

Influence de la composition en hétérocycles azotés de malts spéciaux sur le profil aromatique de la bière

Marie-France Herent, Cédric Vanthourhout, Laurence Gijs & Sonia Collin

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

Arôme de la bière, composé hétérocyclique, formation de la flaveur, malt caramel, pyrazine, thiazole

RESUME

Les malts caramels sont utilisés dans la production de bières spéciales auxquelles ils confèrent une coloration et un arôme caractéristiques. Ce dernier est essentiellement apporté par des hétérocycles azotés tels que les dérivés pyrazines et thiazoles. Afin d'étudier l'impact du malt caramel sur l'arôme du produit fini, une méthode d'extraction des hétérocycles azotés a été optimisée. De nos études, il ressort que la composition en hétérocycles azotés permet de distinguer des malts de même coloration. Cette information est d'autant plus pertinente que les hétérocycles azotés du malt se retrouvent dans le produit fini à des concentrations suffisantes pour modifier les propriétés organoleptiques de la bière.

Influence of the composition of nitrogenous heterocycles of special malts on the aromatic profile of the beer

Descriptors

Beer aroma, caramel malt, flavour formation, heterocyclic compound, pyrazine, thiazole

SUMMARY

Caramel malts are used in the production of special beers, conferring characteristic colour and aroma. The latter is provided essentially by heterocyclic compounds, e.g. pyrazine and thiazole derivatives. In order to study the effect of caramel malt on the aroma of the finished beer, a method for extraction of heterocyclic nitrogen compounds has been optimised. Our studies demonstrate that the heterocyclic nitrogen composition allows distinction between malts of the same colour. This information is particularly important since the heterocyclic nitrogen compounds of malt persist to the final product in concentrations sufficient to modify the organoleptic properties of the beer.

Einfluß der Zusammensetzung der N-Heterozyklen in Spezialmalzen auf das Geschmacksprofil des Bieres

Deskriptoren

Aromabildung, Bieraroma, heterozyklische Verbindung, Karamelmalz, Pyrazin, Thiazol

ZUSAMMENFASSUNG

Karamalze werden bei der Produktion von Spezialbieren eingesetzt und erbringen eine charakteristische Farbe und ein charakteristisches Aroma. Letzteres wird durch diese N-Heterozyklen sowie durch die Derivate Pyrazin und Thiazol essentiell bedingt. Um den Einfluß des Karamalzes auf das Aroma des fertigen Produkts zu studieren wurde eine Methode zur Extraktion von N-Heterozyklen optimiert. Unsere Studien ergaben, daß die Zusammensetzung der N-Heterozyklen die Unterscheidung von Malzen gleicher Farbe erlaubt. Diese Information ist umso bedeutsamer, da die N-Heterozyklen aus dem Malz in so ausreichender Konzentration im Endprodukt vorhanden sind, daß sie die organoleptischen Eigenschaften des Bieres beeinflussen.

INTRODUCTION

Parmi les composés volatils issus des réactions de Maillard, les pyrazines et analogues contribuent largement à la qualité organoleptique de nombreux aliments. Ces hétérocycles azotés sont généralement présents à l'état de traces dans les denrées alimentaires. Cependant, caractérisés par un seuil de perception extrêmement faible pouvant atteindre le ppb, de faibles quantités de ces composés peuvent suffire à modifier considérablement le profil organoleptique des aliments (3, 4).

Ainsi, la quantification des pyrazines et analogues dans la bière ou ses matières premières devrait constituer une priorité pour le brasseur s'il souhaite contrôler analytiquement la qualité aromatique de son produit.

En particulier, l'arôme caractéristique de caramel ou de rôti des malts spéciaux est la manifestation d'une concentration plus ou moins importante en hétérocycles azotés, produits au cours du touraillage (2).

Actuellement, les malteurs définissent les malts spéciaux essentiellement sur base de leur coloration. Cependant, on peut suspecter que celle-ci ne suffise pas, à elle seule, à qualifier le malt et à déterminer la qualité organoleptique de la bière à laquelle il est destiné.

Ce travail vise à étayer nos connaissances quant à la composition en hétérocycles azotés des malts spéciaux et à leur impact sur la qualité de la bière finie. L'évolution de la concentration en ces composés a été suivie tout au long du processus de fabrication d'une bière par une méthode performante d'extraction et d'analyse (1).

MATERIELS ET METHODES

Brassage-Ebullition

Dans une cuve de 30 l, 4 kg de malt (0,6 kg de malt spécial et 3,4 kg de malt pâle) sont empâtés dans 20 l d'eau et brassés selon le diagramme de température suivant: 30 minutes à 52°C, 10°C/minute jusqu'à 62 °C, 30 minutes à 62°C, 10°C/minute jusqu'à 72 °C, 30 minutes à 72°C. Des échantillons sont prélevés aux différents paliers de température et analysés.

Le moût obtenu est filtré et sa densité ajustée à 12 °P. L'ébullition du moût est conduite pendant 90 minutes. Des échantillons sont prélevés après filtration et ajustement de la densité ainsi qu'après 45 et 90 minutes d'ébullition.

Fermentation

Deux souches de levure basse (BRAS 291 et MUCL 28365) et deux souches de levure haute (BRAS 240 et BRAS 223) ont été utilisées.

La propagation a été effectuée sur un moût autoclavé (obtenu à partir d'un mélange de 90% de malt pâle et de 10% de malt de coloration 600°EBC) de densité 12°P. La levure BRAS 291 a été propagée à 18°C et à 25°C, les trois autres uniquement à 25°C.

Trois litres de moût sontensemencés à $10 \cdot 10^6$ cellules/ml.

Le nombre de cellules, le pH et la densité sont suivis quotidiennement. La durée de la fermentation est de 10 jours à 12 °C ou de 7 jours à 25°C.

La bière est mise en garde (10 jours à 3°C pour la souche BRAS 291 propagée à 18°C, 7 jours à 12°C pour les autres souches) puis centrifugée.

Distillation

Deux ml de 2-méthyl-3-méthoxypyrazine (5 ppm dans le dichlorométhane), standard interne, sont ajoutés à 500 ml de moût ou de bière. Ceux-ci sont alors distillés sous vide 1 heure à 30 °C suivie d'1,5 heure à 35°C.

Extraction liquide/liquide

Le distillat est acidifié à pH 0,1 au moyen d'HCl concentré et extrait 4 fois au dichlorométhane bidistillé (1/3, 1/5, 1/5, 1/5 v/v). Les quatre extraits organiques sont rassemblés en une phase organique acide PO1.

Le pH du distillat appauvri est amené à 12 au moyen de NaOH 1 M et extrait 3 fois au dichlorométhane bidistillé (1/3, 1/5, 1/5 v/v). Les trois extraits organiques sont collectés en une phase organique PO2.

Concentration des phases organiques

Les phases PO1 et PO2 sont concentrées jusqu'à 0,5 ml dans une colonne de Snyder Kuderna.

Analyse chromatographique (GC-NPD)

Le chromatographe (Hewlett-Packard Model 5890) est équipé d'un injecteur on column, d'un détecteur thermoionique (NPD) maintenu à 250°C et d'un intégrateur Shimadzu CR3A. La colonne capillaire (WCOT, CP-SIL 5 CB) a une longueur de 50 m et un diamètre de 0,32 mm; l'épaisseur du film est de 1,2µm. Le potentiel appliqué à l'élément actif du détecteur NPD est graduellement augmenté jusqu'à ce que le signal soit compris entre 20 et 30 pA. Le volume injecté est de 1 µl, la programmation de température du four est: pente de 20°C/minute de 36°C à 80°C, pente de 0,5°C/minute de 80°C à 105°C, pente de 5°C/minute de 105°C à 250°C, 15 minutes à 250°C. Le gaz vecteur est l'hélium à un débit de 1,5 ml/min; les pressions d'air et d'hydrogène sont respectivement de 250 kPa et de 110 kPa. Les concentrations calculées sont corrigées sur base des pourcentages de récupération relatifs au standard interne.

RESULTATS ET DISCUSSION

Evolution de la concentration en hétérocycles azotés en fonction de la coloration du malt

L'évolution de la concentration des hétérocycles azotés majoritaires identifiés dans les malts spéciaux est présentée à la figure 1 en fonction de leur coloration.

L'analyse de cette figure montre clairement que la coloration d'un malt ne permet pas, à elle seule, de décrire la matière première, en particulier lorsque l'on fait référence à des échantillons provenant de deux malteries distinctes possédant leurs propres protocoles de germination et de touraillage. Pour une même coloration, les concentrations des principaux composés identifiés sont toujours plus élevées pour la malterie A. Les taux d'augmentation des concentrations en hétérocycles azotés en fonction de la coloration des malts, diffèrent également d'une malterie à l'autre.

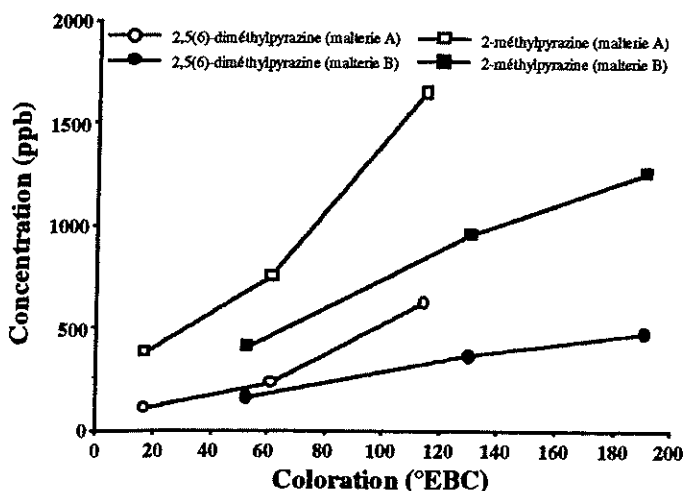


Fig. 1. Evolution des concentrations de quelques hétérocycles azotés en fonction de la coloration des malts spéciaux. Comparaison de deux malteries.

Evolution de la concentration en hétérocycles azotés au cours du brassage

La table I présente les concentrations en hétérocycles azotés mesurées au cours du brassage, aux paliers de température 52°C et 72°C. Aucune synthèse significative n'est observée à ces températures. Les quantités d'hétérocycles azotés, mesurées en fin de brassage, sont donc une caractéristique du malt.

Table I. Concentrations (ppb) en hétérocycles azotés en fonction de la température appliquée au brassage.

Composés	Malt 1 (17°EBC)		Malt 2 (191°EBC)	
	Palier 52°C	Palier 72°C	Palier 52°C	Palier 72°C
pyrazine	104,5	107,3	139,9	142,5
2-méthylpyrazine	393,7	383,5	1159,8	1216,3
2-éthylpyrazine	18,8	27,7	170,9	150,6
2,5 et 2,6-diméthylpyrazine	99,7	102,9	554,4	470,6
2,3-diméthylpyrazine	22,2	27,1	176,6	160,2
2,3-diéthylpyrazine	-	-	22,6	21,7
2,3,5,6-tétraméthylpyrazine	12,9	11,2	10,8	10,3
2,3,5-triméthylpyrazine	-	-	191,6	192,2
2-éthyl-3,5(6)-diméthylpyrazine	5,5	4,9	141,9	144,6
thiazole	16,8	20,6	79,7	75,2
4-méthyl-5-vinylthiazole	4,6	4,2	57,2	54,1

-: non détecté

Evolution de la concentration en hétérocycles azotés au cours de l'ébullition

Malgré la présence d'hétérocycles azotés dans les vapeurs d'ébullition (2), leur concentration au cours de cette étape varie très peu (figure 2). La perte par évaporation est donc contre-balançée par réaction de Maillard impliquant vraisemblablement des dicétones conjuguées préformées au touraillage.

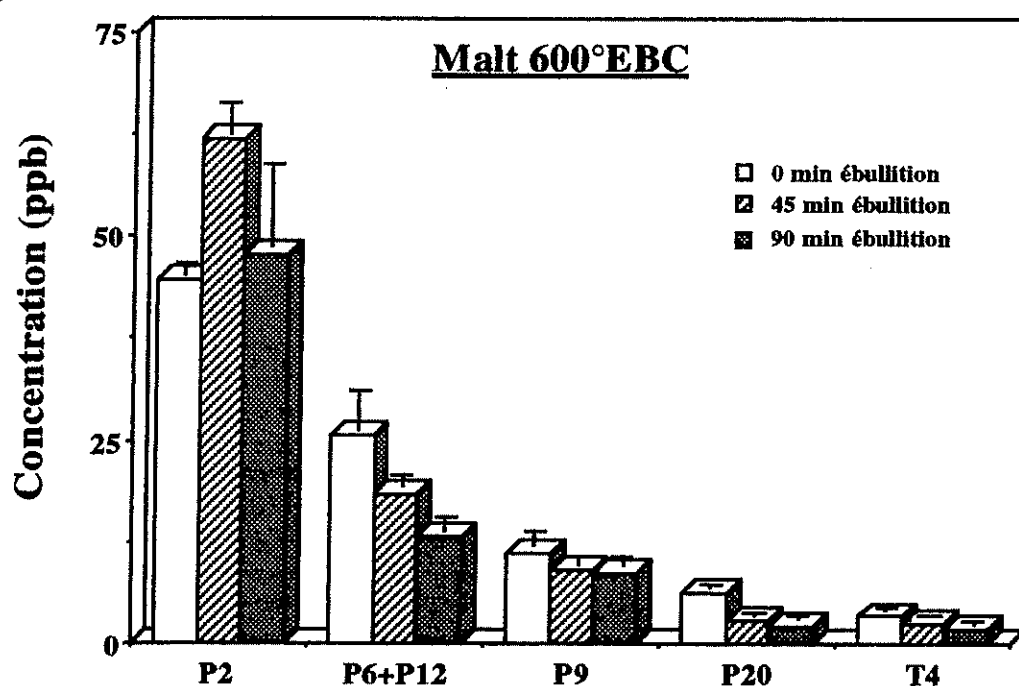


Fig. 2. Evolution de la concentration en hétérocycles azotés au cours de l'ébullition. P2 = 2-méthylpyrazine, P6+P12 = 2,5 et 2,6-diméthylpyrazine, P9 = 2,3-diméthylpyrazine, P20 = 2,3,5-triméthylpyrazine, T4 = 4-méthyl-5-vinylthiazole

Evolution de la concentration en hétérocycles azotés au cours de la fermentation

La concentration de la grande majorité des hétérocycles azotés reste constante au cours de la fermentation (figure 3). Le choix du malt va donc fixer les teneurs en pyrazines et thiazoles de la bière.

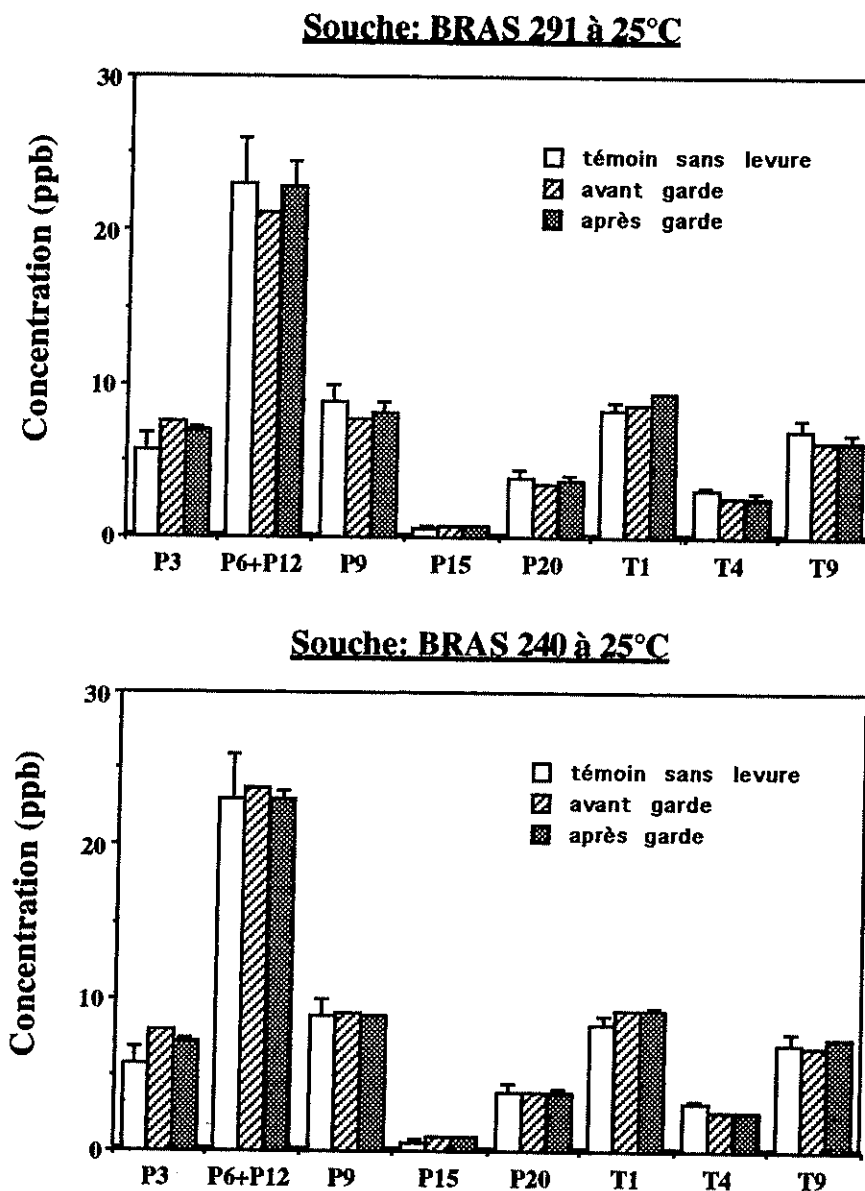


Fig. 3. Evolution de la concentration en hétérocycles azotés au cours de la fermentation
 P3 = 2-éthylpyrazine, P6+P12 = 2,5 et 2,6-diméthylpyrazine, P9 = 2,3-diméthylpyrazine, P20 = 2,3,5-triméthylpyrazine, P15 = 2,3,5,6-tétraméthylpyrazine, T1 = thiazole, T4 = 4-méthyl-5-vinylthiazole, T9 = 2,4,5-triméthylthiazole

Nous pouvons toutefois observer une augmentation de la concentration en pyrazine, en particulier lors de la fermentation par la souche BRAS 291 à 12°C (figure 4a). A l'inverse, une perte en pyrazine (figure 4a) et en 2-méthylpyrazine (figure 4b) est observée lors de la fermentation avec la souche BRAS 240.

Les concentrations des autres hétérocycles azotés restent néanmoins assez constantes quel que soit le type de souche utilisé (figure 4c-f), les variations observées étant de toute manière mineures comparativement à l'impact du choix des matières premières.

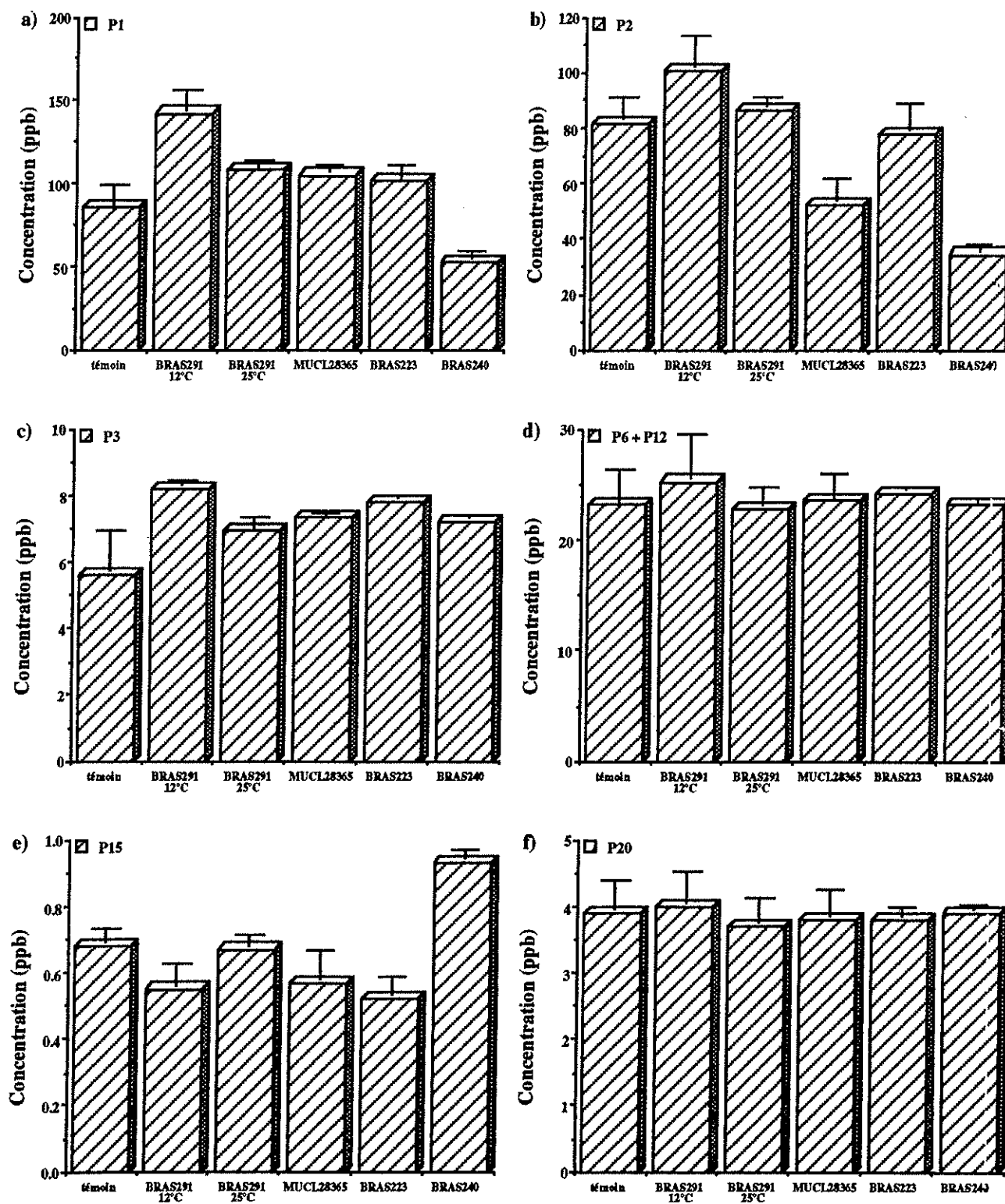


Fig. 4. Influence de la souche de levure utilisée en fermentation sur la concentration en hétérocycles azotés dans une bière finie P1 = pyrazine, P2 = 2-méthylpyrazine, P3 = 2-éthylpyrazine, P6+P12 = 2,5 et 2,6-diméthylpyrazine, P20 = 2,3,5-triméthylpyrazine, P15 = 2,3,5,6-tétraméthylpyrazine

CONCLUSIONS

Pour obtenir une bière ambrée aux arômes fins de rôti et de noisette, le brasseur se doit de choisir judicieusement son malt spécial car il ne peut pas changer significativement les concentrations en hétérocycles azotés au cours du processus de fabrication. Durant le brassage, aucune synthèse thermique d'hétérocycles azotés n'est observée. Au cours de l'ébullition, la synthèse thermique de ces composés est contre-balançée par la perte par évaporation.

Le type de souche utilisé lors de la fermentation n'entraîne pas de variations significatives de la concentration en hétérocycles azotés, à l'exception toutefois, de la pyrazine non substituée qui voit sa concentration augmenter dans certaines fermentations.

La coloration du malt n'est pas un paramètre suffisant pour décrire les potentialités organoleptiques d'un malt spécial. La relation couleur-concentration varie en effet considérablement selon l'origine du malt.

REFERENCES

- (1) Hérent M.F., Ruter C & Collin S., 1997, soumis pour publication.
- (2) Narziss L., Miedaner H. & Koch M., Monatschrift für Brauwissenschaft, 1988, 344-352.
- (3) Shibamoto T., Journal of Food Science, 1986, 1098-1099.
- (4) Vernin G., Debrauwer L., Vernin G.M.F., Zamkotsian R.M., Metzger J., Larice J.L. & Parkanyi C., Off-Flavours in Food and Beverages, G. Charalambous (ed.), Elsevier Science Publishers B.V., 1992, 567-623.