

La maîtrise de l'oxydation en brasserie par un contrôle des matières premières et du procédé

Patrick BOIVIN, Directeur Scientifique d'IFBM – Institut Français des Boissons, de la Brasserie et de la Malterie

RÉSUMÉ

L'oxydation en brasserie a un impact important sur la qualité organoleptique de la bière et la conservation de son caractère « fraîcheur » au cours du stockage. Cette oxydation va être réduite en limitant l'entrée de l'oxygène à chaque étape du procédé, particulièrement dans les étapes où la lipoxygénase peut agir. Cependant le choix de la matière première, particulièrement le malt est important pour prévenir l'oxydation.

ABSTRACT

Oxidation in brewing has an important impact on organoleptic quality of beer and the freshness of beer during storage. This oxidation will be reduced by limiting the entry of oxygen at each step of process, particularly during the step where lipoxygenase could act. However, the choice of suitable raw materials particularly malt, is important to prevent oxidation.

Les grandes étapes de la transformation de l'orge en bière sont données à la figure 1.

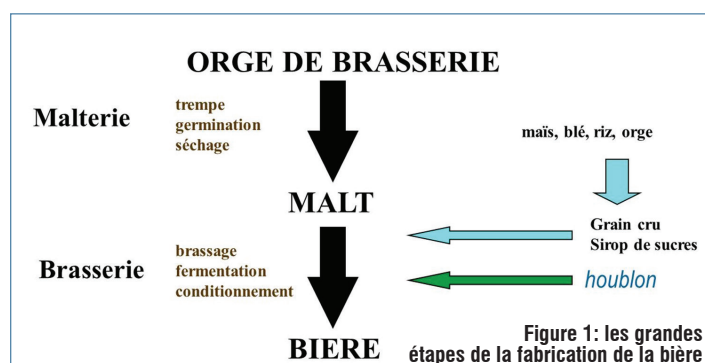


Figure 1: les grandes étapes de la fabrication de la bière

L'oxydation en brasserie a un impact important sur la qualité finale de la bière et sa stabilité au cours du stockage.

L'oxydation est impliquée dans

- 1 : la formation du trouble de la bière ;
- 2 : la réticulation des macromolécules (β -glucanes, protéines de haut poids moléculaires) qui peut causer des problèmes de filtration maiche et bière ;
- 3 : les faux goûts et instabilité organoleptique de la bière au cours du stockage.

Pour minimiser les problèmes d'oxydation en brasserie, différentes voies ont été proposées aux brasseurs.

- contrôle de l'entrée de l'oxygène aux différentes étapes du procédé et lors de l'embouteillage
- utilisation d'antioxydants exogènes comme les sulfites en sachant que le niveau à ne pas dépasser dans la bière finie est de 10mg/l pour ne pas le mettre sur l'étiquette ou de 20 mg/l en le mentionnant sur l'étiquette.
- modification du procédé de brassage:
- Construction de la salle à brasser pour minimiser l'entrée d'oxygène
- ligne d'embouteillage performante d'un point de vue entrée d'oxygène.

Le niveau d'oxygène en brasserie sauf lors de l'oxygénation du moût pour la fermentation doit être inférieur à 0.1 ppm. Cependant le choix des matières premières et particulièrement le malt qui est la matière première essentielle de la bière, est important pour éviter les problèmes d'oxydation en brasserie. Il est reconnu par les différents travaux et ceux menés par IFBM que l'oxydation enzymatique et non enzymatique se produisent au cours du maltage et du brassage. Il est aussi reconnu que les antioxydants du malt peuvent inhiber les réactions d'oxydation enzymatique et non enzymatique qui se produisent au cours du brassage. Malt contient des composés oxydables (polyphénols et acides gras insaturés comme l'acide linoléique) et des oxido-réductases (polyphénoloxidase, catalase, peroxydase, lipoxygénase, super-oxyde dismutase). L'action de ces enzymes peut provoquer ou empêcher des réactions qui vont avoir un impact négatif sur le procédé de fabrication ou la qualité de la bière finie. Les malts contiennent aussi des composés antioxydants (composés phénoliques et produits de la réaction de Maillard) qui peuvent inhiber les réactions d'oxydation enzymatiques et non enzymatiques qui se déroulent au cours de la fabrication de la bière (figure 2).

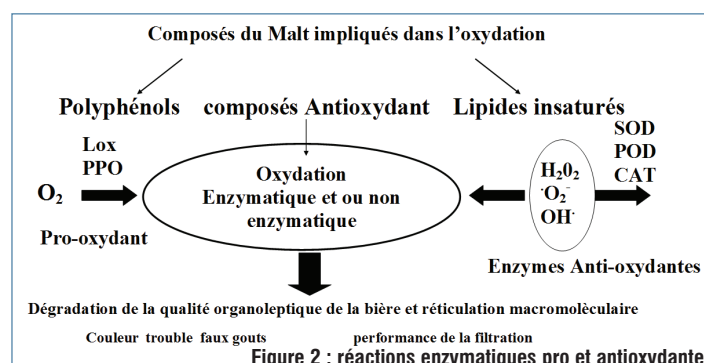


Figure 2 : réactions enzymatiques pro et antioxydante

Les enzymes pro-oxydantes sont les enzymes impliquées dans les réactions d'oxydation

- avec les acides gras insaturés: la lipoxygénase (lox linoleate : oxygen oxidoreductase, EC 1.13.11.12)
- avec les composés phénoliques: la polyphénoloxidase (PPO, E.C. 1.14.18.1)

Les enzymes antioxydantes sont les enzymes impliquées dans la protection des dégâts causés les radicaux d'oxygène libres produits par réaction enzymatique et non-enzymatique.

Ces enzymes sont :

- peroxidase (E.C. 1.11.1.7)
- super-oxyde dismutase (SOD, E.C. 1.15.1.1)
- catalase (E.C. 1.11.1.16)
- lipase (EC 3.1.1.3).

Les enzymes réagissent avec un substrat spécifique (acide linoléique pour la lipoxygénase) à température comprise entre 30 à 60°C, et pH de 4 to 8. Les enzymes endogènes du malt sont détruites à haute température (> 60°C). Les transformations par réactions enzymatiques sont plus rapide que les mêmes réactions chimiques. Dans la fabrication de la bière, les réactions enzymatiques vont se produire au cours du brassage.

Il a été démontré que l'oxydation des lipides qui se déroulait durant le brassage était la cause principale de l'oxydation de la bière. Le Trans-2-nonenal est le marqueur de la bière oxydée et donne un goût de papier carton à la bière.

OXIDATION DES LIPIDES

Orge contient de 2 à 4 % de lipide, dont 69% de triglycérides, 27% de lipide polaire, 2% de diglycéride et 2% of acide gras libres. L'acide gras majoritaire dans l'orge est l'acide linoléique qui représente 50% des acides gras libres.

Les enzymes "pro-oxydantes" impliquées dans la dégradation des lipides sont :

- la lipase qui va libérer les acides gras libres des lipides
- la Lipoxygénase va oxyder l'acide linoléique en hydroperoxyde. Lox-2 va oxyder l'acide linoléique en 13-hydroperoxyde, par contre la Lox-1 va oxyder l'acide linoléique en 9-hydroperoxyde, précurseur du trans-2-nonenal (figure3).

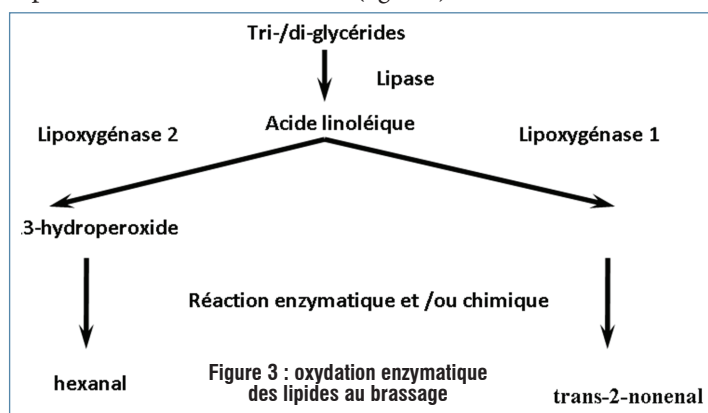


Figure 3 : oxydation enzymatique des lipides au brassage

- l'hydroperoxyde lyase et l'hydroperoxyde isomerase qui vont décomposer les hydroperoxydes en composés volatiles responsable de faux goût.

Ces enzymes sont présentes dans l'orge ou synthétisées au cours du maltage.

LIPASE

La lipase agit sur la liaison ester entre l'acide et le glycérol des triglycérides et diglycérides. et va libérer l'acide gras. L'activité lipasique est faible dans l'orge et augmente fortement lors de la germination. L'activité lipasique du malt va dépendre de la variété d'orge et du procédé de maltage. Durant le maltage, la composition en lipide change peu avec une faible augmentation en acide gras libre. Durant le brassage, il y a une forte augmentation des acides gras libres. Ceci suppose que la lipase agit au cours du brassage libérant de l'acide linoléique, substrat de la lipoxygénase.

Aujourd'hui pour la sélection des orges de brasserie, on ne prend pas en considération l'activité lipasique et les brasseurs ne l'ont pas inclus dans leur cahier des charges.

LYPOXYGÉNASE

La Lipoxygénase (Lox) catalyse l'oxydation des acides gras libres insaturés en hydroperoxydes, Dans l'orge le principal acide gras libre est l'acide linoléique (C18: 2). Cette oxydation est stéréo- et régio-spécifique. De l'hydroperoxyde 9S- ou 13-S sont formés à partir de l'acide linoléique. La lipoxygénase peut aussi être impliquée dans la formation oxydative de ponts disulfure entre des protéines riche en thiols donnant une réticulation macromoléculaire avec possibilité d'altérer la filtration de la maische et la bière.

Deux isoformes de lipoxygénase, Lox 1 et Lox 2, sont présentes dans l'orge. La Lox 2 convertit l'acide linoléique en 13-hydroperoxyde et la Lox 1 en 9-hydroperoxyde, précurseur du trans-2-nonenal.

L'orge contient principalement de la Lox 1 et lors de la germination les 2 isoformes sont synthétisées. La Lox 1 est la principale forme dans l'orge en de fin germination. L'activité lipoxygénasique décroît fortement au cours du touraillage. 60% à 80% est détruite lors d'un touraillage conduisant à la production d'un malt clair (dernier palier à 85°C). Dans le malt fini, la Lox1 représente 80 à 90% de l'activité globale lipoxygénasique. La lipogénase 1 est détruite plus rapidement à pH acide (pH < 5). Ceci peut être un moyen pour le malteur pour produire un malt à faible activité lipoxygénasique. Les orges de printemps ont généralement une activité lipoxygénasique plus élevée que les orges d'hiver. Le lieu de production de l'orge à un faible impact sur l'activité lipoxygénasique. L'activité lipoxygénasique du malt va dépendre de la variété d'orge et du procédé de maltage, particulièrement du touraillage en respectant un temps suffisant à 85°C. L'activité lipoxygénasique va agir au premier palier de brassage, à 50-55°C (palier protéolytique) et peu au palier amylolytique (62-64°C) (figure 4).

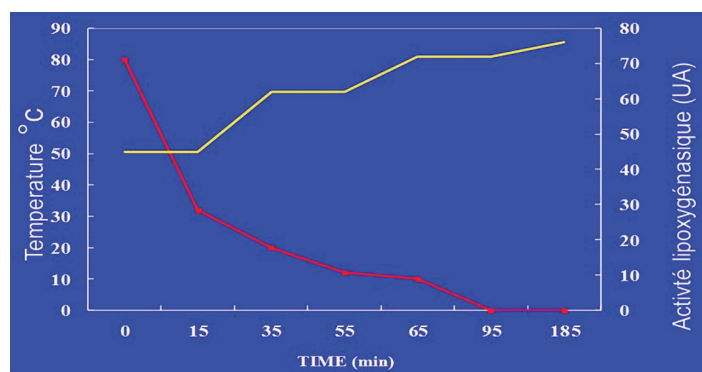


Figure 4 : Activité lipoxygénasique au brassage

Plus la lipoxygénase agira au brassage, plus on formera du trans-2-nonenal qui se complexera avec des acides aminés ou des protéines via une base de Schiff. Ces composés se retrouveront dans la bière avec une libération du trans-2-nonenal au cours du stockage. Plus on formera de trans-2-nonenal au cours du brassage, plus la bière en contiendra et sera plus rapidement oxydée.

Il est important pour le brasseur de limiter l'action de la lipoxygénase au brassage pour produire une bière qui ne s'oxydera pas rapidement au cours du stockage.

Pour limiter l'action de la lipoxygénase, le brasseur doit :

- utiliser un malt avec une faible activité lipoxygénasique (< 30 nkat)
- limiter l'entrée d'oxygène (qui réagit avec la lipoxygénase) au brassage en utilisant de l'eau désaérée, en brassant sous azote ou CO2, en entrant la maische par le dessous de la cuve et en agitant doucement. Ces améliorations permettent de descendre le niveau d'oxygène dissous de 5 à 0.5 ppm.
- éviter le palier protéolytique en empaquant directement à 60-62°C pour inactiver la lipoxygénase
- abaisser le pH de la maische à 5.2-5.4 pour favoriser l'inactivation thermique la lipoxygénase.

IFBM a montré que la Lox 1 peut être inactivée par les polyphénols endogènes du malt (tableau 1).

Compounds 1 mg/ml	LoxI (% of inhibition)
(+)-catechin	32.2
(-)-epicatechin	24.8
(-)-epigallocatechin	51.5
Procyanidin B3	46.8
Prodelphinidin B3	52.3
Procyanidin C2	65.4

Tableau 1 : Inhibition de la lipoxygénase 1 par les polyphénols.

Un autre moyen pour limiter l'action de la lipoxygénase au brassage est d'utiliser des malts riche en polyphénols.

La lipoxygénase 1 de l'orge joue un rôle central dans l'oxydation de la bière. Réduire ou éliminer cette enzyme dans l'orge est une voie pour améliorer la stabilité organoleptique de la bière. Des variétés d'orge non OGM avec une très faible activité lox) ou sans lox 1 (orge Null-Lox 1) ont été développées. Le brassage avec du malt Null-lox1 a permis de réduire considérablement le niveau de trans-2-nonénel dans la bière (-50%). Ces variétés brevetées par Heineken et Carlsberg sont actuellement cultivées en France et représentent près 5 % des emblavements en orge de brasserie. D'autres variétés accessibles à l'ensemble des brasseurs internationaux sont en cours de développement.

HYDROPEROXYDE LYASE

La Lipoxygénase 1 produit du 9-hydroperoxyde durant le brassage. Des études récentes ont montré que l'Hydroperoxyde lyase était impliquée dans la formation du trans-2-nonénel par le clivage du 9-hydroperoxyde. Il a été montré qu'un malt avec une faible activité hydroperoxyde lyase produisait une faible quantité de trans-2-nonénel dans la bière.

Cette enzyme clé dans la production de trans-2-nonénel dans la bière pourrait être utilisée pour sélectionner des orges à faible potentiel et ainsi produire un malt qui donnerait des bières faiblement oxydées. Des orges à faible ou sans activité Hydroperoxyde lyase qui seraient une autre voie pour produire des bières à faible teneur en trans-2-nonénel ne sont pas encore commercialement disponibles.

OXIDATION DES COMPOSÉS PHÉNOLIQUES

Polyphénoloxidase

La Polyphénol oxidase (PPO) catalyse l'oxydation des composés polyphénoliques en présence d'oxygène en quinone qui est un composé très réactif. La Polyphénol oxydase est responsable du brunissement des fruits et végétaux

En brasserie, les composés phénoliques provenant de l'orge peuvent être oxydés par le polyphénol oxidase en quinone qui conduirait à la polymérisation des composés phénoliques avec le brunissement du moût et altération de la qualité de la bière.

L'activité polyphénol oxydase est très faible dans l'orge (1nkat.g-1), diminue au cours de la germination et disparaît totalement au cours du touraillage. La polyphénol oxydase n'agit pas au cours du brassage.

ENZYMES ANTI-OXYDANTES

Les enzymes "antioxydantes" (Peroxidase, Super-oxyde dismutase et Catalase), qui sont présentes dans l'orge vont avoir leur activité qui va augmenter fortement au cours du maltage. La catalase peut agir au brassage au palier protéolytique en éliminant les H₂O₂ et ainsi limiter les réactions d'oxydation et améliorer la stabilité organoleptique de la bière. Son activité est multipliée par 10 au cours du maltage. L'activité du malt varie en fonction des activités de 100 à 200 µkat.g-1. La catalase n'est pas prise en compte dans la sélection des variétés d'orge de brasserie.

La super oxyde dismutase qui catalyse la conversion des ions superoxydes en peroxyde et oxygène agit uniquement au palier protéolytique et est rapidement détruite aux températures supérieures. Due à sa thermo sensibilité son action est faible en brasserie.

L'utilisation de la superoxyde dismutase d'orge germée a été brevetée et est incorporée dans les crèmes à activité antioxydante.

COMPOSÉS ANTIOXYDANTS

Composés phénoliques

L'orge contient 100 à 400 mg/kg de composés phénoliques, avec 80% de flavanols. Parmi les flavanols, les composés les plus abondants sont la procyanidine B3, prodelphinidine B3 et la catéchine. Les composés phénoliques de l'orge survivent partiellement durant le maltage. Ces composés qui vont ensuite se retrouver dans la bière participent à la qualité de la bière (couleur, brillance, astringence, amertume et goût). 75 à 85 % des composés du moût et de la bière proviennent du malt, le reste du houblon. L'activité antioxydante des polyphénols a été testée par différentes méthodes à IFBM. Toutes ces méthodes ont montré clairement que les composés phénoliques du malt et du houblon ont une activité antioxydante. Les composés avec la plus forte activité étaient la procyanidine B3, la prodelphinidine B3 et la catéchine composés à fortes concentrations dans le malt. Nos résultats ont montré que les variétés d'hiver avaient généralement une concentration plus importante en polyphénol et une activité antioxydante plus élevée que les variétés de printemps. En brasserie, les composés phénoliques à forte activité antioxydante sont également impliqués dans le trouble de la bière par association avec des protéines riches en proline. Cette implication dans la formation du trouble avait amené les brasseurs à choisir des orges à faible teneur en polyphénols et à utiliser de la PVPP (absorbant de polyphénols) pour stabiliser la bière. L'action positive des polyphénols (antioxydant) sur l'oxydation de la bière et leur image positive ont conduit les brasseurs à optimiser leur concentration dans la bière en choisissant des variétés d'orge de brasserie plus riches et en utilisant le gel de silice (qui va éliminer les protéines responsables du trouble) au lieu de la PVPP.

Produits de la Réaction de Maillard

Malt contient d'autres composés antioxydants que les polyphénols tels que les Produits de la Réaction de Maillard (PRM). Ces antioxydants sont produits durant le touraillage du malt. Les PRM ne sont pas faciles à déterminer et quantifier. Nous avons développé une méthode globale pour quantifier leur pouvoir antioxydant et montré qu'il y avait une augmentation de l'activité antioxydante durant le touraillage et principalement à la dernière phase (à 80-85°C). Nous avons également montré que ces composés produits au cours du touraillage pouvaient inhiber l'activité lipoxygénasique. L'activité antioxydante du malt provenant des PRM était dépendante du cycle du touraillage du malt et de la variété d'orge.

CONCLUSION

En conclusion l'oxydation en brasserie a un impact important sur la stabilité organoleptique de la bière et la conservation de son caractère "fraîcheur" au cours du stockage. L'oxydation peut être réduite particulièrement dans la partie chaude du procédé de la brasserie, de la mouture au refroidissement du moût où intervient l'oxydation enzymatique et non enzymatique. La réduction de l'oxydation intervient par la réduction de l'entrée de l'oxygène à chaque étape. Cependant le choix du malt avec une faible activité pro-oxydante (Lox1) et une forte activité antioxydante (concentration en polyphénols) peut significativement réduire l'oxydation et ainsi la formation du trans-2-nonénel. Ce malt est obtenu par le choix de l'orge de brasserie et du procédé de maltage. Il y a eu récemment l'introduction d'orge de brasserie null lox qui a permis de réduire de moitié la concentration de trans-2-nonénel dans la bière et ainsi améliorer significativement la « fraîcheur » de la bière lors du stockage qui est un élément important d'appréciation de la bière par le consommateur. Cette maîtrise de l'oxydation durant la partie chaude de la brasserie doit s'accompagner, sauf lors de l'oxygénation du moût avant la fermentation, d'une maîtrise de l'entrée de l'oxygène à chaque étape (transfert de bière, embouteillage) pour arriver à une concentration en oxygène dans la bière à des teneurs inférieures à 0.1 ppm. ■