

Libération de nonénal deutéré par voie non oxydative à partir de précurseurs créés en chaudière d'ébullition

Sonia Collin, Catherine Liégeois, Sophie Noël, Guillaume Lermuséau
 Université Catholique de Louvain, Unité de Brasserie et des Industries Alimentaires, Place Croix du sud 2/Bte 7, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium

Descripteurs

Acide aminé, acide linoléique, cuisson du moût, formation du goût d'éventé, nonénal-2, précurseur

RESUME

L'ajout de nonénal deutéré en fermentation a permis de démontrer que l'arôme de carton ne provient pas de l'oxydation du nonénol ou de la dégradation de complexes sulfiteux. Nous proposons un mécanisme non oxydatif de libération de trans-2-nonénal au cours du vieillissement. Le trans-2-nonénal fibre créé par autooxydation à l'ébullition disparaît par rétention aux acides aminés et protéines du moût. L'imine ainsi formée protège l'alcénal de la réduction levurienne et le relibère au pH de la bière. Du nonénal marqué est ainsi détecté après vieillissement lorsque des précurseurs deutérés sont créés à l'ébullition. Les teneurs mesurées sont proportionnelles à la concentration en imine dans le moût clarifié froid.

How labelled precursors synthesized in the kettle can release deuterated nonenal by a non-oxidative pathway during beer storage

Descriptores

Amino acid, linoleic acid, 2-nonenal, precursor, staling, wort boiling

SUMMARY

As shown by adding deuterated nonenal to the pitching wort, nonenol oxidation and sulfite adduct degradation are inefficient pathways of trans-2-nonenal synthesis in the bottled beer. A non-oxidative mechanism is here proposed. Free trans-2-nonenal issued from linoleic acid autooxidation in the kettle disappears due to retention by wort amino acids and proteins. The so-obtained imine protects trans-2-nonenal from yeast reduction but can release it at lower pH during aging. Labelled nonenal is detected after aging when deuterated precursors are synthesized in the kettle. The amount of released alcenal is correlated with the concentration of imines in the pitching wort.

The predominant compounds are presented in Table 3. Positive correlations are found for isobutanol, 3-methylbutanal, (E)-2-butenal, (E)-2-nonenal, 2-furfural, and 5-methyl-2-furfural. Similarly a set of compounds negatively correlating with the staling attributes was obtained of which 4 compounds were not identifiable at the time of the study. From this list isobutanol, 3-methylbutanal, hexanal, (E)-2-butenal and (E)-2-nonenal are predominantly related to thermal influences in the wort phase and oxygen pick-up in the beer phase (2,7-10).

Conclusions

From this study it becomes clear that only small changes in sensory (difference) scores occur during the first 6 months of storage in comparison to the period after 6 months. For the specific staling attributes however, already a distinct difference with fresh beer is noticeable after one month of storage. A similar result has also been described by Bright et al. (1). High and reproducible correlations are found for most sensory staling attributes and carbonyl compounds using PLS regression modelling in prediction. A group of compounds which correlates consistently with the staling attributes has been identified for this particular pilsener beer.

The selected research approach using PLS regression modelling of sensory and chemical changes in pilsener beer during standardized storage conditions may yield important and reproducible information concerning major correlations between analytical variables (carbonyl compounds) and sensory (staling) attributes for the development of a predictive staling tendency test for fresh beer.

REFERENCES

- Bright, D.R., Patino, H., Schroedl, D.T. & Nyarady, S.A., Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Oslo, 1993, 413-420.
- Eichhorn, P., Komori, T., Miedaner, H. & Narziß, L., Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Zurich, 1989, 717-724.
- Grönqvist, A., Siirilä, J., Virtanen, H., Home, S. & Pajunen, E., Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Oslo, 1993, 421-428.
- Haaland, D.M. & Thomas, E.V., Analytical Chemistry, 1988, 60, 1193-1202.
- Harayama, K., Hayase, F. & Kato, H., Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 1994, 58, 1595-1598.
- Hoskuldsson, A., Journal of Chemometrics, 1988, 2, 211-228.
- Lustig, S., Miedaner, H., Narziß, L. & Back, W., Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Oslo, 1993, 445-452.
- Miedaner, H., Narziß, L. & Eichhorn, P., Proceedings of the European Brewery Convention Congress, Lisbon, 1991, 401-408.
- Narziß, L., Miedaner, H., Graf, H., Eichhorn, P. & Lustig, S., Technical Quarterly of Master Brewers Association of the Americas, 1993, 30, 48-53.
- Narziß, L., Miedaner, H. & Eichhorn, P., Monatsschrift für Brauwissenschaft, 1999, 52, 49-57.
- Ojala, M., Kotiaho, T., Siirilä, J., & Sihvonen, M.-L., Talanta, 1994, 41, 1297-1309.
- Schieberle, P., Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung, 1991, 193, 558-565.
- Vogels, J.T.W.E., Tas, A.C., Venekamp, J. & Greef, J. van der, Journal of Chemometrics, 1996, 10, 425-438.

Wie können markierte Vorstufen, die beim Würzekochen synthetisiert werden, Nonenal in einem nichtoxidativen Stoffwechsel während der Bierlagerung freisetzen?

Deskriptoren

Altgeschmacksbildung, Aminosäure, Linolsäure, Nonenal-2, Precursor, Würzekochen

ZUSAMMENFASSUNG

Wie sich bei der Zugabe von markiertem Nonenal zur Anstellwürze zeigte, sind die Nonenoxidation und der sulfidische Adduktabbau ineffiziente Stoffwechselwege für eine Trans-2-Nonenal-Synthese im abgefüllten Bier. Wir stellen einen nichtoxidativen Mechanismus vor. Freies Trans-2-Nonenal aus der Linolensäure-Autoxidation beim Würzekochen wird durch Würzeamino-säuren und Proteine zurückgehalten und verschwindet deshalb. Das so erhaltene Imin schützt Trans-2-Nonenal vor einer Reduktion durch die Hefe, kann es aber bei niedrigeren pH-Werten während der Lagerung freisetzen. Markiertes Nonenal ist nach der Alterung bestimmbar, wenn markierte Precursor in der Pfanne gebildet werden. Die Menge an freigesetzten Alkenalen wurde mit der Konzentration an Iminen in der Anstellwürze korreliert

INTRODUCTION

Un meilleur contrôle du vieillissement de la bière reste sans conteste une des priorités de la recherche brassicole.

Au dernier congrès de l'EBC à Maastricht, nous avions montré que l'oxydation des lipides de la bière finie ne pouvait être à l'origine de l'arôme de carton qui s'y développe au cours de son stockage¹. Nous avions, en effet, remarqué que des quantités importantes d'oxygène injectées dans le col de la bouteille avant vieillissement ne menaient pas à plus de trans-2-nonénal dans la bière vieillie. Par ailleurs, aucune incorporation d'oxygène isotope 18 n'était détectée par bombardement protonique dans les alcénals lorsque le vieillissement était mené en présence d'oxygène marqué.

Nous avons par ailleurs montré qu'après avoir ajouté dans le moût, en début de fermentation, du trans-2-nonénal marqué au deutérium, seul du trans-2-nonénal non marqué était détecté dans la bière vieillie². Nous confirmons de la sorte que l'arôme de carton des bières vieilles n'apparaît, ni par oxydation du nonénol excrété par la levure, ni par libération du nonénal au départ de complexes sulfidiques.

Puisque le trans-2-nonénal n'est pas créé par voie oxydative dans la bière finie, nous devons rechercher ses précurseurs en amont du processus de fabrication. Ceux-ci se devront, bien sûr, d'être résistants à l'activité réductrice de la levure et, par contre, instables au pH de la bière.

Pour rappel, les alcénals sont principalement créés par oxydation des acides gras insaturés,

-par voie enzymatique au brassage, par le biais de la lipoxigénase,

-par voie chimique, aux étapes chaudes de la fabrication.

Le trans-2-nonénal est par ailleurs dégradé selon 3 voies³:

-une hydratation en 3-hydroxy-nonanal,

-une oxydation en acide nonénoïque,

-une voie majeure par laquelle l'aldéhyde se fixe aux matières azotées du moût.

Au pH du moût, les résidus lysine des protéines peuvent former des imines ou des additions 1,4 de Michael avec le trans-2-nonénal issu de l'oxydation des lipides. La spectrométrie de masse avec ionisation en électrospray a permis de confirmer la présence d'une association de haut poids moléculaire entre la lysine et le trans-2-nonénal (Figure 1).

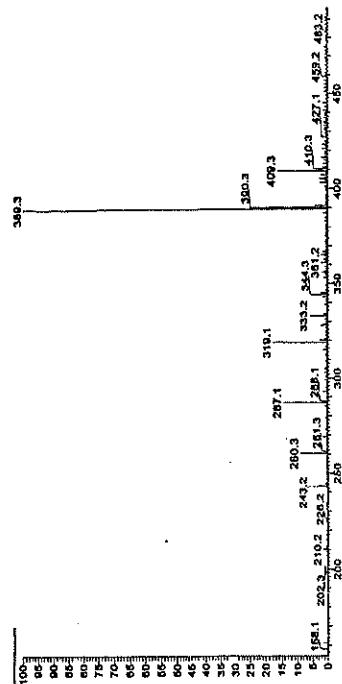


Figure 1. Spectre de masse (EI) de l'association lysine/trans-2-nonénal (1:2).

Ces interactions peu favorables en milieu aqueux pourront encore être stabilisées par des interactions hydrophobes avec d'autres résidus de la protéine. La levure ne sera pas capable de dégrader la structure ainsi formée. Au pH plus acide de la bière, par contre, l'alcénal pourra être relibéré. La présence de sulfites dans le produit fini permettra néanmoins de masquer l'arôme de carton.

La mesure du nonenal potentiel, telle que proposée par Drost¹, consistant à mimer un vieillissement de la bière, et ce en acidifiant un moût avant de le traiter thermiquement, s'est avérée être une simple dégradation des associations réversibles matières azotées-nonénal¹. En effet, après avoir lié, dans un milieu modèle, 60% du trans-2-nonénal aux albumines du malt, la manipulation de Drost a permis de relibérer 50% des associations alcénal/protéines.

Dans le présent travail, nous avons tenté de définir à quel moment étaient principalement créés les précurseurs du vieillissement (brassage ou ébullition). Par ailleurs, des stratégies concrètes ont été proposées pour améliorer la stabilité organoleptique de la bière.

RESULTATS

Identification des précurseurs du vieillissement

Du nonénal deutéré a été synthétisé de manière à pouvoir l'ajouter au brassage comme s'il était issu de l'action de la lipoxigénase sur un acide linoléique marqué. Nous avons pris soin de le marquer au deutérium uniquement au niveau de l'extrémité de la chaîne de l'alcénal de manière à ne pas modifier sa réactivité⁶ (Figure 2). Après avoir transformé le butanol deutéré commercial en réactif de Grignard, nous avons ajouté de l'oxétane pour obtenir l'heptanol deutéré. Son oxydation, suivie d'une réaction de Wittig même ainsi au trans-2-nonénal deutéré.

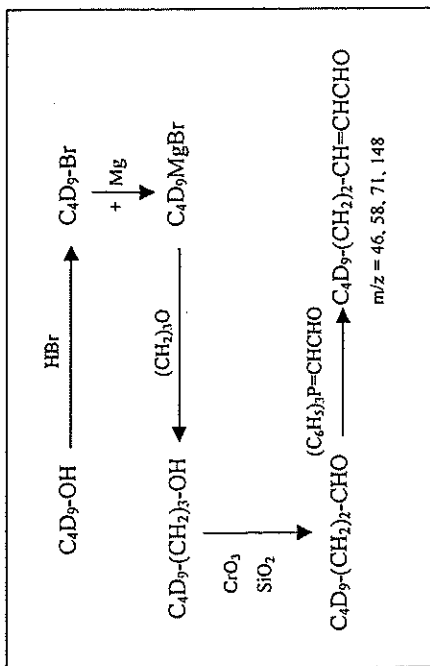


Figure 2. Synthèse de trans-2-nonénal deutéré à partir de butanol deutéré.

Le trans-2-nonénal deutéré se caractérise par un indice de Kovats sur colonne apolaire plus faible de 7 unités comparativement au produit non marqué. Le dosage en spectrométrie de masse des ions 46, 58, 71 et 148 permet de suivre aisément le trans-2-nonénal marqué tout au long de la production.

Lorsque 1.5 ppm de trans-2-nonénal marqué sont ajoutés après 45 minutes de brassage, aucune trace de trans-2-nonénal marqué n'est détectée dans la bière fraîche ou vieillie. Par cette expérience, nous démontrons que ce n'est pas le trans-2-nonénal créé par la lipoxigénase qui est à l'origine du vieillissement. Ce trans-2-nonénal se lie pourtant aux matières azotées du moût. En effet, en réitérant le même type d'expérience, mais en prélevant cette fois des échantillons en cours de fabrication, nous avons montré que des 100 ppb de trans-2-nonénal marqué ajoutés, seuls 2.7 ppb restaient liés de manière réversible aux protéines du moût filtré, une grande partie étant éliminée dans la drêche. De plus, de ces 2.7 ppb, seuls 0.2 ppb survivent dans le moût après ébullition. Le nonenal potentiel du moût bouilli est donc essentiellement créé à l'ébullition.

Pour vérifier cette hypothèse, nous avons ajouté 1.5 ppm de trans-2-nonénal deutéré après 40 minutes d'ébullition pour mimer, cette fois, une synthèse par autooxydation. Les liaisons aux matières azotées du moût ont ainsi pu se former durant les 35 dernières minutes d'ébullition et durant les 15 minutes de clarification du moût.

Comme attendu, nous avons créé en chaudière d'ébullition 15.5 ppb de liaisons réversibles aux matières azotées (Table 1). Une part significative du nonenal potentiel marqué survit jusque dans la bière fraîche. Ces 1.3 ppb jouent le rôle de précurseur de l'arôme de carton durant le vieillissement comme l'indiquent les teneurs en nonénal deutéré mesurées dans les bières ayant subi un traitement de 3 ou 5 jours à 40°C.

Table 1 : Evolution des teneurs en trans-2-nonénal et nonenal potentiel après ajout de 1.5 ppm de trans-2-nonénal deutéré après 40 minutes d'ébullition (d9-T2N et d9-NP = T2N et NP marqués).

ppb	T2N	d9-T2N	NP	d9-NP
Moût clarifié			4.3	15.5
Bière fraîche	0.2	0.2	1.6	1.3
3 jours 40°C	0.7	0.5		
5 jours 40°C	0.4	0.5		

Une seconde expérience corrobore l'hypothèse selon laquelle le trans-2-nonénal créé par autooxydation survit jusque dans la bière finie. Par des ajouts dosés de trans-2-nonénal à l'ébullition, nous avons créé des moûts avec des teneurs croissantes en nonenal potentiel. La Figure 3 montre clairement que les teneurs en trans-2-nonénal de la bière vieillie sont corrélées aux teneurs des associations nonénal-matières azotées dans le moût clarifié.

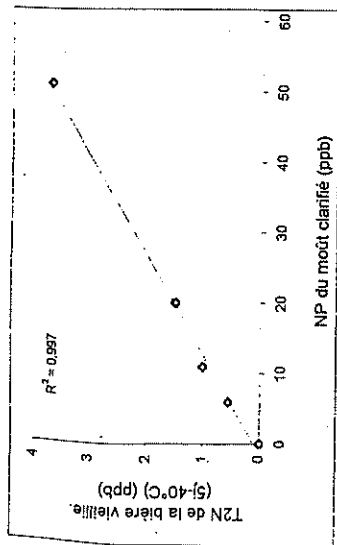


Figure 3 : Evolution des teneurs en trans-2-nonénal de la bière vieillie par rapport aux teneurs en nonénal potentiel du moût clarifié.

Stratégies à adopter

Vu la nature des précurseurs du vieillissement, nous pouvons envisager trois manières de réduire significativement leurs teneurs dans la bière :

- limiter l'autooxydation à l'ébullition et en clarification;
- réduire le taux d'associations réversibles alcénals/matières azotées;
- éliminer une partie des précurseurs dans le trub.

Limiter l'autooxydation du moût à l'ébullition et en clarification nécessitera beaucoup de savoir-faire dès le brassage. Une sélection des matières premières, un minimum d'ions de transition et un empâtage à l'abri de l'oxygène permettront bien sûr de renforcer le pouvoir réducteur du moût rentrant à l'ébullition.

Comme l'indique la Table 2, un malt possédant une activité lipoxygénasique anormalement élevée mènera à une oxydation enzymatique intense de l'acide linoléique au palier 45°C du brassage. Des teneurs plus élevées en nonénal potentiel seront logiquement mesurées dans le moût en fin de brassage : 10.8 contre 6.7 ppb.

Bien que les liens créés à ce niveau entre le trans-2-nonénal et les matières azotées ne résistent pas au traitement thermique de l'ébullition, nous mesurons quand même plus de nonénal potentiel dans le moût clarifié : 9.6 contre 7.8 ppb. De manière indirecte, la lipoxygénase a donc influencé le taux d'autooxydation du moût à l'ébullition.

Table 2 : Concentrations en trans-2-nonénal et nonénal potentiel du moût en fonction des activités lipoxygénasiques (Totale et LOX1) du malt.

LOX tot (<i>nkat/mg prol</i>)	LOX 1 (<i>nkat/mg prol</i>)	T2N fin palier 45°C (<i>ppb</i>)	NP fin brassage (<i>ppb</i>)	NP fin ébullition (<i>ppb</i>)
0.82	0.62	4.1	6.7	7.8
2.15	1.58	18.9	10.8	9.6

Comme l'indique la Table 3, un brassage à l'abri de l'oxygène permettra également de réduire les teneurs en précurseurs de l'arôme de carton. Le bullage de CO₂ en début de brassage améliore le pouvoir réducteur du moût de sorte que seuls 1.4 ppb de nonénal potentiel sont mesurés fin ébullition. La bière qui en résulte se caractérise par une stabilité organoleptique supérieure.

Table 3 : Teneurs en nonénal potentiel du moût et en trans-2-nonénal de la bière vieillie pour des brassages réalisés avec ou sans bullage au CO₂.

(ppb)	NP fin brassage	NP fin ébullition	T2N bière vieille (3 mois)
O ₂	3.9	3.3	1.0
CO ₂	0.3	1.4	0.3

L'addition de sulfites à l'ébullition permet non seulement de limiter l'autooxydation du moût mais réduit aussi le taux d'associations réversibles aux matières azotées. Après ajout de 50 ppm de sulfites dans le moût filtré, seuls 3.5 ppb de nonénal potentiel sont détectés avant fermentation, contre 5.1 ppb dans le témoin (Table 4). Des sulfites ont été ajoutés dans la bière fraîche témoin de manière à pouvoir comparer les teneurs en alcénals après vieillissement. Il ressort de cette expérience que la bière traitée vieillit beaucoup mieux. L'ajout d'antioxydants à l'ébullition n'a cependant un impact significatif que lorsque le moût n'a pas été suffisamment protégé de l'oxydation au brassage.

Table 4 : Concentrations en nonénal potentiel dans le moût bouilli et en trans-2-nonénal dans la bière vieillie en relation avec la concentration en sulfites ajoutés à l'ébullition.

échantillon	NP fin ébullition (<i>ppb</i>)	T2N bière vieillie (<i>ppb</i>)	SO ₂ fin ébullition (<i>ppm</i>)	SO ₂ Bière fraîche (<i>ppm</i>)	SO ₂ bière vieillie (<i>ppm</i>)
	<i>ppH 5.4</i>	<i>libre. total ppH 4.3</i>	<i>libre. total ppH 5.4</i>	<i>Libre. total ppH 4.3</i>	<i>libre. total ppH 4.3</i>
Témoin (+10ppm de SO ₂ dans la bière fraîche)	5.1	0.31	0.59	0.8	1.0
Ajout de 50 ppm de SO ₂ après filtration du moût	3.5	0.18	0.21	6.0	1.8
				10.0	6.3
				1.8	1.5
				4.3	4.4

Ceci nous montre à quel point il est important de pouvoir évaluer le pouvoir réducteur du moût en cours de production pour effectuer d'éventuelles corrections en chaudière d'ébullition. Un nombre impressionnant de méthodes de dosage de ce pouvoir réducteur ont été proposées dans la littérature. Parmi les méthodes colorimétriques, nous pouvons citer le test de Kaneda et coll.⁴ où l'on mesure la chute d'absorbance à 525 nm du radical diphenyl picryl hydrazyl. L'indicateur time test modifié par De Clerck et Vancauwenberge mesure la décoloration d'un autre réactif, le 2,6 dichlorophénol indophénol après différents temps de réaction. Dans le protocole proposé récemment par Bright et coll.¹, le pouvoir réducteur des mélanoidines

1/AOXP est évalué par dosage colorimétrique à 666 nm du bleu de méthylène créé en présence de réactions de Fenton. D'autres protocoles proposent la mesure de produits formés ou rayonnement émis après une oxydation forcée des lipides du milieu. La résonance paramagnétique électronique en spin trapping, dosant les radicaux hydroxyyles produits, de même que la chemiluminescence, apportent des données extrêmement intéressantes quant au pouvoir réducteur du moût. Il s'agit hélas de méthodes lourdes et coûteuses, ce qui nous a amené à proposer un nouveau test, permettant d'évaluer facilement un temps d'inhibition de l'oxydation des lipides du moût, induite dans ce cas par l'azobis (2-amidinopropane)⁶. Le pouvoir réducteur mesuré est fonction de la méthode utilisée, certaines substances pouvant se révéler pro-oxydantes (exemple : acide ascorbique) dans certains tests mais antioxydantes dans d'autres.

Nous pouvons encore envisager d'améliorer la stabilité organoleptique de la bière en éliminant un maximum de précurseurs dans la cassure à chaud. Comme l'indique la Table 5, un même moût, fortement oxydé au brassage, peut mener à des bières extrêmement différentes sur le plan de la stabilité organoleptique. Une bonne cassure à chaud permet de réduire la quantité de précurseurs rentrant en fermentation : 3.3 contre 5.1 ppb, ceci réduisant significativement les dégâts dans le produit fini.

Table 5 : Nonenal potentiel du moût et trans-2-nonénal dans la bière vieillie en fonction de la qualité de la cassure à chaud.

ppb	NP fin ébullition	T2N 5 jours à 40°C	T2N 3 mois à 20°C
Bonne cassure à chaud	3.3	0.4	1.0
Mauvaise cassure à chaud	5.1	0.6	2.7

La qualité de la cassure à chaud peut encore être artificiellement améliorée par l'ajout de caséinate de potassium dans le milieu (Table 6). Cette protéine riche en résidus lysine permet non seulement la création d'associations matières azotées/nonénal insolubles mais favorise aussi le dépôt des liaisons formées avec les protéines endogènes du moût. Enfin, le caséinate présente l'avantage de piéger les métaux de transition, limitant ainsi les réactions de Fenton à l'origine de l'autooxydation.

Table 6 : Concentrations en trans-2-nonénal de la bière vieillie en fonction de l'ajout de caséinate au début de l'ébullition.

ppb	T2N 5 jours à 40°C
0 g/hl	0.33
60 g/hl	0.15

CONCLUSIONS

Bien que les précurseurs du trans-2-nonénal soient créés à l'ébullition, des précautions devront être prises dès le choix des matières premières (Figure 4). L'activité lipoxygénase du malt ne donnera qu'une information partielle quant au pouvoir réducteur du malt, celui-ci étant plus judicieusement évalué par un test global. La qualité de l'eau ainsi que le taux d'oxygène à l'empâtage et au brassage influenceront également le pouvoir réducteur du moût entrant à l'ébullition.

La conduite de l'ébullition ainsi que la qualité du houblon pourront encore modifier le taux d'autooxydation des lipides. Quel que soit le degré d'oxydation du moût, la cassure à chaud permettra d'éliminer une part importante des précurseurs du vieillissement. La durée de clarification doit cependant être la plus courte possible afin d'éviter une nouvelle autooxydation.

L'utilisation d'antioxydants à l'ébullition s'est avérée intéressante lorsque l'on est en présence d'un moût relativement oxydé. La caséine permet quant à elle de réduire la solubilité des précurseurs du vieillissement.

Enfin, le pH de la bière définira le taux de dissociation des complexes matières azotées/nonénal.

Die Hydroxyfettsäuren in Würze und Bier

G. Möller-Hergt¹, K. Wackerbauer², R. Tressl², L.-A. Garbe²,
C. Zufall²

¹Warsteiner Brauerei Haus Cramer GmbH & Co KG, Warstein, Germany

²Technische Universität Berlin, Berlin, Germany

Descriptores

Altgeschmacksbildung, Carbonylverbindung, Fettsäure, Geschmacksstabilität, Hydroxysäure

ZUSAMMENFASSUNG

Eingehende Studien der letzten Jahre zeigten, daß die Aldehydaldehyde mit grosser Wahrscheinlichkeit ausschliesslich aus dem oxidativen Fettsäurenabbau stammen. Damit stellen die Hydroxysäuren den wichtigsten Vorläufer dieser Verbindungen und somit den Schlüssel zu einer wesentlichen Verbesserung der Geschmacksstabilität des Bieres dar. Eine genaue qualitative Analytik und die Bestimmung der verschiedenen Hydroxysäuren in den einzelnen Prozessstufen der Würze- und Bierherstellung werden in dieser Arbeit anhand von großtechnischen Versuchen im 20 t-Maßstab beschrieben. Das Verhalten der verschiedenen Hydroxyfettsäuren während der gesamten Produktion und Lagerung des Bieres wird analysiert und einige technologische Maßnahmen zur Beeinflussung untersucht.

Hydroxy fatty acids in wort and beer

Descriptors

Carbonyl compound, fatty acid, hydroxy acid, staling, taste stability

SUMMARY

Extensive studies in recent years have shown into near certainty that ageing aldehydes come exclusively from oxidative fatty acid breakdown. Thus the hydroxy acids, as the most important precursors of these connections, are a key to improving beer flavour stability. With big technical tests on a scale of 20 tons the exact quality analysis and the determination of the different hydroxy acids were described in single steps during the production of wort and beer. The fate of the different hydroxy fatty acids has been analyzed during the entire process of production and storage. Furthermore some technical measures for influencing this behaviour have been investigated.

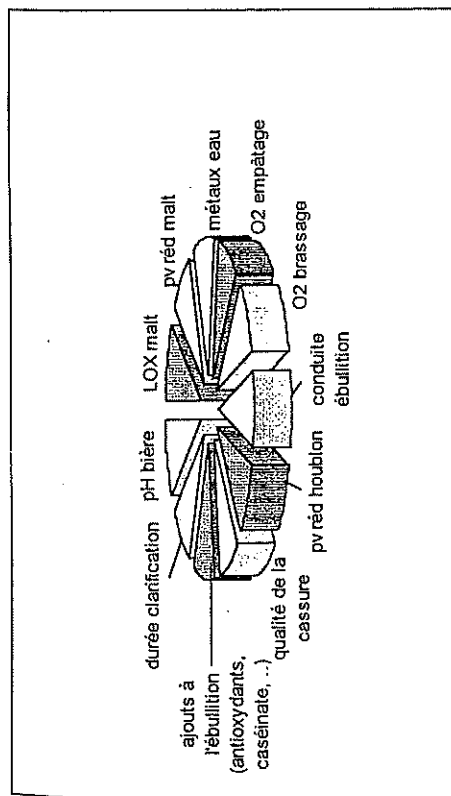


Figure 4 : Paramètres déterminants pour le contrôle du vieillissement de la bière.

REFERENCES

- Bright D., Stewart G.G. et Patino H., ASBC Newsletter (1998), 58, 24.
- Collin S., Noël S., Bonte S., Metais N., Bodart E., Peladan F. et Dupire S., Proceedings of the European Brewery Convention Congress (1997), Maastricht, 535-544.
- Drost B.W., van den Berg R., Freijee F.J.M., Van der Velde E.G. et Hollemans M., J. Am. Soc. Brew. Chem. (1990), 48, 124-131.
- Kaneda H., Kobayashi N., Furusho S., Sahara H. et Koshino S., MBAA Technical Quarterly (1995), 32, 90-94.
- Lermusseau G., Noël S., Liégeois C. et Collin S., J. Am. Soc. Brew. Chem. (1999), 57, 29-33.
- Liégeois C., Lermusseau G. et Collin S., Proceedings of the European Brewery Convention Congress (1999), Cannes.
- Noël S. et Collin S., Proceedings of the European Brewery Convention Congress (1995), Bruxelles, 267-274.
- Noël S., Liégeois C., Lermusseau G., Bodart E., Badot C. et Collin S., (1999), submitted.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient les sociétés Tépral (Strasbourg, France) et Interbrew (Leuven, Belgique) pour leur soutien financier.