par avoir un nombre trop faible de levures dans chaque tube à essais et le dégagement de CO<sub>2</sub> est si faible qu'il n'est quasiment non observable.

Cependant, la première fois, on pouvait observer un minuscule volume de gaz dans le tube des levures cultivés auparavant en aérobiose. Cependant, il est tout à fait possible que ce volume vienne d'une bulle d'air coincée dans le tube à dégagement qui se serait détachée au cours de l'expérience.



Les explications de ce phénomène sont introuvables sur Internet, cependant M.Sauzedde m'en a proposé une qui peut-être bonne :  
Lors de la culture aérobie, la levure respire, or la respiration permet aux levures d'utiliser plus intensivement leurs voies métaboliques que la fermentation : le pyruvate est dégradé en plus grande quantité  
Ceci est facilement observable : les levures absorbent plus rapidement le sucre en aérobiose

***Remarque : Il faut savoir que les levures lyophilisées ont totalement stoppé leur métabolisme, lors qu'on les hydrate, elles doivent donc se remettre en marche***

Or, si la levure dégrade plus de pyruvate, la chaîne de la glycolyse est activée plus fortement, ce qui se traduit par une génération plus importante d'enzymes nécessaires à la glycolyse

Or ces enzymes restent un certain temps dans la levure, et lorsqu'elle est plongé dans le moût, et qu'elle est obligée de fermenter, la glycolyse est sa seule source d'énergie, et si elle possède un appareil enzymatique (de la glycolyse) plus développé qu'une levure qui était lyophilisée, forcément, elle va dégrader plus de glucose, et donc ensuite dégrader plus de pyruvate et rejeter plus de CO<sub>2</sub> et d'alcool

Une option en plus, est que lors de la respiration, de très nombreux transporteurs d'électrons tels que NADH et NAD<sup>+</sup> sont mis en jeu grâce justement à la respiration mitochondriale. Or, le NADH est nécessaire lors de la glycolyse, ce qui permet à la levure oxygénée d'avoir un petit stock de réserve en avance qu'elle peut utiliser pour faire démarrer immédiatement la fermentation

Ajout de nouvelles interprétations après avoir fait la partie d)autres aspects du métabolisme : en effet, comme dit plus haut, la levure n'est capable de synthétiser certaines molécules essentielles à son métabolisme qu'en aérobiose (exemple : glycérides, stérols et certains acides aminés...). Les levures cultivées auparavant peuvent donc faire des réserves et seront bien plus résistantes lors des « chocs et stress » de la fermentation. Comme elles auront leurs stocks déjà faits, elles pourront démarrer la fermentation (ou respiration) directement sans utiliser une partie de l'énergie pour résister au stress. Ainsi, elles auront un métabolisme plus rapide, ce qui devrait normalement être observable par un rejet de CO<sub>2</sub> plus rapide.

Ceci reste une hypothèse, et les données trouvées à ce sujet restent assez vagues

Le problème pour réussir cette expérience : augmenter le nombre de levure dans le tube à essais

Deux techniques :

- ne pas trop diluer la solution de levures cultivées en aérobie pour le comptage au microscope (donc un comptage très long à cause des très nombreuses levures par carré)
- utiliser des tubes à essais de très grande contenance, ainsi même avec une concentration faible, le nombre de levure sera peut être suffisant pour créer un dégagement observable

Cette expérience reste de toute façon très théorique, et je ne pense pas qu'elle aurait réussi en la refaisant une troisième fois

En tout cas, merci à Alain Ly et aux préparateurs des labo de science qui m'ont bien aidé !

## Conclusion :

Toute cette biologie nous éloigne de la fabrication de la bière, car même si la bière commence à ressembler à de la bière après la fermentation, elle n'est pas encore véritablement buvable, et sa fabrication est loin d'être achevée ! En effet, il reste toute la finalisation donnant la touche finale et bien souvent permettant de donner LE goût caractéristique de telle bière (ajout de l'ingrédient secret)

Du point de vue du brasseur, la fermentation était une étape cruciale qu'il à du contrôler minutieusement (bien souvent par informatique dans les grosses brasserie) à l'aide d'une batterie d'instruments de mesures : glucomètre, éthylomètre, testeur de pH , etc...

Heureusement viens pour lui la finalisation qui est sûrement la partie la plus agréable de la fabrication, puisque c'est ici qu'il va donner son goût à sa bière, en exerçant ses talents de cuisinier plutôt que de biologiste !

## V - Finalisation

Après avoirensemencé le moût avec les levures, et laissé fermenter, la finalisation a pour rôle de peaufiner le goût et garanti une hygiène irréprochable. Cependant, il n'existe une finalisation « type » puisque chaque brasserie décide quelles étapes elle va utiliser en fonction du type de bière désiré

### 1) Filtration

La filtration, lorsqu'elle est appliquée, est de loin l'étape qui demande le plus de soins et d'attention. Une bière bien filtrée est souvent considérée comme la clé d'un produit fini de qualité. Le personnel préposé à cette tâche doit être formé en conséquence et être choisi avec beaucoup de soin.

Les objectifs de la filtration de la bière sont multiples et sont principalement de proposer un produit d'une brillance et d'une stabilité irréprochable. Il va de soit que ne rentreront pas en compte les bières refermentées en bouteilles qui doivent contenir une certaine quantité de levure (de nombreuses bières belges font encore honneur à cette technique de fabrication). Dans ces produits, la clarification se fera par décantation de la levure au fond de la bouteille. Il va de soit que ce type de bière ne pourra jamais rivaliser sur la brillance des bières filtrées.

La filtration est une technique de séparation qui dans le cas de la bière est de type "liquide-solide" car une phase présente dans le filtre est liquide (la bière) et l'autre est solide (l'adjuvant de filtration). La filtration consistera simplement en une adsorption des particules de la bière (levure, trouble au froid, bactéries éventuelles, ...) sur l'adjuvant solide.

L'adjuvant de filtration utilisé en brasserie est le "kieselguhr". Il consiste en des algues microscopiques (diatomées) fossilisées donnant une roche blanche, légère et très poreuse. Le kieselguhr est extrait de gisements et est broyé puis chauffé à une température de 1000°C. La roche est alors broyée et tamisée.

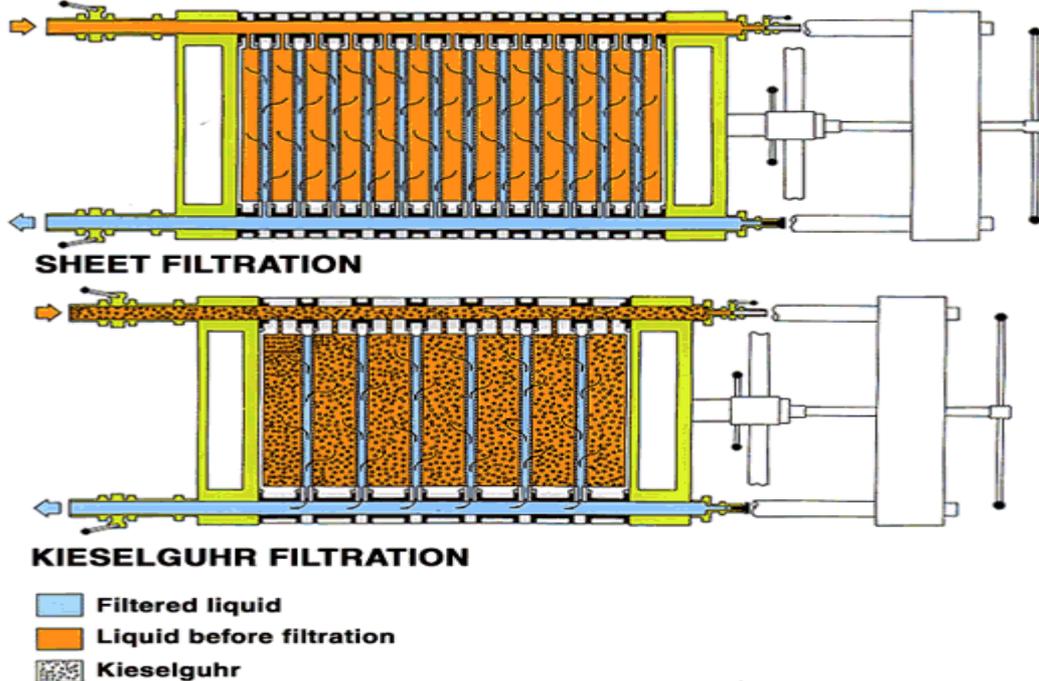


*Kieselgur vu au microscope*

Vous devez vous imaginer un filtre comme étant représenté par un papier filtre (le support solide) qui contient du sable ou un charbon actif (le kieselguhr) et dont on fait passer une eau trouble (la bière) pour la rendre claire. C'est en traversant la couche de kieselguhr que la bière va se clarifier.

Il existe plusieurs techniques de filtration de la bière mais les plus rencontrées sont le filtre clos à bougies et le filtre presse. Nous ne rentrerons pas dans les détails techniques mais signalons que la filtration doit impérativement être conduite sous pression afin de ne pas désaturer la bière de son dioxyde de carbone. De nombreuses brasseries corrigent également la saturation par injection de CO<sub>2</sub> au cours de cette étape. La température de la bière en filtration sera la même que celle de la garde, voisine de 0°C afin de favoriser la dissolution du dioxyde de carbone et de protéger le produit de toute infection.

Ajoutons aussi que l'ajout de kieselguhr se fait en continu dans le filtre (alluvionnage) afin d'offrir à la bière suffisamment de matière filtrante durant toute l'étape de la filtration (6, 10 heures ou plus).





*Fonctionnement de la filtration , à l'aide de kieselgur ou de feuilles en carton (Sheet). Le centre de la machine peut être compressé pour diminuer l'espace entre les feuilles ou entre les kieselgurs pour une filtration plus efficace*

Lorsque la filtration est terminée, donc, qu'il ne reste plus une seule levure et que la bière est limpide et brillante elle est stockée dans des tanks de bière filtrée. Ceux ci sont complètement hermétiques, et le transfert du filtre vers le tank se fait de préférence sans pression ou par siphon. En général les brasseurs préfèrent la méthode sous pression pour ne pas perdre le CO<sub>2</sub> précieusement recueilli lors de la fermentation secondaire

La bière peut être stockée très longtemps dans ces tanks à une température proche de 0°C

## 2) Soutirage

Avant de passer au soutirage , les bouteilles qui contiendrons le précieux breuvage sont examinées drastiquement. Elles sont ensuite soigneusement désinfectées

La plupart des bouteilles utilisées pour le soutirage de la bière proviennent d'anciennes bouteilles recyclées (90%)

Les bouteilles de bière sont de préférence légèrement opaque afin d'empêcher la lumière d'agir sur l'évolution du goût

La lumière a action stérilisante qui amène à court terme la diminution du nombre de cellules de levure participant à la re-fermentation de la bière (si c'est le cas). A long terme, les saveurs sont altérées et l'on voit apparaître un goût caractéristique de "papier mâché".

Viens maintenant l'étape du soutirage. En brasserie, cela se passe de manière automatisée, le rendement peut être de 12000 bouteilles/minutes.

On procède en remplissant la bouteille jusqu'au col et ensuite un filet d'eau à très haute pression (jetting) va faire mousser le produit de façon à retirer l'air résiduel de la bouteille avant qu'elle ne soit bouchée.

Cette méthode n'est pas forcément utilisée dans toutes les brasseries : par exemple les bières dites « trappistes » n'utilisent ni filtration, ni soutirage spécial puisque la bière est mise en bouteille directement à partir des tanks de garde.

Ainsi, il reste des levures dans la bouteille qui continue de fermenter lentement.

Il faut noter que la plupart des brasseries , à coté de la mise en bouteille, stockent une partie de leur production dans des tonneaux. Ceux ci sont bien plus sous pression que les bouteilles car le contenu du tonneau à été directement transvasé des tanks de gardes

Ensuite ces tonneaux sont vendus dans les débits de boissons, et c'est ainsi qu'on obtient la fameuse bière « Pression »



*Soutirage de la brasserie (tank de garde, ou de bière filtrée), et bière pression*

### 3) Pasteurisation

Toutes les bières n'utilisent pas la pasteurisation (par exemple les bières trappistes citées plus haut n'y ont pas du tout intérêt !)

évidemment, cette température élevée a pour conséquence d'éliminer les cellules de levures qui n'auraient pas été supprimées lors de la filtration. Toute évolution du goût par l'action de la levure (re-fermentation en bouteille) est donc bannie. De ce fait, une bière pasteurisée n'a aucun avantage à être conservée.

Le traitement par la chaleur est une méthode universelle pour obtenir une certaine stabilisation des denrées: les techniques culinaires consistent en des apports caloriques qui permettent, en détruisant microbes et enzymes, de conserver les produits. Le traitement par la chaleur dans des récipients hermétiquement clos a été mis au point par Nicolas Appert au début du XIX<sup>e</sup> siècle, mais ce n'est qu'à la fin de ce siècle que Pasteur justifiera scientifiquement les traitements thermiques. La pasteurisation, qui a pour but de détruire les bactéries pathogènes présentes dans un milieu, est appliquée à de nombreux produits liquides. La bière, qui subit une haute pasteurisation à 90 °C pendant une fraction de seconde, en est un exemple: elle est chauffée sans ébullition, puis refroidi.

#### **Procédé**

Le produit est emballé dans des barquettes munies de valves de dégazage. Ces barquettes sont acheminées, sur bande transporteuse, en continu, dans le tunnel à micro-ondes. Ce tunnel associe les micro-ondes pour la montée en température et l'air chaud pour la phase de maintien, qui permet de s'assurer que la température sera maintenue le temps nécessaire et suffisant pour la pasteurisation. La valve de dégazage permet à l'air et à la vapeur de quitter l'emballage lors de la phase de montée en température, puis cette valve se referme lorsque la pression intérieure est inférieure à la pression atmosphérique, ce qui permet à l'emballage de rester hermétique.

## Atouts

La montée en température est rapide, puisqu'il s'agit d'un traitement à cœur, et non pas d'un traitement dans lequel la chaleur se répand essentiellement par conduction (car les produits traités sont en général peu fluides) dans le contenant, comme dans le cas des procédés classiques. D'autre part, la dispersion des températures est meilleure, puisque dans le traitement classique les portions de produits proches des parois seront chauffées plus fort ou plus longtemps (voire plus fort et plus longtemps) que le produit situé au centre du contenant.



*Tunnel de pasteurisation*

La bière est donc prête à être dégustée , elle peut être conservé comme un grand cru, ou alors dégustée immédiatement (avec modération) après soutirage, Fraîche de préférence.

## 4) classification des bières

Ce classement est non-exhaustif , puisque ceci un sujet débattu tous les jours entre experts

Voici la classification selon l'Association des Brasseurs de France :

- *La blanche (4,4 à 7,7°), brassée avec des malts pâles et des malts de froment, est légère et désaltérante. Elle est excellente en apéritif et se déguste très fraîche (4°). Un goût de brioche, légèrement acidulé. Elle a des saveurs aromatiques proches de celle du citron, de la biscotte, de l'orange, du houblon, du froment, du pamplemousse, de la levure et du ferment.*
- *La blonde, type "pils" (4,4 à 5,5°), brassée avec des malts blonds pâles, est une bière légère, délicate et désaltérante. Elle se déguste fraîche (4 à 6°).*
- *La bière blonde spéciale (+5,5°), brassée avec des malts blonds légèrement grillés et des malts spéciaux. C'est une bière de caractère avec une bonne rondeur et une amertume soutenue. Elle se déguste à 6 ou 8°. Une bière blonde dégage des arômes de houblon, malt, caramel, végétaux, miel, ferment.*
- *La bière ambrée (4,4 à 8°) est brassée avec des mélanges de malt grillés et torréfiés. Elle dévoile tout son arôme lorsqu'elle est un peu tempérée (8 à 9°). Elle est plus maltée et plus charpentée. Elle rappelle les céréales, le malt, la guimauve, le café vert, le coing, la crêpe, le caramel et enfin la réglisse.*
- *Quant à la brune (4,4 à 8°), brassée avec des malts bruns et fortement torréfiés, c'est une bière onctueuse et crémeuse. Elle exalte toute sa saveur et son caractère lorsqu'elle est servie à 10°. Elle exhale des arômes de café au lait, café très torréfié, confiture de figue, pain grillé, cacao, chicorée.*

Source : <http://perso.wanadoo.fr/abccuisine/mars/biere.html>



*Une bière blonde « pils »*

Pour plus d'information, voici un site encyclopédique regroupant un nombre énorme de bière et décrivant chacune individuellement :

[http://vlafon.free.fr/Biere/biere\\_photo.php3](http://vlafon.free.fr/Biere/biere_photo.php3)

## Conclusion :

La fabrication de la bière, simple à première vue, se révèle être un concentré de phénomènes biochimiques complexe.

Ce Sujet est intéressant pour appliquer les connaissances théoriques de biologie et de chimie, mais aussi pour acquérir de nouvelles connaissances à partir des applications

En ce qui concerne le brasseur, s'il veut contrôler le goût de sa bière, et retrouver ce même goût chaque année, il doit savoir ce qui se passe dans ses cuves.

Grâce aux progrès de la science (certaines découvertes trouvent des applications à la brasserie, alors qu'elles sont à l'origine à des kilomètres de ce domaine !) le brasseur moderne peut prédire le goût de sa bière et le contrôler, il peut aussi optimiser sa production en cherchant les optimums, en s'équipant de matériel informatique etc...

Cela dit, le brasseur reste quand même un « artisan - cuisinier » dont le savoir faire et le « feeling » reste essentiel.

Ce mélange de tradition - artisanat et de science - recherche illustre bien le thème innovation/tradition.