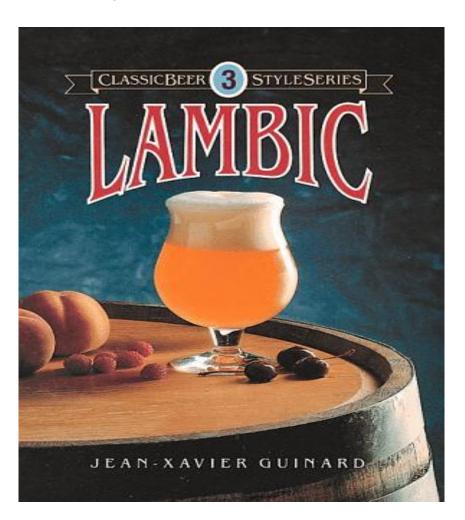




# **Projet Tutoré**

# Fermentation spontanée : le lambic et ses dérivés



Tuteur: Mr Pascal ZAVATTIERO

Thomas AHOUANGNIMON

## **Remerciements:**

#### Je tiens à remercier :

- le « Haut Conseil pour bières Lambic », une association belge qui vise à protéger les bières lambic et qui m'a envoyé des publications qui ont été la base de mon travail.
- L'association du projet Amertume pour les explications sur le process du « Turbid mashing ».
- Monsieur Virgile PERRIN du « domaine du houblon » qui m'a conseillé sur le choix des bières à faire déguster au sein de l'IUT.
- Le CFPPA de Pixerécourt pour les fonds qui m'ont permis de faire une dégustation des différents dérivés du lambic.
- L'équipe enseignante de l'iut Nancy -Brabois pour sa disponibilité.

## Introduction

## I. Définition

- 1) Le lambic
- 2) La Gueuze
- 3) Le Faro
- 4) La Kriek

## II.Le Brassage du Lambic

- 1) Généralités sur le brassage
- 2) Description du brassage du lambic
  - 2.1) L'empatage
  - 2.2) Les paliers de Saccharification
  - 2.3) Inhibition enzymatique
  - 2.4) Filtration et rinçage des drèches
  - 2.5) Ebullition
  - 2.6) Refroidissement et ensemencement

# III. Fermentation spontanée

- 1) Microflore du Lambic
  - 1.1) Entérobactéries
  - 1.2) Levures
  - 1.3) Bactéries lactiques
- 2) Le lambic, un vin de céréales
  - 2.1) Evolution de la fermentation
  - 2.2) Fermentation en fût de chêne

## IV. Evolution du Lambic et de ses dérivés

- 1) Le lambic
- 2) La Gueuze
- 3) Le Faro et la Kriek

## **Conclusion**

# **Introduction:**

Le lambic est une boisson originaire de la région du Sud-Ouest de Bruxelles qui est la capitale de la Flandre de la Belgique et de l'Europe. Entre les rivières de la Senne et de la Dendre, s'étend une région agricole très fertile et vallonnée : le Pajottenland.

C'est dans cette région qu'est brassé le lambic qui est la base de la Gueuze, du Faro et de la Kriek. Les premières traces de la recette du lambic date de 1516. La recette du lambic demeure inchangée depuis les années 1559. (The lambic beers ; Peter Van Osta) Un décret qui stipule que la bière doit comporter 16 parties de céréales : 10 d'orge et 6 de froment. (http://home.scarlet.be)

Cette boisson à base d'orge est ensemencée de manière naturelle. C'est la microflore présente dans l'air de cette région notamment grâce à la présence de levures sauvages : *Brettanomyces lambicus* et *Brettanomyces bruxellensis* qui permet la réalisation de la fermentation spontanée qui donne ce goût typique au lambic qui va fermenter plusieurs années.

Pour brasser le lambic on utilise la méthode du « Turbid mashing », une méthode de brassage singulière qui permet la production d'une grande quantité de dextrines et d'acides aminés libres nécessaires aux levures et bactéries lors de la longue fermentation.

# I. <u>Définition</u>

<u>Le Lambic :</u> Le Lambic est une bière de fermentation spontanée qui est brassée avec 30% de blé non malté et 70 % d'orge malté. Une saveur épicée lui est conférée grâce à du houblon suranné. Cette bière de froment peut seulement être brassée dans la région de la vallée de la Senne. En effet, la présence de levures sauvages spécifiques dont les plus connues sont '*Brettanomyces Bruxellensis*' et '*Brettanomyces Lambicus*' est nécessaire. Le lambic est une bière acide, sans pétillant ni mousse, et tirant environ 5% Alc (www.lindemans.be)

Densité initiale entre 1,040 et 1,056 / Alcool entre  $4^{\circ}$  et  $6^{\circ}$  / Amertume en IBU entre 3 et 23 / couleur en SRM : 4 - 13 (The lambic beers ; Peter Van Osta)

La Gueuze: La Gueuze ou Geuze est un dérivé du lambic. Les coupeurs de Gueuzes mélangent des lambics d'âges différents pour avoir une Gueuze complète et complexe. Les vieux lambics (trois ans de fûts) apportent plus d'alcool et une plus grande finesse. Les jeunes lambics (au moins un an de tonneau pour les brasseries traditionnelles) apportent des sucres qui permettront à la Gueuze de continuer à fermenter en bouteilles et la rendront ainsi pétillante. La refermentation en bouteille se fait sans ajout de sucre et de nouvelles levures. Cette refermentation dure 6 mois environ. (www.guide-biere.fr)

Densité initiale entre 1,040 et 1,056 / Alcool entre  $4^{\circ}$  et  $6^{\circ}$  / Amertume en IBU entre 3 et 23 / couleur en SRM : 4-13 (The lambic beers ; Peter Van Osta)

<u>Le Faro</u>: C'est un lambic dans lequel on a ajoute du sucre de canne pour le faire refermenter en bouteille. Il peut parfois être épicé avec une légère flaveur de caramel. Un goût aigre doux fort agréable le différenciera de la Gueuze simple qui est plus aigre. (www.guide-biere.fr)

Densité initiale entre 1,040 et 1,056 / Alcool entre  $4^{\circ}$  et  $6^{\circ}$  / Amertume en IBU entre 3 et 23 / couleur en SRM : 4-13 (The lambic beers ; Peter Van Osta)

<u>La Kriek</u>: Bière allant de l'orange au rouge, elle combine le caractère d'une Gueuze et le goût des cerises. On obtient cette bière en ajoutant dans les fûts de jeunes lambics (six mois d'âge) des cerises fraîches. Après huit à douze mois de fermentation dû au sucre des cerises, la Kriek est prête à être filtrée et mise en bouteille.

Densité initiale entre 1,040 et 1,072 / Alcool entre 4° et 7° / Amertume en IBU entre 3 et 22 / couleur en SRM : rouge (<u>The lambic beers</u> ; Peter Van Osta)

# II. Le Brassage du Lambic

## 1. Généralités sur le brassage

Pour brasser un lambic on utilise le même malt que pour brasser une bière classique. La recette originelle du lambic est composée de 70% malt d'orge et de 30% de blé non malté.(http://bergsman.org)

Pendant le maltage, les céréales germent et développent des enzymes. Ces dernières ont pour rôle primaire de permettre à la jeune plante de croître en puisant dans les réserves d'amidon qui constituent la majorité du grain. Elles ont la particularité d'être pratiquement inactives à température ambiante et à un a<sub>w</sub> faible, ce qui permet la bonne conservation du malt.

Les principales enzymes intervenant lors du brassage sont les amylases Alpha, les amylases Beta ainsi que les protéases. Le brassage va permettre l'hydratation des grains et donc une activation des enzymes présentes. Lors du brassage, il y a transformation de l'amidon en sucre simple, fermentescibles, qui sont le glucose, le maltose et le maltotriose. Ces sucres sont assimilables par les levures telles que *Saccharomyces cerevisiae* qui va les fermenter et produire du CO<sub>2</sub> et de l'alcool.

Le brassage transforme aussi l'amidon en dextrines qui sont des sucres non fermentescibles qui donnent le corps de la bière et sa rondeur en bouche.

Le choix de la température et de la durée des paliers permettent de favoriser la synthèse d'un type de sucre.

- les bières classiques sont généralement brassées par des méthodes multi-paliers.

  La méthode multi-paliers est typique des brasseurs belges qui cherchent à transformer le plus possible l'amidon en sucres. Ces méthodes se traduisent par un chauffage progressif de l'eau et du malt (la maische) à différentes températures, les paliers, pendant un laps de temps déterminé. Pour atteindre ces paliers de température, on peut chauffer directement la cuve avec du gaz, avec une résistance ou avec de la vapeur surchauffée ou indirectement avec de l'eau bouillante rajoutée pour faire monter la température. Ces méthodes sont appelées « Brassage par infusion ».
- Il existe aussi une autre méthode pour atteindre les températures des différents paliers, c'est la méthode de décoction. Pour réaliser cette méthode, on prélève une partie de la maische, environ 1/3 et en la chauffe à part dans une autre cuve jusqu'à la température de 75°C. On maintient cette température durant 20 minutes puis on porte à ébullition et on l'ajoute ensuite au reste de la maische ce qui a pour effet l'élévation de la température.
  Des bières, le plus souvent anglaises, sont brassées en mono-palier c'est-à-dire que l'on

ajoute le malt à de l'eau à 76°C environ. La cuve de brassage est isolée et la température va descendre doucement pour se stabiliser vers 68°C au bout d'une heure et demie.

Le brassage du lambic est différent de toutes ces méthodes, en effet on utilise la méthode du « turbib mashing ».

Le mot « Turbid » qui signifie trouble en anglais provient de l'aspect et de la couleur du mélange eau malt qui peut ressembler à ceci : une soupe laiteuse.



Figure N°1: Photographie d'une partie de la maische lors d'un essai de brassage d'un lambic; (Thomas AHOUANGNIMON)

Comme pour une bière belge classique, le brassage du lambic se fait par paliers de températures successifs. Les différentes températures qui sont utilisées dans le cas du brassage multi-paliers influence l'action des enzymes responsables de la transformation de l'amidon en sucre pendant le brassage. En effet pour avoir un lambic qui va fermenter de longs mois, il faut une certaine proportion de sucre fermentescible par rapport aux dextrines. (Microbiology and Biochemistry of the Natural Wort Fermentation in the Production of Lambic and Gueuze; Van Oevelen (Dissertations de agricultura, 1978))

## 2. Description du brassage :

#### 2.1. L'empatage

L'empatage est le premier palier du brassage, également nommé palier protéique. Il se fait entre 45°C et 55°C. Ce palier dure entre 10 et 30 minutes.

L'empatage a deux objectifs :

- Il transforme les protéines complexes et non solubles du malt en acides aminés et en protéines plus simples et solubles. Ces dernières constitueront les nutriments nécessaires aux métabolismes des bactéries et des levures durant la fermentation du lambic.
- Il permet de dénaturer et d'éliminer la majeure partie des protéines responsables du trouble de la bière. En effet, pour brasser un lambic on utilise du blé et ce sont ces protéines qui sont responsables du trouble, c'est le cas notamment dans les bières blanches qui sont brassées avec du malt de blé ou du blé cru.

L'empatage a aussi une influence sur la tenue de la mousse, en effet ce sont les protéines qui sont responsables de la mousse de la bière, et si l'empatage dure trop longtemps il ne restera pas assez de protéines complexes pour assurer une bonne tenue de la mousse du produit fini.

Le procédé est le suivant :

Le malt est ajouté à un volume d'eau à 55°C. Cette opération est effectuée dans le but d'obtenir un mélange eau-malt, la maische, ayant une température de 45°C.De l'eau à 90°C est ajoutée à la

maische afin d'atteindre la température de 52°C, l'empatage commence. Cette température est maintenue durant 30 minutes. (<u>A Liddil Lambic Lesson</u> : The Cult of the Biohazard Lambic Brewers ; Jim Liddil (1996))

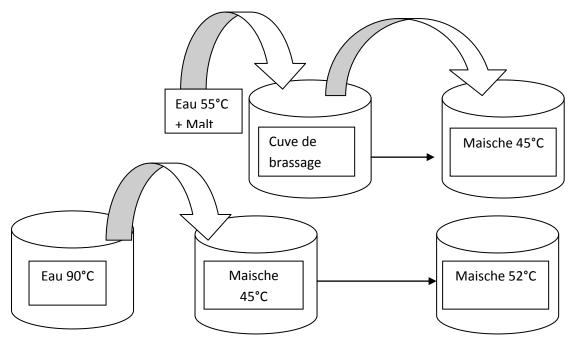


Schéma N°1: empatage; (Thomas AHOUANGNIMON)

Après les 30 minutes du palier protéique, le brasseur retire une partie de la maische qui est à 52°C et la place dans une cuve pour la faire chauffer à 75°C. Cette cuve sera appelée cuve de chauffe.

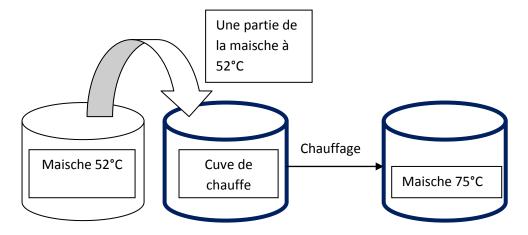


Schéma N°2 : chauffage d'une partie de la maische à 75°C ; (Thomas AHOUANGNIMON)

Le brasseur ajoute de l'eau à 90°C qui vient de la cuve d'eau chaude pour atteindre le palier de

saccharification à 65°C.

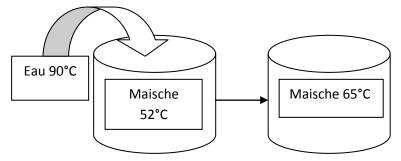


Schéma N°3: Palier de saccharification; (Thomas AHOUANGNIMON)

C'est durant cette première étape que l'on peut voir la différence entre le brassage par décoction et la méthode du turbid mashing :

Ici, le brasseur retire une partie de la maische pour la faire chauffer à 75°C dans une cuve à part et il ajoute de l'eau à 90°C pour faire monter la température.

Dans le cas du brassage par décoction, le brasseur retire une partie de la maische, il la fait chauffer à 75°C durant 20 minutes puis il la fait bouillir durant 10 minutes et la rajoute dans la cuve de brassage pour faire monter la température.

#### 2.2. Les paliers de saccharification

#### Formation des sucres fermentescibles :

La formation des sucres fermentescibles se fait à une température de 65°C. L'enzyme responsable de la formation de ces sucres à partir de l'amidon contenu dans le malt est l'amylase beta. En règle générale, ce palier dure environ 30 minutes.

Ici, les amylases béta entrent en action en coupant les molécules d'amidon qui est un polymère de glucose plus ou moins ramifié en molécules de maltose, lui-même composé de deux unités glucose. C'est ce maltose qui sera transformé par la suite en gaz carbonique (CO<sub>2</sub>) et en alcool éthanol (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH) par les levures lors de la fermentation. En modifiant la durée de ce palier, le rapport taux de sucre fermentescible/sucre non fermentescible peut être contrôlé afin d'équilibrer la bière entre alcool et rondeur en bouche.

## β-Amylase

Schéma N°4: digestion de l'amidon par la béta amylase; (www.worthington-biochem.com)

Une fois le palier achevé, le maître brasseur retire une partie de la maische à 65°C et la place dans la cuve de chauffe avec la maische à 75°

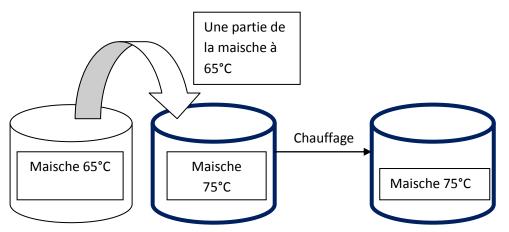


Schéma N°5: chauffage d'une partie de la maische; (Thomas AHOUANGNIMON)

Il ajoute alors dans la cuve de brassage de l'eau à 90°C de la cuve d'eau chaude afin de faire monter la température jusqu'à atteindre 75°C, température de formation des dextrines.

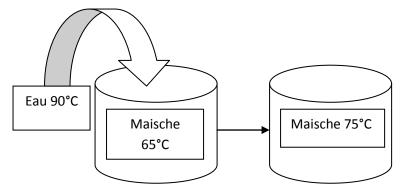


Schéma N°6: palier de saccharification à 72°C; (Thomas AHOUANGNIMON)

#### Formation des sucres non fermentescibles :

Ce palier s'effectue à une température comprise entre 70°C et 75°C. A ces températures, l'amylase Béta est dénaturée et seule l'amylase Alpha demeure active. Ceci a pour conséquence une formation accrue de dextrines qui vont donner le corps de la bière.

$$\alpha$$
-Amylase

OH
OH
OH
OH
OH
OH
H<sub>2</sub>O
OH
OH
OH
OH
OH
OH
OH
OH
Maltose (and glucose)

Schéma N°7: digestion de l'amidon par l'alpha amylase; (www.worthington-biochem.com)

Les dextrines sont des sucres complexes qui ne sont pas métabolisés par les levures telles que *Saccharomyces cerevisiae*.

Ce palier est très important dans le brassage car le lambic va fermenter durant de longs mois, entre 6 mois et 3 ans. *Brettanomyces bruxellensis* et *Brettanomyces lambicus* vont utiliser les dextrines pour leur métabolisme car elles possèdent des enzymes qui leur permettent d'utiliser des sucres plus complexes que le maltotriose. C'est pourquoi il faut que le moût de lambic soit riche en dextrine.

Cette méthode de brassage particulière permet la production de dextrines en grande quantité. En effet les parties de la maische qui sont retirées et placées dans la cuve de chauffe sont chauffées à 75°C, température du palier de formation des dextrines.

L'avancement des paliers de saccharifications est contrôlé grâce à l'iode  $(I_2)$ . L'amidon fait virer au violet sombre l'iode qui est jaune au départ. Cette propriété est utilisée pour connaître l'avancement de la saccharification, en prélevant un peu de moût auquel sont additionnées quelques gouttes d'iode. La coloration de l'amidon par l'iode résulte de la fixation des molécules de diiode à l'intérieur des hélices d'amylose à raison d'une molécule pour deux tours d'hélice, chaque tour d'hélice comportant chacun six résidus glucose. La coloration caractéristique nécessite la fixation d'au moins trois molécules de diiode à l'amidon pour pouvoir apparaître ce qui correspond à un oligosaccharide d'au moins 36 résidus glucose.

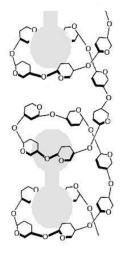




Schéma N°8 : Coloration de l'amidon par le diiode ; (http://www.didier-pol.net/2amidon.htm)

Le test est interprété de la manière suivante :

- l'échantillon ne se colore pas, ou est légèrement rougeâtre : la saccharification est complète car les dextrines obtenues en fin de brassage colorent l'iode en rouge.
- l'échantillon vire au bleu/violet : la saccharification est incomplète, il faut prolonger le palier de saccharification.



Figure N°2 Test de l'avancement des paliers de saccharification lors d'un essai de brassage de lambic : à gauche, l'iode se colore en bleu palier incomplet à droite aucune coloration : saccharification terminée ; (Photographie Thomas AHOUANGNIMON)

Une fois le palier de saccharification terminé, le maître brasseur retire une partie de la maische à 75°C et la place dans la cuve de chauffe avec les 2 autres parties prélevées précédemment.

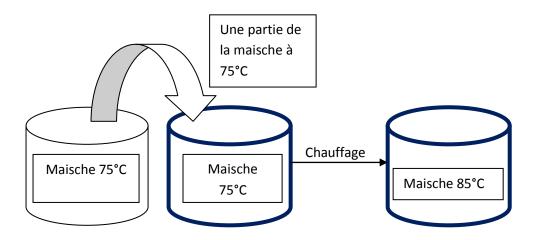


Schéma N°9 : Chauffage d'une partie de la maische ; (Thomas AHOUANGNIMON)

Ces 3 parties vont être chauffées jusqu'à une température de 85°C puis elles seront ajoutées dans la cuve de brassage pour que le mélange atteigne le palier d'inhibition enzymatique à 78°C.

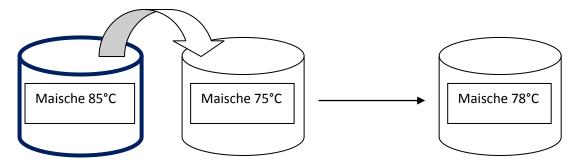


Schéma N°10; Palier d'inhibition enzymatique; (Thomas AHOUANGNIMON)

#### 2.3. Inhibition enzymatique

A la fin du brassage, la température atteinte est d'environ 80°C. Ce palier est maintenu durant 10 à 15 minutes.

A cette température, les enzymes présentent dans la maische sont dénaturées. Ce palier est très important car il permet de conserver le rapport sucres fermentescibles/sucres non fermentescibles acquis précédemment. Cette température permet également une meilleure solubilisation des sucres simples et complexes obtenus durant le brassage donc un meilleur rendement d'extraction lors du lavage des drêches pendant le rinçage.

Schéma N°11: Transfert vers la cuve filtre;
(Thomas AHOUANGNIMON)

Maische 78°C

Cuve de filtration

### 2.4. Filtration et rinçage des drêches

La filtration a pour objectifs la séparation des drêches et du moût ainsi que l'extraction des sucres et des dextrines formés lors du brassage. Cette opération nécessite une cuve spéciale avec un fond filtrant.



Figure N°3 Cuve de filtration de la Gérômoise; (Photographie Thomas AHOUANGNIMON)



Figure N°4 Fond filtrant de la cuve de filtration de la Gérômoise; (Photographie Thomas AHOUANGNIMON)

Dans le cas du brassage d'une bière « classique » les drêches sont lavées à l'eau chaude (75°C -80°C) afin de récupérer les sucres qui se dissolvent plus facilement dans l'eau chaude. Le rinçage est une étape subtile entre l'extraction des sucres et risque de dilution du moût.

Dans le cas du brassage d'une bière classique, si la quantité d'eau pour le rinçage est trop faible, le sucre ne sera pas extrait en totalité il y aura un mauvais rendement d'extraction. *A contrario*, si on utilise trop d'eau pour rincer les drêches, le moût sera dilué.

Dans le cas du brassage d'un lambic, les drêches sont rincées avec de l'eau à 95°C. Cette haute température permet d'extraire plus de dextrines ainsi que l'amidon non transformé et également une partie des tanins du malt. Le rinçage nécessite beaucoup plus d'eau que dans un rinçage « classique » afin d'extraire tout le sucre et les dextrines des drêches malgré la dilution du moût car le lambic va subir une longue fermentation et les micro-organismes qui vont se développer vont avoir besoin de beaucoup de sucre et de dextrines. (<u>A Liddil Lambic Lesson</u> : The Cult of the Biohazard Lambic Brewers ; Jim Liddil (1996))

#### 2.5. Ebullition

#### Cas d'une bière classique

L'ébullition a pour premier objectif de stériliser le moût pour permettre sa conservation. Le deuxième objectif de l'ébullition est d'extraire les substances aromatiques et antiseptiques du houblon et de permettre l'isomérisation de l'acide alpha de la lupuline en acide iso alpha qui va apporter l'amertume de la bière. L'ébullition est responsable de la cassure protéique, une coagulation des protéines présentes dans le moût qui assure une bonne limpidité au produit fini.

#### Cas d'un lambic

L'ébullition est plus longue que lors d'un brassage normal. En effet cette ébullition dure 4 heures ce qui a pour objectif d'évaporer l'eau ajoutée en excès lors du rinçage des drêches. Environ 25% du volume total doit être évaporé pour avoir une bonne concentration de sucre.

Cette longue ébullition aide à la coagulation des protéines du blé qui sont responsables du trouble de la bière, ainsi, on obtient un lambic limpide.

On réalise le houblonnage du moût durant l'ébullition, les brasseurs utilisent les propriétés aromatiques et antiseptiques du houblon. Les quantités de houblon utilisées sont plus importantes que lors du houblonnage des bières classiques. En effet, on utilise environ  $600gL^{-1}$  de houblon. Pour que l'amertume ne soit pas trop forte, les brasseurs belges utilisent du houblon suranné, c'est-à-dire du houblon qui à plus d'un an et qui a donc perdu son pouvoir amérisant mais pas son pouvoir antiseptique. Le houblon suranné apporte l'arôme, il est nécessaire à la bonne conservation du lambic qui a une durée de vie nettement supérieure aux autres bières dites classiques. (A Liddil Lambic Lesson : The Cult of the Biohazard Lambic Brewers ; Jim Liddil (1996))

#### 2.6. Refroidissement et ensemencement

#### Cas d'une bière classique :

Après l'ébullition, le moût est refroidi par un échangeur à plaque pour l'amener à une température proche de 20°C dans le cas d'une fermentation haute et aux environs de 10°C pour le cas d'une fermentation basse.

On ensemence ensuite avec une souche pure de levures sélectionnées pour ses capacités à fermenter les sucres, sa production d'alcool supérieur, sa production d'esters, sa capacité à floculer. La souche de levure est typique du brasseur et de la bière.



Figure N°5 : Levures utilisées en brasserie ; http://www.bieresdumonde.oxatis.com

#### Cas d'un lambic:

Le moût de malt arrive après l'ébullition dans une chambre frigorifique pour être refroidi dans une cuve ouverte, large et peu profonde. La dimension de la cuve est importante, car elle sert de surface d'échange avec l'air ambiant et permet ainsi un bon ensemencement. C'est dans cette salle ventilée par de l'air extérieur non filtré que l'ensemencement naturel a lieu.



Figure N°6: Arrivé du mout dans la cuve de refroidissement; (http://home.scarlet.be/pajottenland/fr/payot/biere/lambic.htm)



Figure N°7 : salle de refroidissement ventilée de la Brasserie Cantillon ; (www.bieresetplaisirs.com)

En effet les levures sauvages présentes dans la région de Bruxelles vont se déposer par gravité dans le moût qui refroidi lentement et démarrer la fermentation spontanée.

D'autres levures et bactéries se déposent également et vont intervenir en plus ou moins grande proportion dans la fermentation. Ici il n'y a pas de contrôle des souches qui vont ensemencer le lambic, on a donc un produit qui n'est pas standard car chaque ensemencement est différent. Cette opération dure toute une nuit. Le lendemain le moût est complètement refroidi et sa température est aux environs de 15°C et plus de 80 espèces de levures et bactéries confondues commencent à se multiplier dans le moût grâce aux sucres présents.

Cette microflore typique du lambic va lui procurer son goût si particulier. Le lambic est prêt pour sa fermentation, il est descendu dans des caves dans des tonneaux de chêne qui ont servis à la fermentation du vin avant d'être achetés par la brasserie pour recevoir le lambic. (<u>A Liddil Lambic Lesson</u>: The Cult of the Biohazard Lambic Brewers; Jim Liddil (1996))

Une phrase de brasseur de lambic dit : « en hiver brasse qui veut, en été brasse qui peut. »

Il est vrai qu'il est plus facile d'avoir une bonne fermentation en hiver qu'en été ; car l'été il y a une charge microbienne dans l'air trop importante et le moût serait contaminé par trop de bactéries par rapport aux levures sauvages.

# III. La fermentation spontanée

### 1. La microflore du Lambic

#### 1.1. Les entérobactéries :

Les entérobactéries (*Enterobacteriaceae*) constituent l'une des plus importantes familles de bactéries, autant du point de vue quantitatif (plus d'une quarantaine de genres) que du point de vue qualitatif. Elle regroupe ainsi de nombreux genres, très ubiquitaires, et ceux-ci sont fréquemment rencontrés en pathologie infectieuse ainsi que dans les bio-industries, par exemple la fermentation de fromages et des produits laitiers, les alcools, production de toxines à usage cosmétique, industrie pharmaceutique pour la fabrication d'agents antiviraux etc....Dans les lambics il y a plusieurs genres qui peuvent être mis en évidence :

- Klebsiella pneumoniae
- Enterobacter cloacea
- Escherichia coli
- Hafnia alvei
- Enterobacter aerogenes
- Citrobacter freundii

#### 1.2. Les levures

Une levure est un champignon unicellulaire apte à provoquer la fermentation des matières organiques animales ou végétales. Les levures sont employées pour la fabrication du vin, de la bière, des spiritueux, des alcools industriels, du pain et d'antibiotiques.

Ces micro-organismes, de forme variable selon l'espèce (sphérique, ovoïde, en bouteille, triangulaire ou apiculée, c'est-à-dire renflée à chaque bout comme un citron) mais généralement ovales, d'environ 6 à 10 microns et jusqu'à 50 microns, se multiplient par bourgeonnement ou par scissiparité. Elles sont souvent capables d'accomplir une sporulation soit dans un but de dormance en milieu défavorable, soit dans un but de dispersion.

Dans les lambics, les levures rencontrées sont :

- Saccharomyces cerevisiae
- Brettanomyces lambicus
- Brettanomyces bruxellensis

Il y a aussi la présence de *Kloeckera apiculata*, un Hemiascomycète de l'ordre des Endomycétales de la famille des Endomycetaceae dont la forme parfaite est *Hanseniaspora uvarum*.

#### 1.3. Les bactéries lactiques

Les Bactéries lactiques sont des micro-organismes qui transforment les hydrates de carbone en acide lactique. Les bactéries lactiques sont des germes ubiquistes qui sont normalement présents sur la peau et dans le système digestif où ils accomplissent de nombreuses fonctions; ils créent notamment un environnement hostile en acidifiant le milieu grâce à la production d'acide lactique aux bactéries pathogènes. Ces bactéries sont utilisées pour la fermentation des produits laitiers qu'elles rendent plus digestes tout en augmentant la biodisponibilité des vitamines et des minéraux contenus dans ces aliments. On s'en sert aussi comme complément alimentaire pour recoloniser le tractus intestinal. Le genre le plus présent dans les lambics est *Pediococcus damnosus*.

Toutes ces bactéries et ces levures permettront la fermentation du moût de lambic durant de longs mois et elles vont, lors de leur croissance, synthétiser des sous produits qui sont responsables du goût et de l'arôme du lambic.

## 2. Lambic, un vin de céréales

#### 2.1. Evolution de la fermentation

La fermentation du lambic se déroule en plusieurs étapes aux cours desquelles les bactéries et les levures de différents genres se succèdent.

La température n'est pas significative car le lambic va fermenter plus d'un an et la température dans la cave évolue mais n'excède pas les 25°C.

Un lambic est dit jeune s'il est fermenté 1 an. Un lambic est vieux quand il a 3 ans de fermentation en tonneau.

Lors du refroidissement, les bactéries lactiques, les entérobactéries et les levures tombent par gravité dans le moût et commencent à se développer.

Durant le premier mois de la fermentation, les entérobactéries sont les espèces dominantes. En effet, ces bactéries croissent très rapidement dans le moût qui est riche en acides aminés et sucres simples fermentescibles. Cette croissance va affecter la suite de la fermentation qui va se prolonger plusieurs mois. Les entérobactéries produisent lors de leur croissance des sous produits qui donnent au moût en fermentation une flaveur particulière.

Lors de leur cycle métabolique, les entérobactéries fermentent le glucose de deux manières différentes :

- soit par la voie du butanediol qui induit une forte production de butanediol
- soit par la voie des acides mixtes qui induit une forte production d'acide lactique, acide acétique et d'acide succicinique.

La majeure partie de l'acide acétique que l'on peut retrouver dans le produit fini provient de l'utilisation des sucres par la voie des acides mixtes. La piqure acétique, considérée comme un faux goût et un défaut de fabrication dans les bières classiques, est normale et recherchée dans les lambics. Elle est due à la présence des entérobactéries lors du premier mois de fermentation. (Annexe 1; tandem fermentation)

Les entérobactéries produisent d'autres sous produits lors de leur croissance. Ces sous produits sont décrits comme apportant un goût de céleri, de champignon et de fumée.

Ces différentes flaveurs se retrouvent en plus ou moins grande proportion dans le lambic final ce qui contribue à la complexité du goût du lambic.

La population des entérobactéries diminue avec le temps, en effet, les levures telles que *Saccharomyces cerevisiae* et *Kloechera apiculata* qui sont présentes dans le moût fermentent les sucres simples jusqu'au maltotriose et produisent de l'alcool et du CO<sub>2</sub>. L'alcool est toxique pour les entérobactéries et la diminution du pH accélère la mort de celles ci.

Les *kloechera apiculata* ont une faible résistance face à l'alcool, elles meurent donc à cause de la fermentation alcoolique réalisée par *Saccharomyces cerevisiae*. Les *Saccharomyces cerevisiae* sont responsables de la fermentation principale du lambic. Au bout de 2 mois, les saccharomyces sont dominantes mais leur nombre diminue au début du 3<sup>ème</sup> mois, car les bactéries lactiques et les Brettanomyces commencent a se multiplier. (Annexe 1; tandem fermentation)

Les bactéries lactiques présentes dans le milieu commencent à se développer de manière significative 4 mois après le début de la fermentation. *Pediococcus damnosus* est l'espèce qui est la plus largement représentée dans le lambic. Cette bactérie est homofermentaire c'est-à-dire qu'elle produit de l'acide lactique sans production de  $CO_2$  à partir des sucres simples. Lors de la croissance de *Pediococcus damnosus*, la concentration d'acide lactique peu atteindre 5000PPM dans le lambic. *Pediococcus Damnosus* est un microorganisme exigeant qui pousse lentement car après 4 mois de fermentation, la composition du moût n'est pas optimale, pH bas, présence d'alcool, diminution de la concentration d'acides aminés libres et diminution de la source de carbone assimilable (sucres

fermentescibles). C'est pourquoi l'augmentation de la concentration en acide lactique se fait lentement durant les mois de fermentation.

Les Pediococcus produisent aussi de l'acétoin qui a une odeur plutôt fruitée et du didiacétyl qui apporte une odeur de beurre rance. Ces composés sont responsables du goût complexe du lambic.

8 mois après le début de la fermentation en fût de chêne, les *Brettanomyces lambicus* et *bruxellensis* que l'on nomme vulgairement « les levures sauvages » commencent à devenir la flore dominante. (Annexe 1; tandem fermentation)

Les Brettanomyces sont les levures typiques du lambic que l'on trouve à l'état naturel dans la région de la Senne près de Bruxelles. Elles sont considérées comme les levures responsables du goût caractéristique du lambic.

Il y a deux espèces présentes dans le lambic, *Brettanomyces lambicus* et *Brettanomyces bruxellensis*. Ces levures ont une forme d'ellipse ou cylindrique ou allongée.

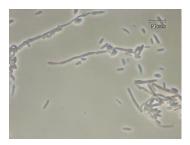


Figure N°8: Brettanomyces Lambicus vue au microscope optique; (www.answers.com)

On les observe fréquemment sous forme de pseudomicellium qui leur permet de flotter ce qui forme une pellicule à la surface de la bière en fermentation.



Figure N°9: suspension de Brettanomyces lambicus dans du lambic; (www.higgybeer.com)

Ces levures forment de l'acide acétique à partir du glucose en condition aérobie. De plus elles produisent plus d'alcool en condition aérobie qu'en condition anaérobie c'est l'inverse pour saccharomyces cerevisiae.

Les Brettanomyces possèdent des enzymes qui lui permettent d'utiliser des polymères de glucose plus gros que les trisaccharides qui peuvent être utilisés par *Saccharomyces cerevisiae*. Ces levures se développent plus lentement que *Saccharomyces cerevisiae*.

Les Brettanomyces catalysent la formation d'ester à partir d'alcool et d'acide acétique ou d'acide lactique, formant de l'acétate d'éthyle qui donne un goût fruité et du lactate d'éthyle. Ce sont les 2 esters les plus présents dans le lambic. Ces réactions chimiques font diminuer la concentration d'acide acétique et d'acide lactique dans le lambic.

Ces levures donnent aussi des arômes de « fumé » qui sont recherchés dans le lambic.

La fermentation du lambic est lente, complexe et singulière. Toute une microflore est utilisée pour fabriquer ce breuvage particulier et chacune des espèces présentes apporte en plus ou moins grande proportion sa signature organoleptique.

Le siège de la fermentation et de manière traditionnelle le fût de chêne qui apporte lui aussi des flaveurs particulières.

#### 2.2. Fermentation en Fût de chêne

Traditionnellement, la fermentation du lambic se fait dans des fûts de chêne. En effet, les tonneaux de chêne font partie intégrante du process de fabrication, ils donnent des arômes particuliers au lambic.

Les fûts de chêne employés ne sont pas de première jeunesse, ils ont déjà été utilisés pour la fermentation du vin avant d'être rachetés par les maitres brasseurs. Certains fûts ont contenu du Porto ou du Cognac ce qui donne des flaveurs différentes aux lambics. En général, les brasseurs utilisent des tonneaux de 600 litres environ qui sont situés dans les caves de la brasserie.



Figure N°10: fûts de 600L dans les caves de la brasserie « le Cantillon » ; (www.guide-biere.fr)

Faire fermenter le lambic dans des tonneaux plutôt quand dans des fermenteurs classiques en inox présente plusieurs avantages :

- Le bois des fûts possède une surface rugueuse et des anfractuosités qui permettent aux levures et aux bactéries de se fixer correctement et de se développer sur toute la paroi du tonneau.
- Quand la fermentation d'un lambic est terminée, on vide le fût et on le rince sans utiliser d'antiseptique. La microflore de fermentation fixée sur les parois reste donc dans le fût. Après un certains nombres de batch, le tonneau est constamment ensemencé par la bonne microflore de fermentation. Cette microflore est unique pour chaque fût, donc un lambic qui fermente dans un fût sera différent d'un lambic qui fermente dans un autre fût. Cette particularité donne un goût authentique car la microflore laisse dans les microvillosités du bois des composés aromatiques, une sorte de signature organoleptique du fût.
- Plus le tonneau vieilli, plus les tannins sont extraits par l'alcool, on peut donc dire en buvant un lambic, s'il a fermenté dans un fût jeune ou vieux.
- Les fûts de chêne sont perméables au gaz. (voir annexe 2 ; Wood, Plastic and the Role of O<sub>2</sub>) Durant la fermentation, il y a un échange de gaz à travers les parois du fût. De l'oxygène se dissout dans le moût en fermentation ce qui permet à certaines souches aérobies comme Brettanomyces lambicus et Brettanomyces bruxellensis de se développer. Du CO<sub>2</sub> s'échappe dans l'air, ce qui explique que le lambic ne pétille pas. Le degré de saturation en CO<sub>2</sub> du lambic est de 2g par litre maximum. La perméabilité de ce fermenteur permet la synthèse par les microorganismes d'arômes particuliers.

De nos jours, les brasseurs utilisent de moins en moins les tonneaux en chêne car leur entretien coûte cher. Les brasseurs se tournent vers l'inox qui est plus pratique et plus simple à nettoyer. Cependant, pour ne pas perdre l'astringence due aux tannins des tonneaux, ils mélangent des copeaux de chêne dans les fermenteurs pour développer les arômes et conserver l'astringence.

## IV. Evolution des dérivés du Lambic

#### 1. Les Gueuzes

La matière première a évoluée :

Les nouvelles Gueuzes sont faites avec des lambics qui ont fermenté et muri dans des fûts en inox, dans lesquels on a ajouté des copeaux de chêne pour ne pas perdre le goût typique mais pour s'affranchir de l'achat des fûts en chêne traditionnel et de l'entretien. En effet les fûts de chêne coûtent chers et l'entretien est fastidieux. Il y a quand même une perte de goût entre le fût de chêne et les fermenteurs en inox.

La Gueuze est le résultat d'un mélange d'un jeune lambic de plus ou moins six mois d'âge et d'un vieux lambic ayant mûri trois ans. C'est ce dernier qui donnera ce goût unique et les effluves spécifiques. Le résultat dépendra de l'artisan mélangeur. C'est le "coupage".

Ce lambic "coupé" est ensuite embouteillé. Les sucres et les ferments présents dans ce mélange provoqueront une seconde fermentation. Afin que cette fermentation se passe dans les meilleures conditions les bouteilles ne seront vendues qu'après une ou deux années de stockage. Lors de cette seconde fermentation il se développera du gaz carbonique et des alcools supérieurs. Contrairement à la méthode champenoise où l'on enlève le dépôt des levures par le procédé du « remuage » et du « dégorgement » La Gueuze conserve ses levures, on obtient donc une bière sur lie de couleur ambre pétillante et moussante. Ces Gueuzes peuvent se conserver en cave une vingtaine d'années. (http://home.scarlet.be)

On peut remarquer que le procédé de fabrication de la Gueuze, principal dérivé du lambic doit refermenter un à deux ans avant d'être vendu, ce qui implique une grosse immobilisation de capitaux et une gestion des stocks difficile.

En effet, les « nouveaux » coupeurs de Gueuze préfèrent éviter de faire la refermentation en bouteille qui dure plus d'un an. Ils font le plus souvent de la carbonatation forcée en injectant du CO<sub>2</sub> dans les bouteilles pour arriver à une saturation de la Gueuze à environ 5 à 7 g/L. On arrive ainsi à produire une Gueuze pétillante après quelques heures de carbonatation.

Les Gueuzes traditionnelles ont un dépôt de levure que l'on nomme la lie, ainsi on peut la différencier des nouvelles Gueuzes qui n'ont pas subit de refermentation en bouteilles. Le principal problème de la carbonatation forcée est que les levures ne refermentent pas et donc ne peuvent pas synthétiser des arômes supplémentaires. Il y a ici une perte de goût.

La pression importante développée par la refermentation en bouteille de la Gueuze pose problème. Seules les bouteilles à champagne résistent à une pression équivalente à deux ou trois fois la pression d'un pneu de voiture. Les brasseurs qui pratiquent la refermentation en bouteille, qui est la seule manière de faire de la Gueuze traditionnelle, achètent des bouteilles de champagne qui sont plus chères que les bouteilles classiques au verre plus fin.

On peut aussi différencier les Gueuzes traditionnelles et les nouvelles Gueuzes par le type de bouteille utilisée.

La traditionnelle est contenue dans une bouteille champenoise au verre épais, la nouvelle sera plutôt dans une bouteille à fond plat.

De plus le mode de fermeture de la bouteille à changé, on passe du bouchon de champagne trop coûteux à la capsule couronne pour la nouvelle Gueuze. (http://home.scarlet.be)

Le changement de goût des consommateurs.

Les Gueuzes et les Faros ont dus s'adapter au palais des nouveaux consommateurs qui préfèrent le sucré à l'acide en ajoutant des édulcorants pour masquer l'acidité du produit.

Des lois on été édictées pour protéger les bières de fermentation spontanée :

- La loi du 20 mai 1965 restreint l'usage des noms : lambic, Gueuze et Geuze aux bières de fermentation spontanée. –
- La loi du 17 juillet 1973 restreint l'usage des noms : lambic, Gueuze et Geuze aux bières ensemencées par les micro-organismes de l'air lors du refroidissement du moût dans une salle ventilée par de l'air non filtré.
- La loi du 29 mars 1974 stipule que ces bières doivent avoir une densité d'au moins 11 ° Plato, une certaine acidité et l'utilisation de 30% de blé dans la recette.
- La loi du 17 mars 1993 stipule que les Gueuzes ou Geuzes doivent contenir au moins 51% de lambic.

Suite à de nombreux abus, les producteurs de Gueuze ont obtenu une protection européenne: le label "Spécialité Traditionnelle Garantie". C'est ainsi que l'on ne trouve que des Gueuzes produites traditionnellement et composées uniquement de lambics brassés de manière traditionnelle sous l'appellation "Vieille Gueuze-Oud Gueuze" c'est le cas pour les brasseries :

- Cantillon
- Oud Beersel
- Boon etc...

### 2.Les « Kriek »

La Kriek est une bière belge fermentée avec des cerises acides aussi appelées cerises Morello. Les brasseurs utilisent traditionnellement les « Schaerbeek Krieken » ou « griottes » qui sont une variété de Morello belge qui pousse dans les environs de Bruxelles. Kriek est un mot Néerlandais pour désigner les « cerises acides ».

Comme les cerises de Schaerbeek sont devenues plus difficiles à trouver du fait d'un rendement à l'hectare faible d'une part, et d'autre part ces cerises ne sont pas très prisées à cause de leur acidité. C'est pourquoi certains brasseurs les ont remplacées, partiellement ou entièrement, par d'autres variétés de cerises acides.

Traditionnellement, la Kriek est fabriquée par des brasseries de Bruxelles et ses alentours et utilisant un lambic dans lequel les cerises sont ajoutées avec le noyau.



Figure N°11 : Ajout de griotte dans les tonneaux contenant du lambic ;

(http://home.scarlet.be/pajottenland/fr/payot/biere/Kriekf.ht m)

Les cerises massèrent pendant plusieurs mois, causant une refermentation grâce au sucre quelles contiennent. Il y a ensuite un processus de maturation qui dure de longs mois après que les cerises aient été retirées.

Plus récemment, les brasseurs de lambic ajoutent du sucre au produit fini, dans le but de le rendre moins acide et accessible à un plus grand public. Ils utilisent également du jus de cerise, plus que les fruits eux-mêmes, ce qui permet de diminuer le temps de maturation mais il y a une perte de goût car la peau et le noyau de la cerise apportent des flaveurs particulières.

# **Conclusion**

Le brassage du lambic est un brassage unique et particulier qui se trouve à mi- chemin entre l'infusion et la décoction. Cette méthode singulière typique de la région du Pajottenland permet d' extraire beaucoup de dextrines et d'acides aminés libres car le lambic, contrairement aux bières classiques, va fermenter plusieurs années et les levures et bactéries présentes ont besoin d'une source de carbone et d'azote en quantité suffisante pour leurs métabolismes.

L'ensemencement est à contre courant des produits standards ce qui rend chaque lambic différent. Le refroidissement à l'air libre permet un ensemencement naturel avec la microflore présente dans l'air de la brasserie. En effet environ 80 espèces de bactéries et de levures vont se succéder dans la fermentation du lambic ce qui lui apporte de nombreuses qualités organoleptiques ; alors que dans les bières classiques, il n'y a qu'un type de levure qui est pure et sélectionnée pour ses propriétés de floculation, résistance à l'alcool, productions d'alcools supérieurs etc.

Le lambic sert de base pour faire des bières d'assemblages, Il va être mélangé à d'autres lambics par des artisans que l'on nome les « coupeurs de Gueuze » pour faire de la Gueuze, du Faro et on peut y ajouter des cerises pour faire de la Kriek-Lambic.

Compte tenu de la durée de la fermentation et de la refermentation en bouteille, les brasseurs tendent soit, à arrêter la production du lambic, soit à réduire le temps de refermentation en bouteille en utilisant la carbonatation forcée en cuve en l'embouteillage en iso-barométrique pour ne pas attendre deux ans de refermentation.

Les vrais Gueuzes, Faro et Kriek tendent à disparaitre car ce sont des produits trop typés et qui ne conviennent plus à la clientèle qui préfère des produits plus sucrés.

Le lambic est donc singulier en tout point ce qui amène certains brasseurs et amateurs de bières à dire que « le lambic ce n'est pas de la bière, c'est du lambic » Dixit Lorenzo Dabove, critique italien et connaisseur de bières.

# **Bibliographie:**

- (1) Where the Wild Yeasts are; Dr. Roger Mussche
- (2) <u>A Liddil Lambic Lesson</u>: The Cult of the Biohazard Lambic Brewers;
   Jim Liddil (1996)
- (3) A white beer travels beer hunt in the pajottenland, belgium; John WHITE
- (4) <u>Microbiology and Biochemistry of the Natural Wort Fermentation in the Production of Lambic and Gueuze</u>; Van Oevelen (Dissertations de agricultura, 1978)
- (5) The lambic beers; Peter Van Osta

# Sitographie:

- www.lindemans.be
- www.guide-biere.fr
- http://bergsman.org
- www.worthington-biochem.com
- www.answers.com
- www.higgybeer.com
- www.wikipédia.fr
- www.bieresdumonde.oxatis.com
- http://home.scarlet.be
- http://www.didier-pol.net/2amidon.htm
- www.bieresetplaisirs.com

# Résumé:

Le brassage du lambic est un brassage particulier qui permet la production d'acides aminés libres et d'une grande quantité de dextrines en vue d'une longue fermentation qui peut durer 3 ans. L'ensemencement du lambic est naturel et environ 80 espèces de bactéries et de levures réalisent la fermentation et apportent au lambic son goût si particulier.

Le lambic sert de base pour la production des Gueuzes, du Faro et de la Kriek.

## **Summary:**

The brewing process of lambic is very special. It allow the production of free amino acids and dextrins for the long fermentation. After the boiling, the lambic spend one night in the cooling room and microorganisms fall into the cold wort and theses microorganisms start the fermentation.

Almost 80 species of yeasts and bateria can be found in the lambic.

The lambic is the raw material for the Gueuze, the Faro and the Kriek.

# **Mots Clés:**

Bière, Fermentation spontanée, Lambic, Faro, Kriek, Belgique.