



Site de Rennes

Cursus Ingénieur Agroalimentaire

65 rue de St Brieuc – CS 84215 – 35042 RENNES Cedex

Développement d'une bière acide

PROJET L3/M1

CORNANGUER Lénaïg
DE LA TULLAYE Guillaume
HENRION Victoria
LE BEL Adeline
MANEZ Alexia
MARCELEAUD Camille
SEROUART Mario

Année 2018/2019
M1 Agroalimentaire

Date de Présentation
11 juin 2019

Remerciements

Nous remercions tout d'abord nos tutrices, Sophie JAN et Sterenn LUCAS, pour nous avoir suivis tout au long de notre projet. Leur aide et leurs conseils nous ont été précieux pour le bon déroulement de celui-ci.

Nous souhaitons également remercier Noël GROSSET, pour son implication et pour son aide, notamment lors du brassage. Merci aussi à tout l'équipe du laboratoire de microbiologie d'Agrocampus Ouest pour son accueil.

Merci aux équipes du CIRM pour leur confiance et pour nous avoir donné l'opportunité de travailler avec leurs souches bactériennes.

Merci aussi à Marie COPPET, responsable des ventes chez Lallemand, pour le partage de ses connaissances concernant les souches de bactéries lactiques utilisées en brasserie.

Nous tenons également à remercier Thierry VARLET, conseillé chez Breizh Pack, pour ses conseils qui ont nourri notre réflexion autour de l'emballage et notamment de sa dimension éco-conçue.

Merci également à Agrocampus Ouest pour nous avoir donné la possibilité et les moyens de réaliser un tel projet.

Enfin, nous remercions toutes les personnes qui ont participé, de près ou de loin, à la réussite de ce projet.

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction	1
1. Définition du projet	2
1.1. Présentation générale du concept de départ	2
1.2. Objectifs et enjeux du concept du départ.....	2
1.3. Repositionnement et présentation du concept final.....	2
1.4. Mise en œuvre du projet.....	3
2. Marketing stratégique	4
2.1. Le marché de la bière en France.....	5
2.2. Le marché de la bière acide	6
2.3. Test de concept.....	7
2.4. SWOT	9
2.5. Création de la brasserie	9
3. Recherche et développement du produit	10
3.1. Généralités sur l'acidité et le pH de la bière	10
3.2. Les ingrédients.....	11
3.3. Le processus de fabrication.....	16
3.4. Formulation et définition du processus de fabrication	24
3.5. Résultat des expérimentations	28
4. Industrialisation.....	32
4.1. Processus de fabrication.....	32
4.2. Nettoyage et désinfection.....	33
4.3. Gestion des co-produits de production	634

4.4. Volume	34
5. Démarche qualité.....	34
5.1. Réglementation	34
5.2. Maîtrise de la sécurité sanitaire : Mise en place d'une démarche HACCP.....	35
6. Marketing opérationnel : marketing mix.....	38
6.1. Produit.....	38
6.2. Prix.....	38
6.3. Distribution	38
6.4. Communication	38
6.5. Emballage primaire.....	38
7. Limites et perspectives	39
Conclusion	40
Références bibliographiques	
Table des annexes	

Liste des figures

Figure 1 : Diagramme représentant la répartition des dépenses théoriques du projet

Figure 2 : Diagramme représentant la répartition des dépenses réelles du projet

Figure 3 : Evolution du marché de la bière, en volume et en valeur entre 2008 et 2019

Figure 4 : Évolution en valeur des différentes catégories du marché de la bière entre 2008 et 2019

Figure 5 : Évolution en volume des différentes catégories du marché de la bière entre 2008 et 2019

Figure 6 : Classes d'âge des personnes interrogées (pour l'interprétation des résultats, les classes 46-60 ans et 60 ans et plus ont été regroupés)

Figure 7 : Catégorie Socio-Professionnelle des personnes interrogées (pour l'interprétation des résultats, les catégories Profession intermédiaire, Employé, Ouvrier, Autre, Agriculteur et Retraité ont été regroupés sous Profession intermédiaire/Employé/Autre)

Figure 8 : Réponses à la question : "Je me considère comme un connaisseur de bière"

Figure 9 : Etiquettes de "La Sourvoltée"

Figure 10 : Réponse à la question: Cette bière sera vendue entre 3 € et 3,5 €, j'ai envie d'acheter cette bière

Figure 11 : Matrice SWOT

Figure 12 : Composition du cône de houblon (source auteurs)

Figure 13 : Ratio d'amertume moyen par style de bière (Mosher, 2019)

Figure 14 : Les trois voies de métabolisation du glucose par les bactéries lactiques

Figure 15 : Procédé brassicole

Figure 16 : Cinétique de croissance des levures au cours d'une fermentation alcoolique, et linéarisation mathématique

Figure 17 : Graphique conceptuel de la dynamique des microorganismes pour la méthode traditionnelle.

Figure 18 : Graphique conceptuel de la dynamique des microorganismes pour la méthode moderne.

Figure 19 : Évolution du pH par essai au cours de la fermentation lactique

Figure 20 : Valeurs finales de pH à l'arrêt de la fermentation lactique

Figure 21 : Évolution de l'acidité total titrable par essai au cours de la fermentation lactique

Figure 22 : Valeurs finales de l'acidité totale titrable à l'arrêt de la fermentation lactique

Figure 23 : Notes moyennes par descripteur obtenues par l'essai S1H1

Figure 24 : Répartition des essais selon les descripteurs d'odeur associés à la souche et la note hédonique associée au houblon

Figure 25 : Diagramme de fabrication

Figure 26 : Arbre de décision

Figure 27 : Décomposition du coût de revient

Figure 28 : Schématisation des différentes étapes de préparation pour le dénombrement de colonies

Figure 29 : Profil sensoriel de la Sour & Muette en comparaison avec les essais et note hédonique

Figure 30 : Profils sensoriels de S1H3 et S1H1 en comparaison avec les autres essais et notes hédoniques

Figure 31 : Carte des descripteurs sensoriels et de la note hédonique

Figure 32 : Produits et leur ellipse de confiance sur le plan

Figure 33 : Carte des descripteurs et projection de l'appréciation des juges

Figure 34 : Distribution des attentes des sondés pour l'acidité, l'amertume et le fruité d'une bière acide

Figure 35 : Distribution des notes attribuées par les juges pour les descripteur de l'acidité, de l'amertume et du goût fruité

Liste des tableaux

Tableau 1 : Analyse chimique d'un cône de houblon séché

Tableau 2 : Extrait du tableau Major division within the genus *Lactobacillus* based on phenotypic characteristics synthétisant les recherches de Hammes et Vogel et de Pot et al.

Tableau 3 : Composition de la base céréalière

Tableau 4 : Volumes d'inoculation des bactéries lactiques pour chaque souche

Tableau 5 : Répartition des houblons dans les différentes solutions

Tableau 6 : Dénombrement manuel des souches revivifiées avant inoculation

Tableau 7 : Equipe HACCP

Tableau 8 : Tableau d'évaluation de la probabilité et la gravité des dangers

Tableau 9 : Priorisation des risques

Tableau 10 : Efficacité du traitement thermique à l'étape d'ébullition 2

Tableau 11 : pH minimal de micro-organismes de préoccupation

Tableau 12 : Gestion des CCPs

Tableau 13 : Gestion du PRPo

Tableau 14 : Critères microbiologiques – La Moussaillonne

Tableau 15 : Moyennes ajustées des notes par descripteur et par produit

Liste des abréviations

BPH : Bonnes Pratiques d'Hygiène

CCP : Critical Control Point

CIRM : Centre International de Ressources Microbiennes

CSP : Catégorie Socio-Professionnelle

EBC : European Brewery Convention

GMS : Grande et Moyennes Surfaces

INRA : Institut National de Recherche Agronomique

IPA : India Pale Ale

HACCP : Hazard Analysis Critical Control Point

IBU : International Bitterness Unit

LAB : Lactic Acid Bacteria

NEP : Nettoyage En Place

PET : Polytéréphtalate d'éthylène

PLA : Polylactic Acid

PRP : Programme Prérequis

PRPo : Programme Prérequis Opérationnel

STLO : Science et Technologie de l'Œuf et du Lait

UC : Unité de Cours

UFC : Unités Formant de Colonies

Introduction

Avec son invention fortuite en 7000 avant Jésus-Christ en Mésopotamie, la bière est considérée comme la boisson fermentée la plus ancienne au monde. Aujourd'hui, le marché de la bière avoisine 1,4 milliard de litres et 3,3 milliards d'euros, soient respectivement une hausse de 3,7 % et 8% sur la période février 2017-février 2018 (Rayon Boissons, 2018). Avec un secteur moins fermé que celui du vin, la bière offre une grande place à la créativité. En effet, la bière est aujourd'hui encore en pleine mutation et en faveur des bières de dégustation. De plus, comme le montre l'émergence de nombreuses micro-brasseries, la bière est à la mode.

Pour ce projet L3/M1, nous avons ainsi choisi de nous intéresser à la bière car il s'agit d'un produit connu de tous, dont le process est assez simple mais qui permet de nombreuses innovations tant sur le process que sur l'aspect sensoriel du produit.

C'est lors d'une conférence au Saint Malo Craft Beer, salon de la bière artisanale de Saint Malo, que nous ai venue l'idée de développer une bière dite acide. En effet, le groupe Lallemand, l'un des leaders mondiaux de la production de bactéries et levures, y expliquait les effets possibles de la fermentation lactique dans la bière.

Après avoir décidé de développer une bière acide, et étudié les différentes possibilités de productions, nous avons développé la problématique suivante : Comment élaborer une bière acide avec un process de durée proche de celui de la bière classique, sans aromatisation, avec un taux d'alcool plus élevé qu'en moyenne pour ce type de produit et une production locale ?

En effet, les difficultés liées à ce type de produit concernent tout d'abord la production de bière acide, dont la durée est très longue. Le process de production de la bière acide a également un fort impact sur le niveau d'alcool et a donc une tendance à le limiter (environ 2 % contre 5 % pour une bière blonde classique). De plus, la majorité des bières acides existantes sont aromatisées, et il n'existe actuellement aucune bière acide produite en Bretagne.

Ce rapport présentera donc dans un premier temps le projet de façon générale, ses objectifs et ses enjeux. Dans un second temps, nous détaillerons notre marketing stratégique. Ensuite, nous décrirons la fabrication de notre produit et sa phase d'industrialisation. Puis, nous aborderons notre démarche qualité et présenterons notre marketing opérationnel. La dernière partie concernera les discussions et les perspectives de notre produit.

1. Définition du projet

1.1. Présentation générale du concept de départ

Autrefois, la contamination des bières par des bactéries lactiques ou acétiques pouvait donner un goût acide à la bière. Cette acidité soutenue était en général considérée comme un défaut des bières dû à de mauvaises pratiques d'hygiène. Les règles d'hygiène et de sécurité mises en place dans les entreprises agroalimentaires ayant grandement évoluées, nous ne retrouvons plus cette acidité hormis dans les bières à fermentation spontanée où ce sont les microorganismes de l'environnement qui fermentent le produit. De manière contrôlée, il est possible d'ensemencer le moût de *Lactobacillus*, de *Brettanomyces*, ou encore de *Pediococcus* et ainsi obtenir un goût acidulé.

Ce projet est ainsi parti de l'idée de proposer de nouveau ce type de bière au goût particulier, communément appelé « Sour Beer ».

1.2. Objectifs et enjeux du concept du départ

Notre première idée consistait donc à développer une bière acide. Nous avons ainsi comme enjeu d'élargir l'offre actuelle de bières acides proposée aux consommateurs.

Pour cela, plusieurs objectifs ont été mis en place. Le premier était de créer une bière acide avec une durée de fabrication comparable à celle d'une bière classique. En effet, le procédé traditionnel de fabrication d'une bière acide se fait sur plusieurs mois, voire plusieurs années. Or, cette durée n'était ici pas envisageable de par la limite de temps de notre projet. Il était donc nécessaire d'établir un procédé de seulement quelques semaines, permettant néanmoins d'obtenir une bière avec une acidité marquée.

Un autre objectif était que cette bière soit produite en Bretagne afin de se démarquer des bières déjà présentes sur le marché. En effet, aucune bière avec le label « produit en Bretagne » n'était alors proposée. Notre produit pouvait donc répondre à une demande potentielle des consommateurs.

Afin de vérifier cette supposition, un troisième objectif était de réaliser un test de concept de notre produit. Ce test avait pour but d'établir la cible de consommateurs, d'évaluer leur intérêt pour notre produit, de définir les modifications à effectuer au niveau de notre stratégie marketing (piste aromatique, packaging, prix) et ainsi d'optimiser l'attrait de notre bière.

Enfin, un dernier objectif était de réaliser une analyse sensorielle sur des sujets amateurs de bière afin d'évaluer l'acceptabilité de notre produit final, et ainsi assurer sa commerciabilité.

1.3. Repositionnement et présentation du concept final

1.3.1. Difficultés rencontrées

Le temps a été une première contrainte dans ce projet. En effet, le procédé de fabrication de bière acide, établi durant le semestre 7, se déroulait sur 38 jours au total. Cette durée s'avérait être plus conséquente que l'estimation réalisée pendant la phase de pré-projet (Cf Annexe I). De plus, ce procédé nécessitait au préalable la commande et réception du matériel nécessaire au brassage, ainsi que la mise en place avec M. Noël Grosset, technicien au laboratoire STLO de l'INRA, des protocoles de revivification des souches de bactéries lactiques utilisées durant le procédé, de dénombrement et des analyses de suivi de l'évolution de la fermentation lactique. Il était également indispensable de convenir à l'avance d'une date de réservation du laboratoire et d'une partie du matériel, dont une étuve, pendant toute la période

de revivification des souches, de fermentation lactique et d'incubation des boîtes de dénombrement avant et après cette même fermentation, soit 5 jours au total.

L'ensemble des difficultés exposées a abouti à un regroupement des essais des différentes formulations, afin de pouvoir analyser sensoriellement toutes les bières, et choisir la meilleure recette avant la fin du temps imparti. Ces mêmes difficultés ont cependant empêché la réalisation de nouveaux essais après analyse sensorielle et la reformulation de la recette choisie en conséquence.

Le matériel disponible a également été une contrainte. En effet, il n'était pas adapté au brassage de gros volumes de bières (casseroles) et était limité au vu du nombre de recettes différentes à réaliser. Le nombre d'essais a donc été privilégié au volume de bière brassé par recette afin d'avoir un spectre aromatique total le plus large possible. Finalement, 12 recettes ont été réalisées, avec 1,5 L de bière brassée pour chaque recette.

1.3.2. Nouveaux enjeux et objectifs

Malgré les difficultés rencontrées, l'enjeu et les objectifs de notre projet sont globalement restés inchangés. Il s'agit ainsi d'élargir l'offre des bières acides sur le marché en élaborant une bière produite en Bretagne et dont l'acidité, obtenue en cinq semaines, est comparable à celle du reste du marché.

Cependant, du fait des faibles volumes produits, l'objectif de réalisation d'une analyse sensorielle à grande échelle (80 individus ou plus) a été revu à la baisse avec une analyse en petit comité (9 individus). Ces résultats n'auront donc qu'une valeur limitée du fait de leur non-significativité. La pertinence de notre concept de bière acide et de notre stratégie marketing sera ainsi principalement évaluée grâce à notre test de concept.

1.4. Mise en œuvre du projet

1.4.1. Répartition du travail

L'équipe s'est organisée en deux pôles tout au long de l'année : quatre d'entre nous étaient concentrés sur la partie formulation du produit, microbiologie, démarche qualité, et industrialisation du produit. Le second pôle, composé des trois autres membres de l'équipe, était en charge du marketing stratégique et opérationnel.

L'équipe se réunissait une fois par semaine afin d'exposer aux membres du groupe l'avancement de chacun et d'établir communément les axes prioritaires de travail pour la semaine suivante. Des réunions ponctuelles avec nos tutrices ont également été réalisées dans le but de déterminer les lignes directrices du projet. Elles ont su nous guider et nous conseiller lors de la rencontre de certaines difficultés. Un compte-rendu était ensuite rédigé à chaque fin de séance. Le dactylographe variait de façon à permettre un roulement lors de la rédaction des comptes-rendus.

1.4.2. Planification prévisionnelle et finale

Afin d'avoir une vision à long terme pour la gestion de notre projet, nous avons réalisé un rétro-planning sur Excel au commencement du projet (juin 2018). Le projet a ainsi été divisé en plusieurs étapes clés telles que les recherches en amont à réaliser, la démarche marketing, la formulation du produit et production *etc.* Ce premier planning nous a surtout servi jusqu'avant janvier 2019. En effet, lors de la rentrée S8, et avec les difficultés rencontrées explicitées plus haut, il a été nécessaire de le revoir pour la

RÉPARTITION DES DÉPENSES THÉORIQUES

■ Matériel ■ Matières premières ■ Etude de marché ■ Impression

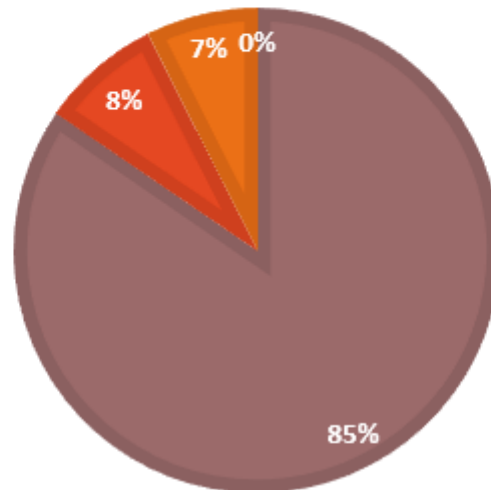


Figure 1 : Diagramme représentant la répartition des dépenses théoriques du projet

RÉPARTITION DES DÉPENSES RÉELLES

■ Matériel ■ Matières premières ■ Etude de marché ■ Impression

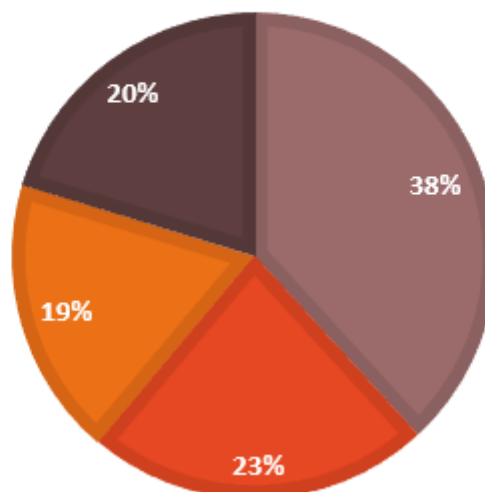


Figure 2 : Diagramme représentant la répartition des dépenses réelles du projet

période de février à juin 2019. Ainsi, suivant l'avancement du projet, le planning a été mis à jour et complété afin de pouvoir suivre précisément l'organisation de notre projet (Cf Annexe I).

1.4.3. Budget prévisionnel et final

Au début de notre projet, nous avons établi un budget prévisionnel constitué de trois pôles de dépenses : le coût du matériel et des équipements, les achats de matières premières, ainsi que les coûts de l'étude du marché de la bière acide. Nous avons alors obtenu un budget prévisionnel d'environ 500 €, qui s'intégrait dans les 700 € de compensations accordées par Agrocampus Ouest dans le cadre de ce projet. Finalement, le coût total du projet s'est élevé à 296 € (Annexe II).

Comme nous pouvons le constater sur les figures 1 et 2, certaines dépenses ont été surestimées, telles que les coûts du matériel et des matières premières, puisque nous pensions devoir acheter la totalité du matériel pour éviter toute contamination du milieu par les bactéries lactiques. Au final, nous avons pu emprunter une partie du matériel de l'association la Ruée Vers l'Orge, ce qui a permis de diviser les coûts matériels par quatre. A contrario, nous avons sous-estimé certains frais comme les frais d'impressions du rapport et des fiches d'analyse sensorielle. Nous avons aussi sous-estimé le coût des matières premières : du fait de la réalisation d'un plus grand nombre de recettes que prévu initialement, nous avons eu besoin d'un plus grand nombre de matières premières différentes.

2. Marketing stratégique

2.1. Le marché de la bière en France

Après avoir été en recul pendant 36 ans, la consommation de bière en France connaît aujourd'hui un regain d'énergie. Entre 2013 et 2016 la production et la consommation ont toutes deux progressé de 10 %. Aujourd'hui, avec une moyenne de 30 L/an/habitant, la France est le 26ème pays consommateur de bière en Europe. Même si nous sommes encore loin de pays "institutionnels" comme les pays de l'Est ou britanniques, où la consommation annuelle par habitant dépasse les 100 L, il existe en France une vraie culture de la bière puisque 70 % de la bière consommée est produite en France. En 2017, la filière brassicole française comptait 1227 producteurs, ce qui représente une hausse de 92,62 %, soit près du double, entre 2013 et 2017. La grande majorité de ces brasseries sont dites artisanales ou appelées microbrasseries, c'est-à-dire qu'elles produisent moins de 10 000 hL/an et ciblent principalement les marchés locaux (Leboulanger, 2018).

La Bretagne est la 6ème région en termes de nombre de producteurs avec 80 brasseries et microbrasseries (Leboulanger, 2018). Entre août 2016 et août 2017, 49,9 millions de litres de bières se sont vendus en Bretagne et Normandie. Cela représente une hausse de 16,6 % en un an, soit le plus fort taux de croissance en France. En Bretagne les consommateurs aiment consommer local. En effet, comme le montrent les ventes en GMS (Grandes et Moyennes Surfaces), des brasseries bretonnes comme St-Erwann se hissent dans le top 10 régional des marques de bières de spécialités (Rayon Boisson, 2017). Cette information est importante pour définir l'orientation de notre concept et de notre cible marketing.

Depuis quelques années, le marché de la bière est donc caractérisé par une croissance en volume et encore plus en valeur, grâce notamment à la montée en gamme initiée par les brasseurs artisanaux et suivis par les brasseurs industriels de plus grandes tailles (Le Figaro, 2018). Aujourd'hui, en GMS, le marché de la bière en France représente en volume 1,4 milliard de litres (+ 5,2 % de croissance) et 3,5 milliards d'euros en valeur (+ 8,1 %) (Rayon Boisson, 2019). A titre de comparaison, en 2008 ce marché représentait 823 millions de litres en volume (- 4,1 % en croissance) et 1,4 milliard en valeur (- 0,5 % en

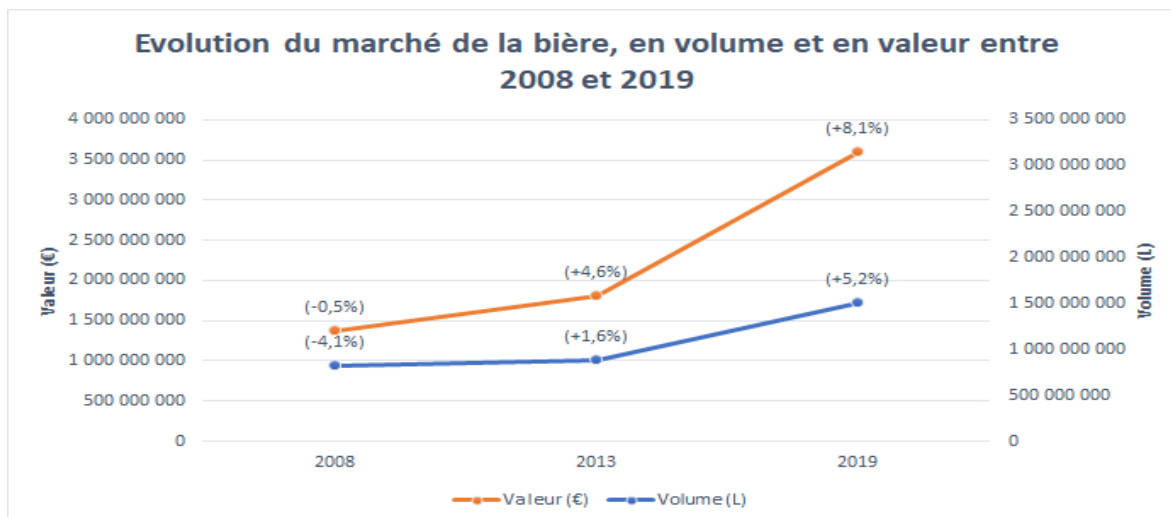


Figure 3 : Evolution du marché de la bière, en volume et en valeur entre 2008 et 2019 (source auteurs)

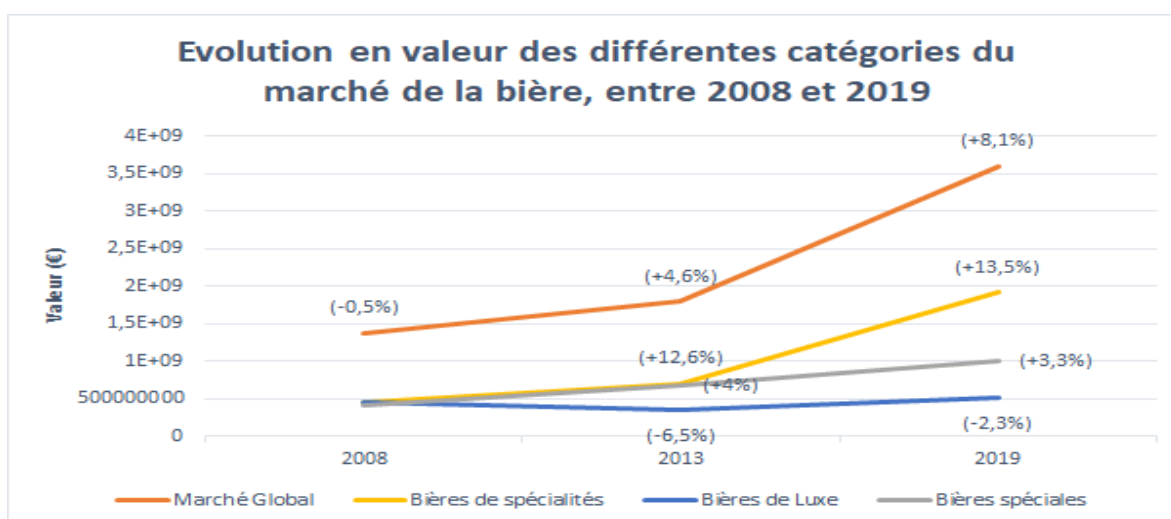


Figure 4 : Évolution en valeur des différentes catégories du marché de la bière entre 2008 et 2019 (source auteurs)

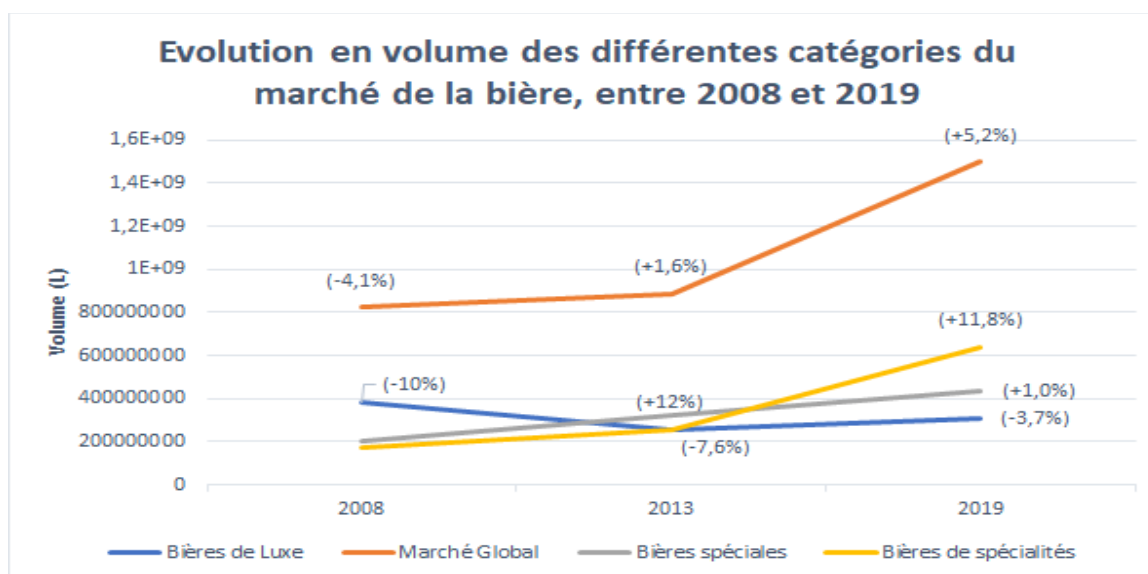


Figure 5 : Évolution en volume des différentes catégories du marché de la bière entre 2008 et 2019

croissance) (Rayon Boisson, 2008) (figure 3). Cette forte croissance en volume et en valeur a été marquée par un changement du type de bières consommées.

Ce marché est divisé en 5 catégories (LSA, 2011) :

- Bières de luxe (bières titrant entre 4° et 5° *e.g.* Kronenbourg, 33 export, Karlsbraü)
- Bières dites “spéciales” (bières blondes titrant entre 5,5° et 6,5° *e.g.* Heineken, 1664)
- Bières de spécialités (bières blondes de plus de 6,5° *e.g.* ambrées, rouges, aromatisées, d’abbaye, de saison, etc.)
- Panachés
- Bières sans alcool.

Comme le montrent les figures 4 et 5, la catégorie des bières de spécialités est aujourd’hui leader en volume et en valeur, alors qu’il y a 10 ans c’était la catégorie des bières de luxe qui l’était (Rayon Boisson, 2018).

La catégorie des bières de spécialité peut être segmentée en plusieurs sous-catégories. Un entretien avec un étudiant d’Agrocampus Ouest en stage Category Manager rayon cidres & bières chez Carrefour nous a permis d’en apprendre davantage sur cette segmentation qui peut légèrement varier selon les distributeurs. La catégorie des bières de spécialités est donc découpée en 4 sous-catégories :

- Cave à bière : ce sont toutes les bouteilles unitaires en 25 cL, 33 cL et 75 cL ;
- Bières de dégustation ou tradition : ce sont les bières d’abbaye (Leffe, Grimbergen, Affligen, etc.) et les bières de la sous-catégorie cave à bière mais en pack ;
- Bières modernes : cela regroupe les bières blanches (Hoegaarden, Edelweiss, 1664 blanche, etc.) et les bières festives (Desperados, Corona, Cubanisto, etc.) ;
- Boîtes unitaires : ce sont toutes les canettes de 50 cL.

Cette dynamique de croissance n’est pas près de s’arrêter. En effet entre janvier 2018 et janvier 2019, le rayon bière a bénéficié de 9 % d’espace supplémentaire en hypermarchés et 6 % en supermarchés. Le nombre de références a lui aussi augmenté cette même année ; les hypermarchés proposent en moyenne 360 produits (+ 10 %) à leurs clients, et les supermarchés 193 produits (+ 7 %) (Rayon Boisson, 2019).

Le marché de la bière connaît donc une évolution très positive, principalement pour la catégorie bière de spécialité et la sous-catégorie cave à bière qui sont de plus en plus présentes même en GMS.

2.2. Le marché de la bière acide

2.2.1. Chiffres clés

La bière acide est une sous-catégorie de bières artisanales, qui sont elles-mêmes des bières de spécialité. Ces bières artisanales représentaient 4,8 % du marché de la bière en millions d’euros en France en 2018, et devraient s’étendre jusqu’à environ 7 % d’ici 2020 selon les calculs de Xerfi, un institut d’analyse de marché. Il s’agit donc d’un secteur en plein essor, d’autant plus si on compare ces chiffres au marché de référence, celui des Etats-Unis, où les bières artisanales pèsent 11 % des ventes de bières (Leboulenger, 2018).

Les bières artisanales sont très segmentées, et les sous-catégories les plus populaires sont les IPA et les Pale Ales, qui correspondent à elles deux à 60 % du marché au Royaume-Uni. Cependant, la troisième

catégorie la plus représentée est celle des bières acides, qui connaissent une croissance significative ces dernières années, puisqu'elles sont passées de 3,4 % en 2016 à 7 % du volume total de bières artisanales vendu en 2018, toujours au Royaume-Uni (Jackson, 2019). De même aux Etats-Unis, entre 2015 et 2017, les volumes vendus ont été multipliés par près de six fois, passant de 45 000 à 267 000 bouteilles vendues (Gajanan, 2017). Ces ventes ont encore augmenté de 42,7 % en 2018 selon une étude Nielsen (Americancraftbeer, 2018).

Ainsi, s'il n'existe pas de chiffres sur la consommation de bières acides en France pour l'instant, on ne peut cependant pas nier qu'il s'agit d'un style de bière grandissant et avec un fort potentiel en termes d'opportunité de marché. Ces données confortent donc la cohérence de notre projet d'un point de vue commercial.

2.2.2. Veille de la concurrence

Une veille de la concurrence a ainsi été réalisée en amont du développement de produit afin d'observer l'offre de bières acides proposée sur le marché en termes de quantité et de diversité. Huit caves à bières et magasins spécialisés ont ainsi été visités sur Rennes et ses alentours, et seize bières acides ont été achetées et goûtées.

Les prix étaient compris entre 3,20 € et 5,95 €, avec un prix moyen de 4,16 € pour un volume de 33 cL. La teneur en alcool allait de 3,3 % à 6,3 %, avec une moyenne de 4,4 %.

Sur les 15 bières goûtées, 11 étaient aromatisées, dont quatre aux fruits rouges et trois aux fruits exotiques. Les autres avaient des saveurs plus originales, telles qu'à la rhubarbe, à la rose, au basilic et au concombre. Une des bières aromatisées aux fruits rouges se démarquait des autres du fait qu'elle était également une India Pale Ale, caractérisée par une forte amertume en bouche.

Toutes les bières aromatisées étaient blondes. Les bières non aromatisées se composaient de trois blondes et d'une brune.

Sept des bières étaient d'origine française. Les brasseries se situaient en Nouvelle Aquitaine pour deux d'entre elles, mais également en régions Grand Est, Occitanie, Bourgogne-Franche-Comté, Provence-Alpes-Côte d'Azur et Nord-Pas-de-Calais. Cinq des bières restantes provenaient de Grande Bretagne. Les trois autres provenaient d'Espagne, de Belgique et de Finlande.

Ainsi, si la plus grande partie des bières évaluées proviennent de brasseries françaises, aucune de ces brasseries n'est bretonne. De ce fait, l'origine bretonne de notre produit est à mettre pleinement en avant afin de se démarquer de l'offre actuelle sur le marché. De plus, la majorité des bières est aromatisée. Une non-aromatisation permettrait donc à notre produit de se démarquer un peu plus sur le marché. Enfin, jouer sur la torréfaction du malt afin d'obtenir une couleur finale du produit ambrée plus proche des bières classiques lui servirait également à se démarquer.

2.3. Test de concept

Lors du processus de développement d'un produit, il existe plusieurs types de test pour évaluer son potentiel. Le test de concept sert à soumettre à un groupe de consommateurs appartenant potentiellement à la cible une description de l'idée du produit en développement, en présentant les avantages qu'ils doivent en retirer. Un test de produit sert quant à lui à mesurer l'appréciation hédonique des consommateurs et comprendre leurs préférences (Ferrandi et al., sd).

26- Votre âge :

280 réponses

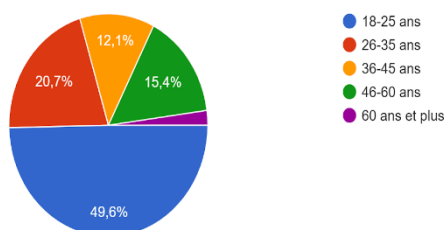


Figure 6 : Classes d'âge des personnes interrogées (pour l'interprétation des résultats, les classes 46-60 ans et 60 ans et plus ont été regroupés)

27- Votre catégorie socio-professionnelle :

280 réponses

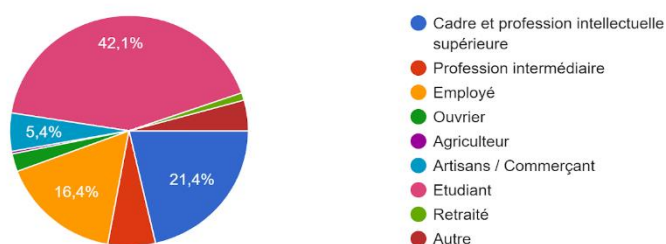


Figure 7 : Catégorie Socio-Professionnelle des personnes interrogées (pour l'interprétation des résultats, les catégories Profession intermédiaire, Employé, Ouvrier, Autre, Agriculteur et Retraité ont été regroupés sous Profession intermédiaire/Employé/Autre)

3- Je me considère comme un connaisseur de bière :

280 réponses

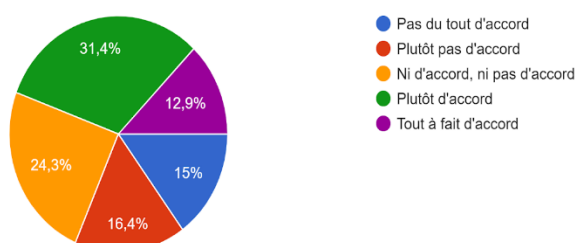


Figure 8 : Réponses à la question : "Je me considère comme un connaisseur de bière"

Au vu du temps limité pour réaliser ce projet, du nombre d'essais et donc de la faible quantité de bière brassée, il n'était pas possible de réaliser un test produit avec un grand nombre de consommateurs. Un test de concept a toutefois été réalisé sous la forme d'un questionnaire découpé en quatre parties : une première partie sur les habitudes de consommation, une deuxième sur la bière acide en général, une troisième sur notre concept de bière acide et une quatrième partie pour la signalétique.

Le but était d'avoir un jugement global sur notre concept, faire une première mesure de l'intention d'achat et affiner la cible. Ce questionnaire a été diffusé sur des groupes Facebook de connaisseurs de bières, des groupes pour auto-entrepreneurs qui veulent tester un concept, aux connaissances personnelles des membres du groupe, ainsi qu'au personnel et étudiants d'Agrocampus Ouest.

L'objectif était d'interroger un public connaisseur, mais aussi néophyte et même non-consommateur de bière. En effet, la bière acide étant assez éloignée de ce à quoi le consommateur est habitué au niveau sensoriel pour de la bière, l'hypothèse que le concept peut également plaire à un public non-amateur de bières est faite. Pour faciliter l'interprétation des résultats, les personnes ayant répondu tout à fait d'accord et plutôt d'accord ont été regroupées comme sous la réponse d'accord et ceux ayant répondu pas du tout d'accord ou plutôt pas d'accord sous la réponse pas d'accord.

2.3.1. Description des individus interrogés

Au total, 280 réponses ont été récoltées. 56,1 % des répondants étaient des femmes et 42,5 % habitaient en Bretagne. Les figures 6 et 7 montrent respectivement la répartition des classes d'âge et des catégories socioprofessionnelles des personnes interrogées. Le concept mettant en avant le côté breton du produit, la variable région d'habitation a été divisée en deux classes : Bretagne et Autres. Enfin la figure 8 montre la répartition entre les personnes amatrices de bière et les néophytes. Avec 44,3% des personnes connaisseurs et très connaisseurs, 31,4 % de néophytes et 24,3 % qui ne se considèrent ni comme connaisseurs ni comme néophytes, l'objectif d'interroger un public avec des connaissances variées sur la bière a été atteint. Ainsi même si les interrogés sont en grande partie des étudiants, et appartiennent à la classe d'âge 18-25 ans, la diversité du public en termes d'âge, de CSP (Catégorie Socio-professionnelle), sexe et région d'habitation est satisfaisante.

2.3.2. Jugement global du concept

Globalement, notre concept a été jugé comme innovant par 57,1 % des individus interrogés. Le concept a significativement été jugé comme moins innovant par les hommes, les individus de la classe d'âge 36-45, de CSP Profession intermédiaire/Employé/Autre et les connaisseurs de bière (annexe III).

En revanche, 74,3 % ont déclaré vouloir goûter cette bière. Seules les personnes ne consommant jamais de bières, de vins ou de cocktails étaient moins enclines à vouloir tester notre produit. Concernant l'étiquette dans son ensemble (Figure 9), 59 % des répondants l'ont jugée attrayante, 67 % ont aimé le nom "La Sourvoltée", et 59 % ont aimé le logo du phare. Globalement, "La Sourvoltée" a suscité la curiosité des interviewés puisque trois quarts d'entre eux voulaient la goûter alors que 41,4 % avaient déjà entendu parler de bière acide et seulement 31,1 % en avaient déjà goûté.

2.3.3. Analyse de l'intention d'achat

L'intention d'achat s'est avérée très variable selon les situations (figure 10). En effet, seul 8 % des personnes interrogées ont déclaré vouloir acheter "La Sourvoltée" pour une consommation quotidienne. Toutefois, près de 75 % voulaient l'acheter pour une occasion spéciale (soirée de dégustation, célébration d'une bonne nouvelle, etc.), 58 % pour offrir, 89 % par curiosité, et 46 % pour son origine bre-



Figure 9 : Etiquettes de "La Sourvoltée"

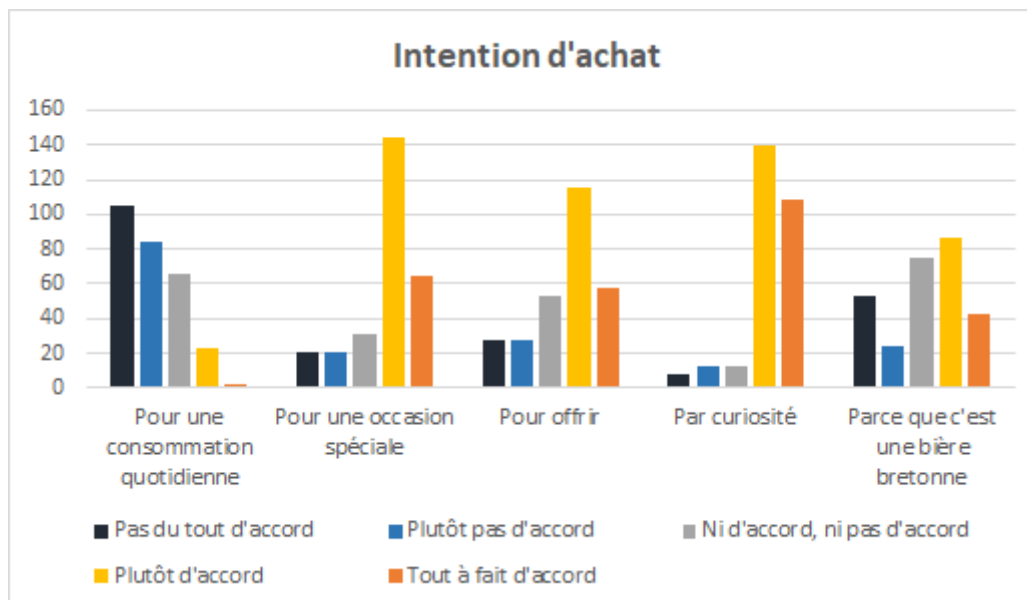


Figure 10 : Réponse à la question : Cette bière sera vendue entre 3 € et 3,5 €, j'ai envie d'acheter cette bière

tonne. Ainsi, “La Sourvoltée” attise la curiosité des répondants et déclenche chez le consommateur l’acte d’achat plaisir, occasionnel. Généralement, lors d’un achat plaisir, le consommateur ne prête pas vraiment attention au prix, ce qui est recherché dans notre cas puisque 59 % des personnes interrogées ont jugé la bière acide vendue actuellement sur le marché comme chère ou trop chère.

2.3.4. Définition de la cible

L’achat ou non pour une occasion spéciale était lié aux variables âge, CSP, et fréquence de consommation de bière. En effet, les individus de la classe d’âge 46 ans et plus, ainsi que ceux ne consommant jamais de bière étaient significativement surreprésentés parmi ceux qui n’avaient pas l’intention d’acheter “La Sourvoltée” pour une occasion spéciale. Les personnes appartenant à la classe Profession intermédiaire/Employé/Autre étaient significativement surreprésentés parmi les indécis, ce qui peut s’expliquer par le prix élevé.

L’achat pour offrir quant à lui était lié au sexe, à l’âge et au fait d’acheter en magasin spécialisé. En effet, les hommes, les individus de 46 ans et plus, et les consommateurs achetant très souvent de la bière en magasin spécialisé étaient surreprésentés parmi ceux étant réfractaire à l’achat alors que les femmes étaient surreprésentées parmi ceux voulant acheter “La Sourvoltée” pour offrir.

Pour l’achat par curiosité, seuls les individus ne consommant jamais de bière étaient surreprésentés parmi ceux qui ne voulaient pas acheter. Enfin, les bretons ont bien été sensibles à l’argument bière bretonne puisqu’ils étaient significativement surreprésentés parmi les individus voulant acheter “La Sourvoltée” parce que c’est une bière bretonne.

Ainsi, “La Sourvoltée” attire un public plutôt jeune, et féminin si c’est un achat pour offrir. L’intention d’achat n’a pas été affectée par le niveau de connaissance en bière du consommateur, ce qui permet d’élargir un peu la cible de départ qui était les connaisseurs. Toutefois, les non-consommateurs de bière n’ont significativement pas été attirés par “La Sourvoltée”. Enfin, l’argument bière bretonne a fonctionné sur les bretons et constitue un bon point de départ pour faire connaître cette bière.

2.4. SWOT

Le test de concept et l’analyse du marché ont permis d’identifier les forces et faiblesses du produit ainsi que les opportunités et menaces dues au marché. Ces éléments sont résumés sous la forme d’une matrice SWOT (Figure 11).

2.5. Création de la brasserie

2.5.1. Type de société, valeurs et but

La brasserie La Moussaillonne sera une société par actions simplifiées (SAS). Les valeurs de notre entreprise se basent sur des produits de qualité, un brassage local et la limitation de notre impact sur l’environnement. La satisfaction du client est notre principal souci et pour cela, nous sommes en recherche permanente d’innovation pour améliorer nos produits. De plus, nous mettons en avant la parité car il y a plus de 50 % de femmes travaillant dans notre brasserie.

2.5.2. Implantation

Notre brasserie sera implantée à Noyal-Châtillon-sur-Seiche. Nous avons choisi ce lieu afin d’être au cœur de la Bretagne et à proximité immédiate de Rennes afin de limiter l’impact du transport de nos produits vers nos différents distributeurs.

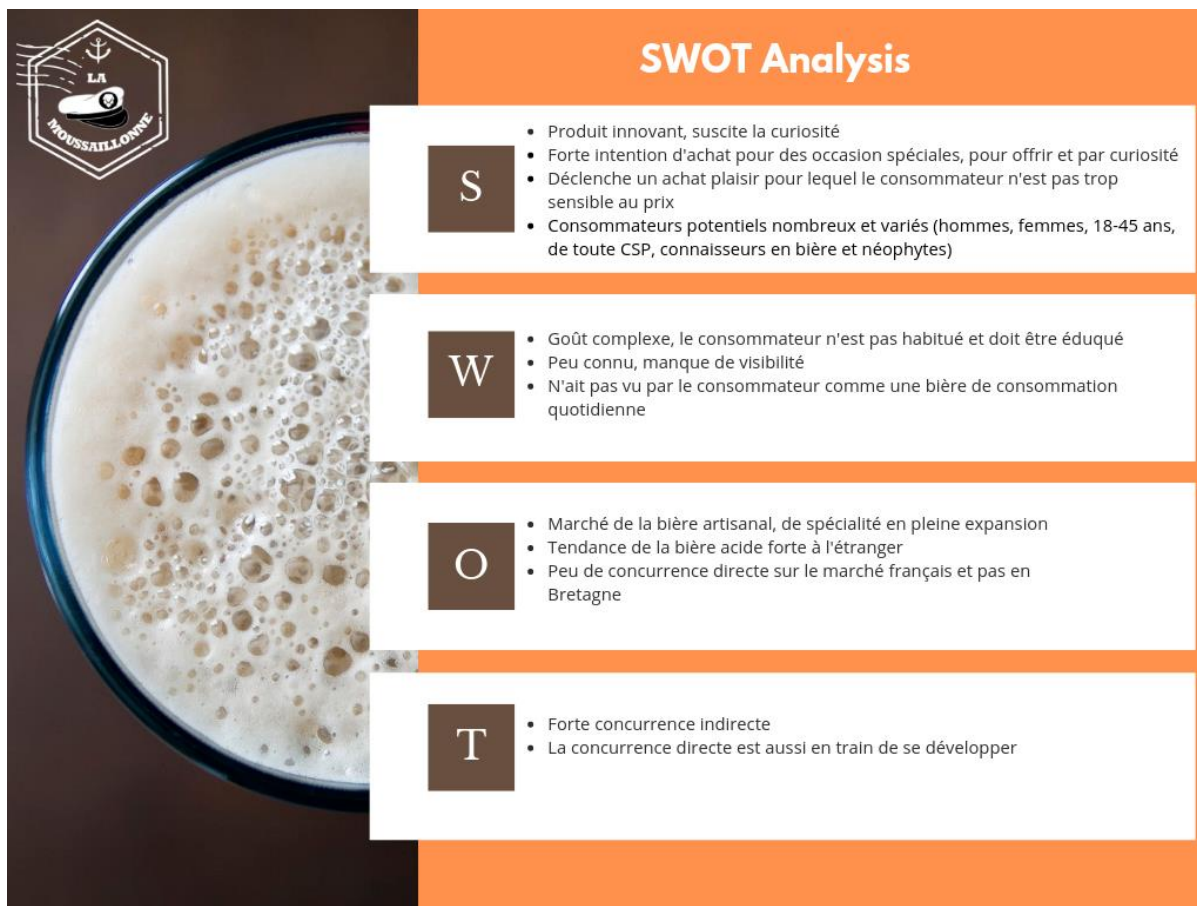


Figure 11 : Matrice SWOT

2.5.3. Investissements

L'investissement nécessaire en matériel pour le brassage et le conditionnement est évalué à 6 599,53 € (détail en annexe IV). Cet investissement sera amorti sur sept ans, soit 78,56 €/mois.

2.5.4. Local

Afin d'exercer l'activité, il est nécessaire d'avoir au minimum à disposition un local avec une salle dédiée à la production et au stockage des matières premières et produits finis, et un bureau. Lorsque l'activité sera plus développée, il faudra évoluer vers un local avec les entrepôts et la salle de production séparée. C'est pourquoi il nous semble plus judicieux de commencer avec la location. Un exemple de local pouvant correspondre à nos attentes est consultable dans l'annexe V. Nous partirons sur un loyer mensuel de 900 € pour calculer notre coût de revient.

2.5.5. Personnel

L'activité devra permettre de rémunérer un salarié à 24 h/semaine au niveau du SMIC. Ceci représente un poste rémunération de 1 089€ /mois. Son temps de travail sera réparti de la manière suivante :

- Brassage : 9 h/semaine ;
- Conditionnement : 4 h/semaine ;
- Recherche de revendeurs : 5 h/semaine ;
- Création de recettes, formation *etc.* : 6 h/semaine.

3. Recherche et développement du produit

3.1. Généralités sur l'acidité et le pH de la bière

3.1.1. Le pH et la perception sensorielle

Le pH de la bière est influencé par de nombreux facteurs tels que la composition minérale de l'eau utilisée pour le brassage ou encore le malt et le houblon utilisés. C'est un critère important à suivre durant toutes les étapes du brassage de la bière : il influence notamment la capacité des enzymes à dégrader l'amidon (Bourre, 2000).

Si le pH final de la bière influence directement la perception des saveurs, la perception de l'acidité n'est pas linéaire. D'un point de vue sensoriel, si le pH de la bière diminue en dessous de 4,0, les effets d'acidité et d'amertume augmentent rapidement en intensité. Par exemple, une bière présentant un pH de 3,8 est caractérisée par une acidité assumée. De plus, une bière à pH 4,0 sera plus "fraîche" ou "rafraîchissante" qu'une bière à pH 4,5 (Guyot-Declerck et *al.*, 2005).

3.1.2. L'acidité

L'acidité d'une bière peut avoir comme origine les substances minérales et les acides organiques issus des différents ingrédients. Elle peut également être souhaitée et, dans ce cas, des acides (issus naturellement de fruit ou ajouté sous forme d'extrait) ou des bactéries lactiques sont ajoutés lors du brassage.

L'acidité et le pH d'une bière sont intimement liés sur le plan sensoriel, mais ils n'évoluent pas forcément de la même façon. Lors de la production d'une bière acide dans laquelle des bactéries lactiques

ont été introduites, on cherche à savoir la quantité d'acides présente dans le milieu grâce à une mesure du degré Dornic (°D) en plus de la mesure du pH.

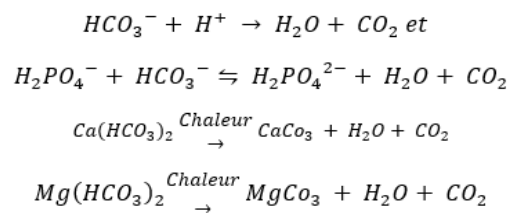
3.2. Les ingrédients

3.2.1. Importance de la composition de l'eau sur les caractères organoleptiques de la bière

Une bière est constituée à 90 % d'eau et le choix de l'eau de brassage peut avoir une incidence sur le produit fini obtenu. En effet, l'eau, via sa composition en ions, peut influencer plusieurs paramètres comme le goût final de la bière ou encore le rendement du brassage (BtoBeer, 2016).

Nous pouvons distinguer principalement six ions de l'eau pouvant avoir un effet notable sur les qualités organoleptiques des bières.

Les ions carbonates/bicarbonates (HCO_3^-) sont les premiers d'entre eux. Ces ions vont jouer sur le pH de la mouture en l'augmentant. Une faible concentration en bicarbonates entraînera ainsi l'obtention d'une mouture acide. Cette relation est régie par la réaction suivante (Moll, 1991) :



Les ions Calcium vont augmenter l'acidité du brassin par réaction avec les phosphates du malt (BtoBeer, 2016). Le calcium permet également d'améliorer la limpidité de la bière. Les eaux du réseau des villes contiennent en général 50 à 100 mg de calcium/L. Les eaux de sources en contiennent plus avec des teneurs moyennes de 100 à 200 mg/L. Des cations tel que le manganèse ou encore le magnésium peuvent avoir des actions semblables à celles du calcium mais leur teneur dans les eaux est moins importante (Faiveley, 2010).

Les ions magnésium n'affectent pas la flaveur de la bière à des teneurs inférieures à 7,1 méq. de MgSO_4 . En revanche, de hautes teneurs en ions magnésium combinées à de hautes teneurs en ions sulfates ont une incidence néfaste sur le goût de la bière. En effet, ces deux ions réagissent pour former des sels Epsom qui donnent un goût amer à la bière (BtoBeer, 2016).

Le sodium a pour effet de donner un goût aigre et salé à la bière. Une concentration aux alentours de 75-150 mg/L convient aux bières blondes et permet de contribuer au moelleux du produit fini (Moll, 1991).

Le chlorure en interagissant avec le calcium et le magnésium donnent des bières pâteuses et douces. Des concentrations jusqu'à 300 mg de NaCl/L permettent d'améliorer la clarification, le moelleux de la bière ou encore la stabilisation colloïdale. Ainsi, à des concentrations faibles, le chlorure peut permettre d'améliorer le corps de la bière. Toutefois au-delà d'une concentration de plus de 400 mg/L de NaCl, la bière devient pâteuse (Moll, 1991). De plus une concentration élevée en ions chlorure aura tendance à apporter un goût « médicamenteux » au produit fini (BtoBeer, 2016).

Les ions sulfates donnent un goût sec et amer aux bières. En effet, les ions sulfates peuvent réagir avec le carbonate de magnésium et ainsi générer du sulfate de magnésium qui va apporter cette amertume

à la bière (Moll, 1991). Les ions sulfates contribuent à atténuer la sensation sucrée de la bière. Les teneurs en sulfates habituelles se situent autour de 30 mg/L (Faiveley, 2010).

3.2.2. Base céréalière

Ce que l'on appelle malt est une céréale (orge, blé, seigle *etc.*) qui a été germée, séchée puis colorée ou non. Il existe différents types de colorations. L'usage de différentes couleurs varie en fonction de la bière que l'on veut réaliser. La couleur d'une bière s'exprime en EBC (European Brewery Convention) ; la couleur du malt utilise également cette échelle. De ce fait la couleur de la bière est liée aux malts qui la composent, plus on utilise de malts foncés et plus on a un EBC important. (Univers Bière, s.d.)

Cependant, l'aspect le plus important dans le choix de céréales reste la qualité organoleptique. La quantité et la diversité des malts forment la recette, rendant chaque bière unique.

Pour tous les styles de bière on utilise principalement du malt de base clair (pils, pale, blé) auquel on ajoute d'autres types de malts selon le goût et la couleur que l'on souhaite obtenir.

Les malts de base constituent un grand pourcentage de la base maltée des bières généralement consommée en France. Ce sont principalement eux qui apportent les glucides simples nécessaires à la fermentation et les enzymes nécessaires à l'extraction de ces sucres durant l'empâtage.

Les malts touraillés (Munich, Vienna) connaissent une légère cuisson qui leur confère plus d'arômes. Ils sont en revanche toujours adéquats pour apporter des glucides fermentescibles et des enzymes à la bière.

Les malts caramel subissent une transformation particulière durant le processus de maltage. En les faisant cuire sans les faire sécher comme l'on ferait avec les autres malts, le cœur du grain se caramélise et gélatinise. En résulte des grains utilisés pour leur apport en goût mais également en glucides non fermentescibles, qui ajouteront du corps à la bière.

La dernière catégorie répertorie les malts torréfiés. Ils apporteront des arômes d'amertume et une couleur foncée à la bière mais n'apporteront aucun glucide (Happy Beer Time, 2017).

On peut aussi apporter d'autres types de malts voire céréales (avoine, riz...) pour complexifier la saveur du produit obtenu. Celles-ci viennent compléter la recette mais ne peuvent substituer les malts de base en matière de glucides fermentescibles ou d'enzymes.

3.2.3. Houblon

3.2.3.1. Généralités

Le houblon (*Humulus lupulus*) est une plante herbacée grimpante vivace de la famille des Cannabaceae. Il s'agit d'une plante dioïque. Les plants femelles produisent des chatons qui, à floraison, deviennent des cônes ovoïdes couverts d'une résine odorante et pulvérulente : la lupuline (de Clerck, 1948).

En 1155, Hildegarde de Bingen, une abbessse allemande, le mentionne dans un ouvrage de science naturelle, *Physica*, en indiquant ses propriétés conservatrices, aromatisantes et amérisantes dans les boissons. Peu à peu, il va remplacer le gruit, un mélange de plantes et d'épice, dans la cervoise.

Aujourd'hui, une bière doit obligatoirement contenir du houblon ou des substances conférant de l'amertume provenant du houblon pour être nommée ainsi (Décret n° 92-307 du 31 mars 1992 portant

Tableau 1 : Analyse chimique d'un cône de houblon séché (Stevens 1967)

Résines	15,0%
Protéines	15,0%
Monosaccharides	2,0%
Tanins (polyphénols)	4,0%
Pectines	2,0%
Huiles essentielles volatiles	0,5%
Cendres	8,0%
Eau	10,0%
Cellulose, etc.	43,0%

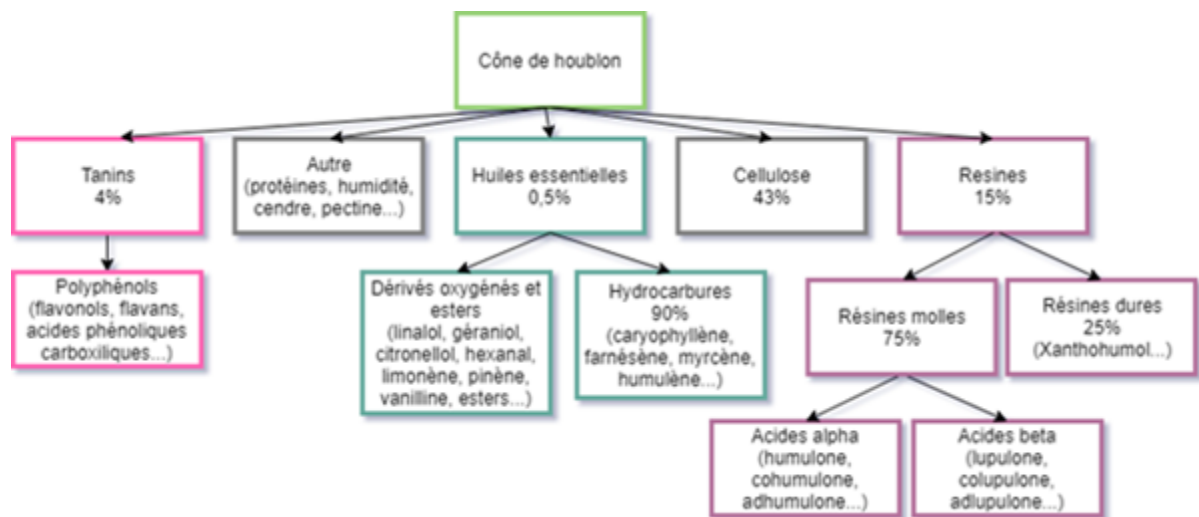


Figure 12 : Composition du cône de houblon (source auteurs)

application de l'article L. 412-1 du code de la consommation en ce qui concerne les bières). La partie utilisée est l'inflorescence femelle, le cône.

3.2.3.2. Composition du cône de houblon

Le tableau 1 présente la composition d'un cône de houblon séché analysé par Stevens en 1967. La figure 12 est la synthèse des différents articles cités dans cette partie.

3.2.3.3. Apports des différents composés

- Tanins (polyphénols)

Les tanins sont responsables du trouble de la bière. (Hall, Harris et Ricketts, 1959). Ils sont par ailleurs liés à l'amertume finale apportée par le houblon. En effet, ils jouent un rôle dans la transformation des acides α , plus particulièrement celle de l'humulone. (Moštek, 1969).

Enfin, ils ont un pouvoir antiseptique en perturbant l'intégrité de la membrane des bactéries, plus particulièrement celles des bactéries à Gram positif, dont les bactéries lactiques font partie (De Keukeleire et *al.*, 1999).

- Résines

Les résines sont la source du pouvoir amérisant du houblon. Elles ont aussi une activité bactériostatique en inhibant la croissance des bactéries à Gram positif au même titre que les polyphénols. (De Keukeleire, 2000). Elles sont séparées en deux groupes, les résines molles et les résines dures.

- Résines molles

- Acides α

Les trois acides α principaux sont l'humulone et deux de ses dérivés, l'adhumulone en proportion variable et la cohumulone (15 % des acides α).

Durant la phase d'ébullition, les humulones s'isomérisent par l'action de la chaleur (entre 80 et 100°C). Les produits de cette isomérisation sont très amers (équivalence à la quinine) et ont des propriétés tensioactives stabilisant ainsi la mousse de la bière. (De Keukeleire, 2000).

- Acides β

Dans leur forme initiale, les acides β n'apportent pas d'amertume. Les acides β ne s'isomérisent pas durant l'ébullition et sont de plus insolubles. Ils ont cependant tendance à s'oxyder au cours du temps, produisant des composés amers mais aussi aux saveurs indésirables (De Keukeleire, 2000).

- Résines dures

Ces résines non solubles se retrouvent peu dans la bière. Cependant, des études récentes révèlent qu'elles pourraient avoir un rôle à jouer sur l'intensité de l'amertume et la stabilité de la mousse (Almaguer et *al.*, 2012).

- Calcul de l'amertume apportée à la bière

L'IBU (International bitterness unit) est une unité de mesure de l'amertume dans la bière, il se calcule de la manière suivante :

Relative Bitterness

Bitterness tastes stronger in a weaker beer, so it's really the ratio of bitterness to original gravity that matters. The chart shows international bitterness units against gravity units — the two most significant digits of the original gravity (1050 = 50 gravity units).

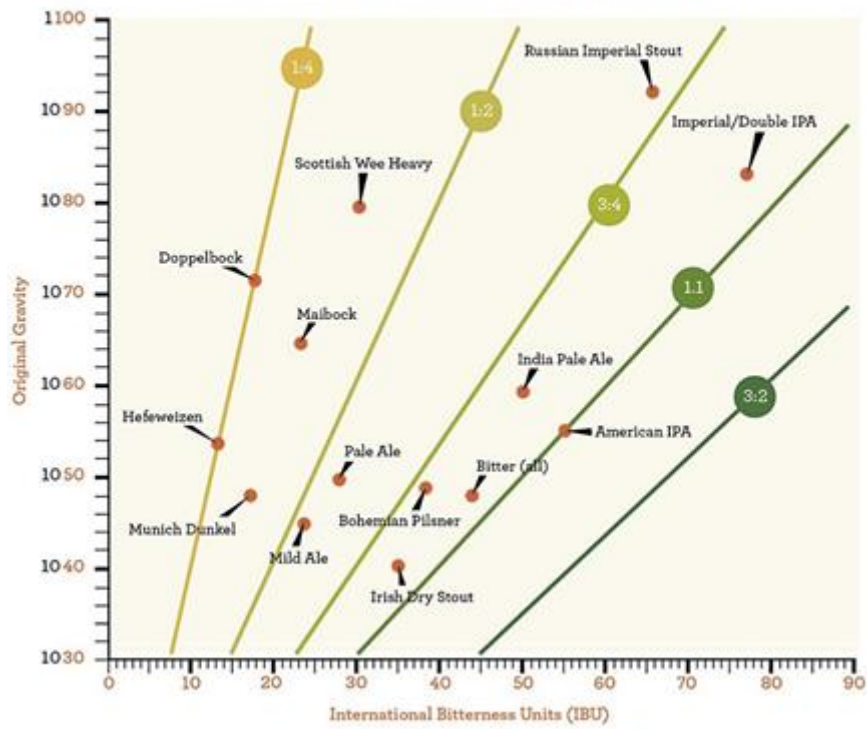


Figure 13 : Ratio d'amertume moyen par style de bière (Mosher, 2019)

$$IBU = 3,3 * [\text{houblon}] * ([\text{acides } \alpha] + \frac{[\text{acides } \beta]}{9})$$

Avec [houblon] la concentration de houblon en g/L ; [acides α] et [acides β] les concentrations en acide α et β dans le houblon.

Le ratio d'amertume se calcule à partir de l'IBU. Ce ratio permet de nuancer le résultat d'amertume puisqu'une amertume très élevée ne se ressent pas de la même manière dans une bière dense ou légère (c'est-à-dire un corps plus ou moins sucré). Sa formule est la suivante :

$$\text{Ratio d'amertume} = IBU/DI$$

Avec DI la densité initiale du moût.

La figure 13 présente le ratio d'amertume moyen des principaux types de bière.

3.2.3.4. Huiles essentielles

La composition du cône de houblon en huiles essentielles est très variable selon les variétés. Cette composition varie aussi en fonction des conditions de culture et de transformation du cône. Il y aurait plus de 1000 composants possiblement présents dans des classes chimiques variées (Eyres et Dufour, 2009). Les composés principaux diffèrent aussi, d'où la complexité de généraliser la répartition et l'apport des huiles essentielle du houblon (Bernotienė et Butkienė, 2004).

Diverses études ont été menées afin d'identifier, isoler et caractériser ces composants. L'annexe VI est issue du livre *The Oxford Companion to Beer* où Olivier et Colicchio ont synthétisé diverses recherches menées en Allemagne et au Japon.

Les descripteurs olfactifs mentionnés ci-dessous sont issus des travaux japonais et allemand couplés à ceux de Shi Feng sur les composants aromatiques de trois variétés de houblon (Feng, 2014).

Les huiles principales sont des hydrocarbures parmi lesquels peuvent être citées :

- Le caryophyllène : notes épicées, boisées, encens ;
- Le farnésène : notes florales, gardénia ;
- L'humulène : notes boisées, vinaigre balsamique ;
- Le myrcène : notes florales, géranium, céleri, vinaigre balsamique.

Lors de l'ébullition, il y a une perte de 76,7 à 88 % de ces huiles. La perte monte de 88 à 95,7 % après fermentation (Salac, 1957).

3.2.4. Bactéries lactiques

3.2.4.1. Généralités

Le groupe des bactéries lactiques rassemble les bactéries capables de réaliser la fermentation lactique. Ce sont des bactéries à coloration de Gram positive et qui ne sporulent pas. Elles sont aéro-anaérobies ou micro-aérophiles et peuvent être sous forme de coques ou de bâtonnet. Le groupe englobe 11 genres : *Enterococcus* (*Carnobacterium*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*), *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, et *Weissella* (Stiles, Holzapfel, 1997).

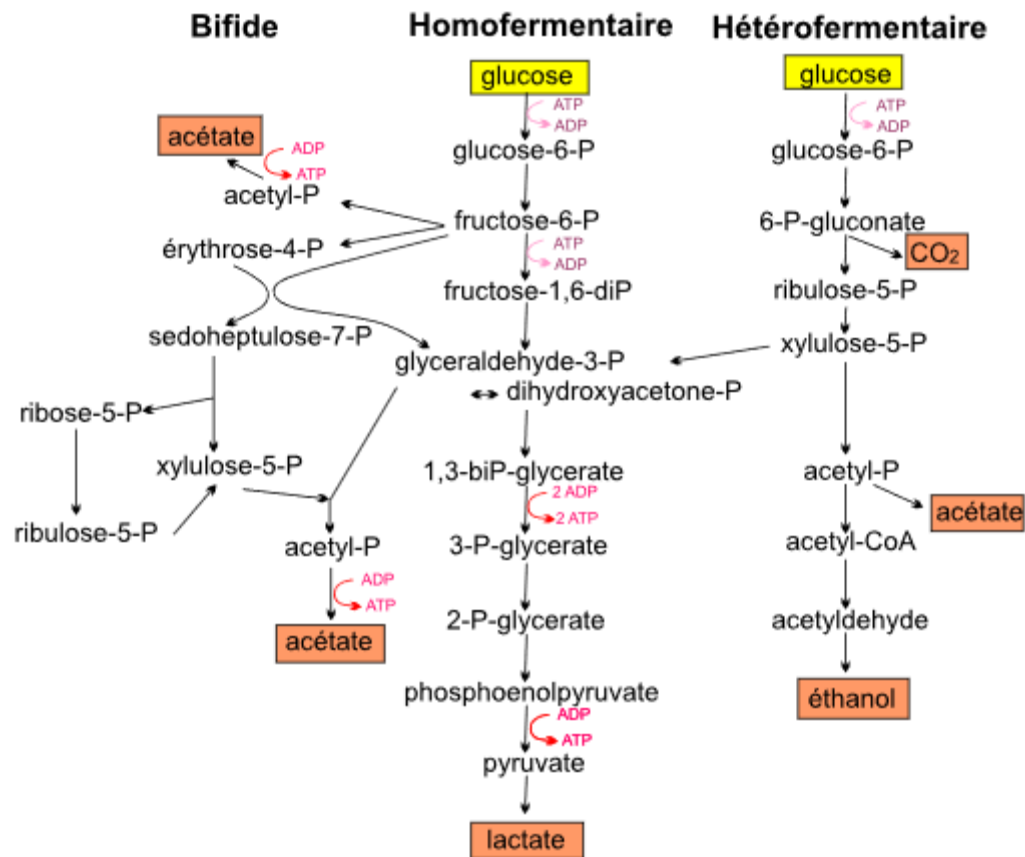


Figure 14 : Les trois voies de métabolisation du glucose par les bactéries lactiques (Drider, Prévost, 2009)

Ces bactéries ubiquistes se retrouvent dans des environnements divers tels que dans le végétal en décomposition ou le tube digestif des mammifères.

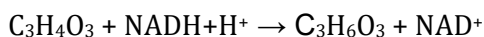
Certaines bactéries lactiques peuvent être pathogènes pour l'Homme (e.g. *Streptococcus pneumoniae*) tandis que d'autres lui sont bénéfiques (e.g. *Lactobacillus acidophilus*).

3.2.4.2. Fermentation lactique

La fermentation lactique s'inscrit dans le métabolisme des glucides. Il existe trois voies de métabolisation des glucides (voir figure 14) :

- La voie homofermentaire : Il s'agit de la glycolyse du glucose au lactate. Les bactéries utilisant cette voie (en général *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* et *Lactobacillus*) vont produire deux molécules de lactate et deux molécules d'ATP pour une molécule de glucose.
- La voie hétérofermentaire : La métabolisation du glucose donne lieu à de l'acide lactique mais aussi à de l'acétate et de l'éthanol. Ce sont généralement les *Leuconostoc* et *Lactobacillus* qui utilisent cette voie.
- La voie fermentaire bifide : Cette voie concerne les *bifidobactérium*. Elle mène à la production d'acétate.

La fermentation lactique consiste en la transformation du pyruvate ($C_3H_4O_3$) en lactate ($C_3H_6O_3$) :



3.2.4.3. Spécificité des genres

Streptococcus : Les bactéries du genre *Streptococcus* sont généralement pathogènes bien que certaines espèces soit commensales. Seul *S. thermophilus* serait utilisée pour la production de denrées alimentaires en association avec *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*. (Stiles, Holzapfel, 1997)

Lactococcus : Ce sont des bactéries homofermentaires majoritairement non pathogènes. Elles sont très utilisées pour la fabrication de produits laitiers fermentés du fait de leur capacité à se développer dans le lait et à dégrader la caséine en acides aminés (Saarela, 2007).

Enterococcus : Les entérocoques sont des bactéries pouvant être présentes dans le tube digestif de l'Homme et de certains animaux mais qui sont aussi persistantes dans l'environnement. Ce sont des pathogènes opportunistes et généralement résistants à la chaleur (Stiles, Holzapfel, 1997).

Leuconostoc : Ce sont des bactéries hétéro-fermentatives non pathogènes. Elles sont notamment connues pour détériorer le sucre en produisant des dextrans à partir du saccharose. Par ailleurs, elles produisent du diacétyl à partir du citrate, composé donnant des odeurs caractéristiques de beurre ou de fromage (Stiles, Holzapfel, 1997).

Oenococcus : Ce genre regroupe les espèces *O. oeni* et *O. kitaharae*. *Oenococcus oeni* est utilisé en œnologie pour la fermentation malolactique, la transformation de l'acide malique en acétate. C'est une bactérie hétérofermentaire qui dégrade le citrate produisant ainsi, entre autres, du diacétyl (El Khoury, 2014).

Weissella : Ce genre regroupe des bactéries pouvant être pathogènes opportunistes. Elles sont retrouvées entre autres dans le kimchi, un plat coréen à base de légumes fermentés. Ce sont des bactéries hétéro-fermentaires (Abriouel et al., 2015).

Tableau 2 : Extrait du tableau Major division within the genus *Lactobacillus* based on phenotypic characteristics (Stiles, Holzapfel, 1997) synthétisant les recherches de Hammes et Vogel (Hammes, Vogel, 1995) et de Pot et al (Pot et al., 1994)

Lactobacilli homofermentaires	Lactobacilli hétérofermentaires facultatives	Lactobacilli hétérofermentaires
<p><i>L. acidophilus</i> <i>L. delbrueckii</i> (subsp. <i>bulgaricus</i>, <i>lactis</i> et <i>delbrueckii</i>) <i>L. helveticus</i></p>	<p><i>L. casei</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. sake</i></p>	<p><i>L. brevis</i> <i>L. buchneri</i></p>

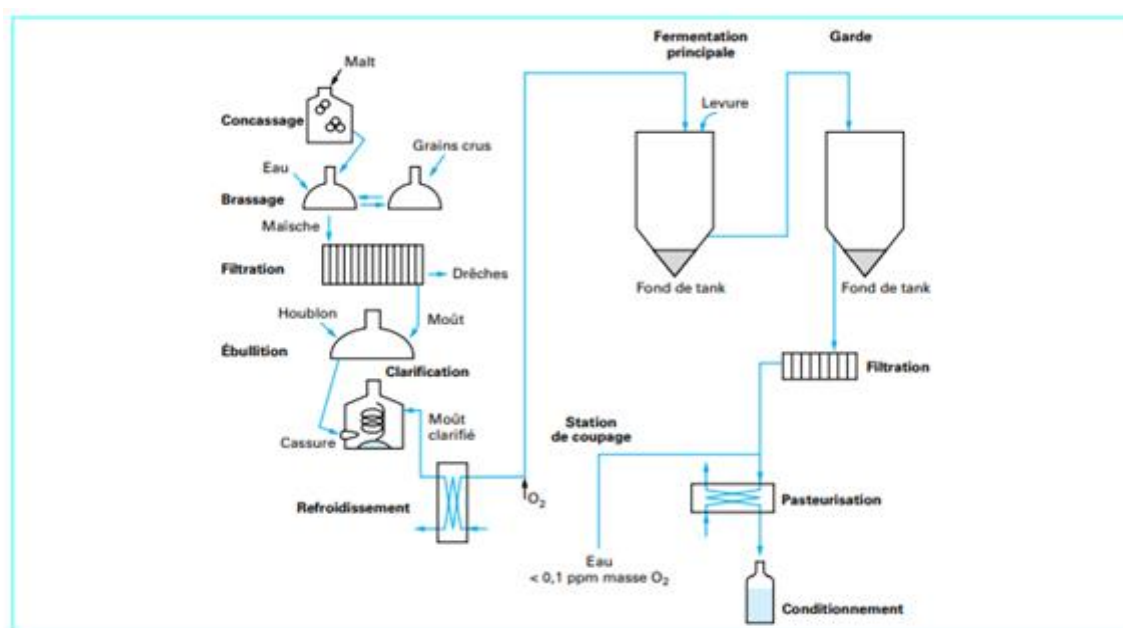


Figure 15 : Procédé brassicole (Faiveley, 2010)

Pediococcus : Les pédiocoques sont des bactéries homofermentaires connues pour dégrader le vin et la bière en leur conférant une texture visqueuse (production d'exopolysaccharides) et en produisant de l'acide acétique (Gil-Sánchez et *al.*, 2019). Enfin, elles produisent du diacétyl. Elles sont aussi retrouvées dans certaines bières à fermentation spontanée (e.g. lambics).

Lactobacillus : Les lactobacilles sont acidophiles et font baisser le pH des aliments dans lesquels elles se multiplient, inhibant ainsi la croissance d'une autre flore. Elles peuvent être homofermentaires, hétérofermentaires ou facultativement hétérofermentaires (voir tableau 2). Les lactobacilles hétérofermentaires sont généralement associées à la détérioration de denrées alimentaires (Stiles et Holzapfel, 1997).

3.2.4.4. Utilisation en agroalimentaire

Les bactéries lactiques sont utilisées pour la production de denrées alimentaires depuis des millénaires. Par exemple, les babyloniens les utilisaient pour produire de la bière 3000 av. J.-C. tandis qu'en Irak, elles étaient utilisées pour produire du fromage, du beurre et du yaourt (Nissen et *al.*, 2004). En Suisse, elles servaient à la confection de pain à mie acide il y a plus de 5000 ans (Währen, 1990).

Aujourd'hui, elles sont utilisées dans la fabrication de produits laitiers mais aussi en boulangerie, pour les salaisons, la production de vin, le saumurage des légumes ou le saurissage des poissons.

3.3. Le processus de fabrication

3.3.1. Processus général de la fabrication de bière

Le processus de fabrication de la bière est marqué par quatre étapes majeures : le maltage, le brassage, la fermentation et la garde (figure 15).

3.3.1.1. Le maltage

Le maltage consiste à transformer les céréales en malt. Même si le malt est essentiellement produit à partir d'orge, d'autres céréales peuvent être maltées comme le blé, l'avoine, le sarrasin ou encore le seigle (Goemaere et *al.*, 2017).

Au début du procédé de maltage, les grains d'orge crus sont nettoyés et calibrés. Puis l'orge est mis à tremper dans une cuve avec une alternance de mise sous eau et hors eau. Cette étape dure deux à quatre jours, et le taux d'hydratation des grains passe de 10 - 15 % à 38 - 48 %. Ce processus permet de fournir l'eau et l'oxygène nécessaires à la germination du grain.

Une fois l'étape de trempage appliquée, les grains sont mis en germination. L'apparition de germe entraîne la synthèse d'enzymes (principalement l' α -amylase et la β -amylase) contribuant à la dégradation de l'amidon de l'orge pour produire des glucides (dextrines et maltose). La germination se déroule dans des germoirs, entre 12 et 15°C pendant cinq à sept jours. Le malt est étalé par couches de 10 à 20 cm, traversé par de l'air et retourné deux fois par jours pour assurer l'homogénéité de la température et de l'humidité. À l'issue de cette étape, on obtient du malt dit vert.

La germination est arrêtée par touraillage. Cette étape consiste à sécher les grains grâce au passage d'air chaud (entre 50 à 90 °C). Le taux d'humidité finale du grain est d'environ 4 %. C'est le touraillage qui apporte au malt sa couleur et son arôme (Goemaere et *al.*, 2017 ; Bourre, 2000).

3.3.1.2. Le brassage

Après la préparation du malt vient l'étape du brassage. On distingue également plusieurs phases dans cette étape.

Tout d'abord un concassage du malt séché est réalisé et permet de séparer le contenu du grain de l'enveloppe. La granulométrie du malt peut être maîtrisée : le concassage généralement pratiqué est grossier, on estime en moyenne que le grain doit être écrasé en quatre à cinq morceaux (Goemaere et *al.*, 2017 ; Bourre, 2000).

Suite à cette étape, on procède à un empâtage. Le malt concassé est alors mélangé avec deux à trois fois son volume d'eau chaude dans une cuve d'empâtage. L'empâtage va permettre notamment d'hydrolyser l'amidon contenu dans le malt. Le mélange eau-malt ainsi obtenu s'appelle la maische et peut être chauffé à différents paliers de cuissons. Un premier palier d'environ 15 minutes vers 50°C afin que les protéines complexes insolubles du malt se transforment en acides aminés. Un second palier s'effectue aux alentours de 62°C, il permet la gélatinisation de l'amidon et sa transformation en glucides fermentescibles (dextrose et maltose), utiles pour la fermentation, par l'action enzymatique de la β -amylase. Cette étape dure entre 30 et 45 minutes. Ensuite la maische est élevée entre 68°C et 75°C, à ces températures l' α -amylase intervient et permet cette fois la formation de glucides non fermentescibles (dextrines) qui donneront du corps et de la rondeur à la bière. Cette étape dure entre 30 et 60 minutes. Enfin, intervient le palier d'inhibition des enzymes qui consiste à élever la température à 78°C en fin d'empâtage pendant 10 minutes. La chaleur permet de neutraliser les enzymes et donc de conserver l'équilibre du brassin mais aussi de solubiliser les sucres, améliorant ainsi le rendement du brassage et facilitant le rinçage des drêches (Faiveley, 2010).

Après empâtage, la partie liquide, le moût, est filtrée et les résidus solides, les drêches, sont retenus. Le moût va ensuite être porté à ébullition pendant une à deux heures afin de le stériliser. C'est également lors de cette étape que le houblon est ajouté.

Après ébullition, le moût encore trouble contient des résidus de houblon et de protéines coagulées qui sont séparés du liquide. Le moût passe ensuite rapidement dans un circuit de refroidissement composé d'un échangeur thermique à plaques afin de le mettre à température idéale pour la fermentation. Le moût refroidi est ainsi sensible à toute contamination bactérienne, c'est pourquoi l'hygiène est de rigueur en brasserie (Goemaere et *al.*, 2017 ; Bourre, 2000).

3.3.1.3. La fermentation

- Le processus général

Le moût clarifié est ensemencé avec des levures pour la fermentation. La levure est introduite sous forme liquide préalablement homogénéisée avec un échantillon de moût ou de l'eau stérile (de 15 à 25,106 cellules/mL par hL de moût). Les profils fermentaires des levures diffèrent en fonction des souches. Cette fermentation principale constitue une véritable fermentation alcoolique : les sucres sont transformés en alcool et en gaz carbonique (Faiveley, 2009).

Plusieurs procédés de fermentation sont utilisés. La fermentation haute se déroule à une température ambiante de 14 à 25°C pendant trois à six jours. Les levures *Saccharomyces cerevisiae*, utilisées le plus fréquemment, remontent à la surface des cuves en fin de fermentation. C'est le processus le plus ancien. Les bières de fermentation haute sont appelées "ales". La fermentation basse se déroule à une température comprise entre 5 à 12°C pendant sept à dix jours. Pour cette fermentation, on utilise le

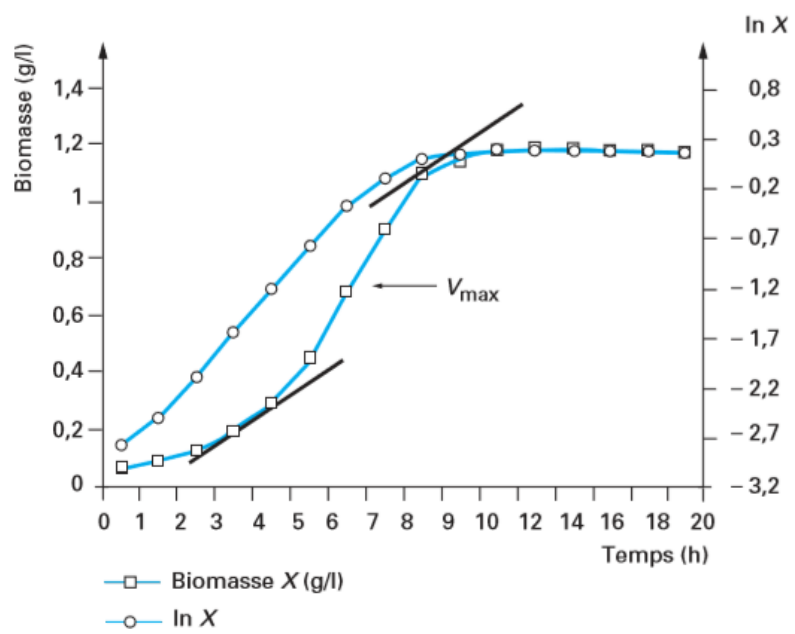


Figure 16 : Cinétique de croissance des levures au cours d'une fermentation alcoolique, et linéarisation mathématique (Faiveley, 2009)

plus souvent les levures *Saccharomyces uvarum* (souche dérivée de *Saccharomyces carlsbergensis*) qui se déposent au fond de la cuve en fin de fermentation. Les cellules se rassemblent en flocons et précipitent progressivement vers le fond du tank d'où elles sont évacuées par pompage vers les tanks de garde. Les bières de fermentation basse sont appelées "lager" (Bourre, 2000). Pour ces deux types de fermentation, il est impératif que l'ensemencement de la levure soit effectué dans des conditions d'hygiène évitant toute contamination (Goemaere et al., 2017).

Il existe également un processus de fermentation spontanée, très spécifique et moins utilisé par les brasseurs. L'ensemencement du moût est plus lent et se fait sans ajout de levures cultivées mais au contact de l'air et de la flore complexe de levures du milieu. Cette technique procure un goût caractéristique au produit final.

- Les levures

Les levures ont un rôle essentiel dans la fermentation alcoolique de la bière mais elles sont aussi indispensables à son goût.

Caractéristiques des levures de brasserie

Les levures de bière appartiennent au groupe des ascosporogènes, famille des saccharomycetaceae, genre *Saccharomyces*. Selon la fonction choisie (fermentation haute ou basse), différentes souches de levures sont sélectionnées. Les principaux critères de sélection pour une levure de brasserie résident dans une fermentation rapide et une bonne conversion du sucre en éthanol. Il est également important de prendre en compte la résistance des levures à l'éthanol (le produit ne doit pas tuer le producteur) et à la pression osmotique (ce qui est important pour les moûts de haute densité), ainsi que la reproductivité des profils aromatiques (Bourre, 2000). Les levures peuvent se présenter sous une forme sèche, dans ce cas il sera nécessaire de les réhydrater avant utilisation, ou sous une forme liquide qui pourra être directement ajoutée au moût.

- Aspects microbiologiques de la levure

Les levures ont un développement dans des conditions normales qui suit un modèle exponentiel. La cinétique de croissance des levures comporte plusieurs phases caractéristiques, comme illustré sur la figure 16.

Lors de la phase de réactivation et de latence, la levure est mise en contact avec son milieu (de l'eau stérile ou le moût) et, si les conditions sont réunies, s'adapte à ce nouvel environnement. Après au moins trente minutes, la colonie de levures commence à se reproduire rapidement dans l'environnement aérobie et le nombre de levures augmente de façon exponentielle. Cette étape de respiration et de reproduction permet d'obtenir une population suffisante pour permettre la fermentation primaire, aussi appelée fermentation alcoolique. Celle-ci débute généralement deux jours après l'ensemencement lorsque tout l'oxygène dans le moût a été consommé. Les levures consomment alors les sucres fermentescibles pour produire de l'alcool et du dioxyde de carbone.

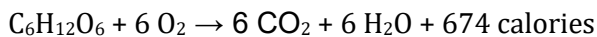
Lors de la garde, soit après deux à cinq semaines, une fermentation secondaire est mise en place. Les nutriments dans le milieu se raréfient, ce qui est caractérisé par une phase stationnaire de développement des levures. Peu à peu, elles vont sédimenter au fond de la cuve ou remonter en surface (Faiveley, 2009).

- Aspects biochimiques : la fermentation alcoolique

La fermentation d'un moût de brasserie en bière constitue un ensemble de phénomènes biochimiques complexes. Ils font intervenir de multiples métabolismes propres à la levure qui utilisent les sucres, les acides aminés, les peptides, les lipides. Les principales conséquences sont la transformation des sucres en éthanol, la production de gaz carbonique ainsi que la production de composés aromatiques, comme des alcools supérieurs, des acides, des esters et bien d'autres constituants (Bourre, 2000).

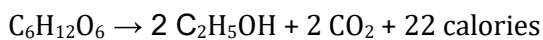
En milieu aérobie, la levure utilise le glucose pour sa respiration. Elle produit de l'énergie pour sa croissance, selon l'équation bilan :

sucres + oxygène → gaz + eau + énergie



En milieu anaérobie comme c'est le cas lors de la fabrication de la bière, la levure pratique la fermentation alcoolique. Lors de cette fermentation, le sucre est transformé en alcool et en CO₂ selon la formule :

Sucres → alcool + gaz + énergie



Le glucose et les autres oses fermentescibles (maltotriose, maltose, saccharose, fructose) sont fermentés après avoir été coupés en monosaccharides. Cependant tous les sucres ne sont pas fermentescibles et ceux-là auront pour but de sucrer la bière naturellement (Goemaere et al., 2017).

3.3.1.4. La garde

Après la première fermentation, la bière est transférée en cave de garde à une température proche de 0°C. Débute alors une fermentation secondaire plus lente que la précédente. C'est la période de mûrissement ou maturation, au cours de laquelle la bière s'affine et développe son goût et son pétillant. Lors de cette étape, il y a décantation des matières en suspension, dont les levures. La maturation dure de trois à six semaines. Une ultime filtration de la bière peut être réalisée pour éliminer les levures et le léger trouble qui subsiste.

Avant conditionnement, du sucre ou de nouvelles levures peuvent être ajoutées à la bière pour une refermentation en bouteilles. Une saturation en CO₂ peut également être réalisée pour augmenter la pétillance du produit final. La bière est ensuite soutirée, c'est-à-dire mise en bouteille ou en fût.

3.3.1.5. Contrôles analytiques du produit

La finalité des analyses effectuées est différente ; certaines sont des aides à la décision en cours de fabrication, d'autres sont réglementaires ou incontournables pour apprécier la qualité et la stabilité des boissons.

La couleur est un critère de classification des bières, calculée en EBC par spectrophotométrie et prend en compte la coloration moyenne du mélange de malt utilisé.

Le pH est un paramètre important en brasserie puisqu'il conditionne l'activité amylasique des malts pendant l'empâtage, et qu'il est responsable de la décantation des protéines (l'insolubilisation des protéines étant maximale à pH = pHi = 5,2). En cours de brassage le pH doit être proche de 5,6 ; pendant

l'ébullition la libération d'acides contenus dans le houblon explique l'acidification, idéalement vers 5,2. Le suivi et la correction du pH peut être un moyen d'optimiser des recettes.

La densité du moût est une analyse qui permet de vérifier l'hydrolyse de l'amidon au cours de l'empâtage.

Le sucre plus dense que l'eau donne de l'alcool moins dense que l'eau, ce qui explique qu'au cours de la fermentation des sucres, la densité du moût va diminuer. C'est cette densité qui va servir de mesure pour contrôler la progression de la fermentation. Cette mesure est exprimée en pourcentage de la diminution de la densité (Bourre, 2000).

L'amertume : les acides α responsables de l'amertume sont hydrophobes, ils sont extraits par un solvant hydrophobe (alcane) puis analysés par spectrophotométrie (ils possèdent une absorbance directe à une longueur d'onde de 275 nm). Ce dosage permet de valider le taux d'extraction d'acides α en cuve d'ébullition.

Le dosage de diacétyl : effectué par spectrophotométrie grâce à une gamme d'étalonnage, ce dosage permet de vérifier la maturité du produit. La réduction du diacétyl en acétoïne par les levures pendant la garde est essentielle pour procéder au conditionnement. Les quantités de diacétyl sont de 1 à 1,5 mg/L en début de garde pour atteindre des valeurs inférieures à 0,1 mg/L.

Le dosage d'alcool : plusieurs techniques peuvent être utilisées, dosage d'alcool par ébulliométrie (le point d'ébullition est corrélé avec la teneur en alcool), spectrophotométrie (plus précise), ou calcul par des appareils de routine (fermentostar) mesurant la variation de volume à différentes températures pour le calcul du taux d'alcool.

La teneur parfois élevée en dextrines peut poser problème pour l'ébulliométrie, il convient alors de diluer l'échantillon ou d'effectuer un étalon aux mêmes teneurs de dextrines.

Des contrôles microbiologiques peuvent également être réalisés pour caractériser des contaminants lactiques ou levuriens à l'origine d'un défaut organoleptique. Enfin, un contrôle sensoriel passant par la vue, le nez et le goût donnent un résultat sur l'appréciation de la boisson. D'une façon générale la recherche d'arômes reste coûteuse et par conséquent marginale.

3.3.2. Processus d'acidification

3.3.2.1. Fermentation spontanée

La fermentation spontanée/contamination naturelle est généralement obtenue par refroidissement à l'air libre, dans un système de refroidissement nommé « coolship » où le moût est exposé à l'air extérieur puis laissé à refroidir naturellement durant la nuit. A ce moment, des levures et bactéries autochtones envahissent le moût.

Dans la vision la plus romancée de la fermentation spontanée, les microorganismes inoculés dans le moût dans le refroidisseur proviennent exclusivement de l'environnement ambiant extérieur de la brasserie. Des publications scientifiques ont suggéré que, dans le cas de certains producteurs, ces microorganismes pourraient être présents dans la salle de brassage (Bokulich *et al.*, 2012). Ceci est visible par la réticence des brasseurs de lambic à modifier ou investir dans de nouvelles installations (réaménagement, déménagement, peinture, etc.). Ceux-ci pulvérisent leurs propres lambics sur les murs des nouveaux bâtiments afin de recréer le « même environnement » (Brasserie Castillon, 2015).

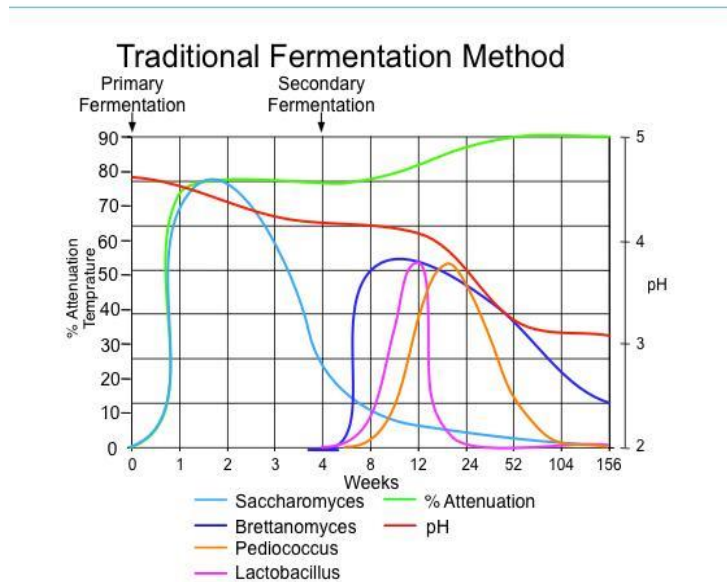


Figure 17 : Graphique conceptuel de la dynamique des microorganismes pour la méthode traditionnelle.

Note : L'axe Y pour chaque groupe de microorganismes représente l'activité relative qui se combine dans un sens conceptuel : croissance, acidification du goût, atténuation et production de composés aromatiques.

Parcelle de terrain dessinée par Drew Wham à partir des concepts discutés dans American Sour Beer (Tonsmeier 2014) et Wild Brews (Sparrow 2005).

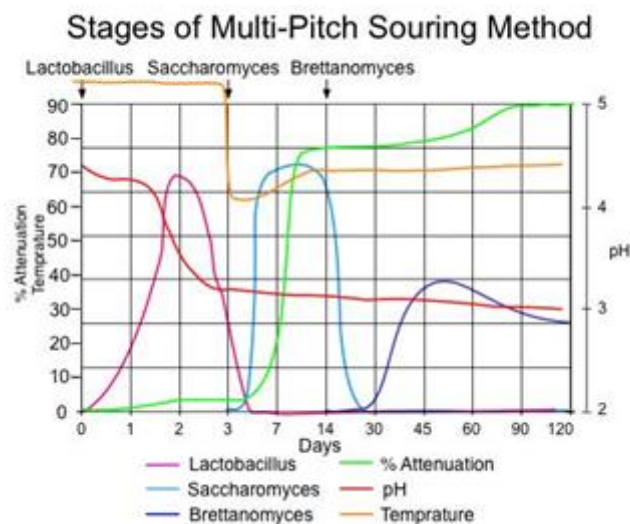


Figure 18 : Graphique conceptuel de la dynamique des microorganismes pour la méthode moderne.

Note : Parcelle de terrain dessinée par Drew Wham à partir des concepts discutés dans American Sour Beer (Tonsmeier 2014) et Wild Brews (Sparrow 2005).

Les microorganismes responsables de la fermentation spontanée peuvent également provenir des fûts qui sont souvent utilisés pour contenir la bière en fermentation, en particulier si les fûts n'ont pas été nettoyés rigoureusement (Spitaels *et al.*, 2015).

Le refroidissement et l'inoculation simultanés à l'air libre s'effectuent pendant la nuit, durant 8 à 12 heures. Un jour entier pourrait conduire à la croissance de moisissures (Jester King Brewery, 2017).

- Contamination

Clostridium botulinum peut se développer dans la plage de pH typique du moût non fermenté et non acidifié et ses spores peuvent survivre au processus d'ébullition.

Le houblon a des propriétés antimicrobiennes contre les bactéries à Gram positif, ce qui est le cas de *Clostridium botulinum*. (Sakamoto, Konings, 2003)

La succession microbienne de la bière de fermentation spontanée ne se généralise pas. Le nombre d'espèces différentes que l'on trouve dans les bières lambics et les bières à fermentation spontanée est très grand et varie d'une brasserie à l'autre. Cela rend le processus difficile à contrôler.

La fermentation spontanée donne la plus grande diversité de microorganismes dans le moût, y compris en dehors des souches classiques de *Saccharomyces*, *Brettanomyces*, *Pediococcus* et *Lactobacillus*. Cette grande diversité permet de produire des bières parmi les plus complexes du monde, mais aussi des produits imbuables.

Ce caractère aléatoire et peu reproductible encourage certains brasseurs à opter pour des techniques plus contrôlées. Ce plus grand degré de contrôle peut limiter une partie du risque de résultats médiocres et permet à un brasseur d'obtenir la bière qu'il souhaite. Il faudra alors décider du degré de risque qu'il est prêt à prendre et du type de produit final qu'il recherche pour déterminer la technique qui lui convient.

3.3.2.2. Fermentation mixte

La fermentation mixte fait référence au processus d'acidification intervenant pendant l'étape de fermentation primaire. Généralement, on incorpore une culture qui contient davantage que du *Saccharomyces*, originellement utilisée pour la fermentation primaire. Il s'agit souvent de cultures mixtes contenant *Brettanomyces*, *Saccharomyces*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, ou d'autres microorganismes.

Dans la méthode de fermentation traditionnelle ou dite longue, la disponibilité des glucides pour des microorganismes particuliers permet à l'activité de ceux-ci de se produire dans une succession naturelle selon leur niveau de compétitivité pour les ressources métaboliques (figure 17).

Dans la méthode de fermentation courte, le brasseur contrôle les phases de l'activité microbienne. Cela permet au brasseur d'introduire en premier lieu, dans le moût, les microorganismes les moins compétitifs, ce qui lui permet d'agir sur les glucides les plus simples et d'établir sa population en l'absence de microorganismes plus compétitifs (figure 18).

Puisque les phases sont contrôlées par le brasseur, il n'est pas nécessaire d'utiliser les sucres à plus longue chaîne qui sont généralement inclus dans le moût conçu pour une fermentation longue, car les microorganismes à plus faible capacité concurrentielle sont déjà établis dans la bière au moment où les microorganismes plus compétitifs sont introduits.

L'ordre de l'activité microbienne primaire dans la méthode de fermentation courte est donc souvent le contraire de l'ordre généralement observé dans la méthode de fermentation longue.

De plus, cette approche permet au brasseur de maintenir des profils de température optimaux pour chaque phase microbienne. Pour cette raison, la bière peut se faire complètement dans les 3 à 4 semaines suivant son inoculation finale. Un certain nombre de réactions biochimiques qui affectent la saveur et l'arôme peuvent encore se produire pendant des semaines, des mois ou même des années, cependant, la plupart de ces réactions n'impliquent pas la production de dioxyde de carbone et peuvent avoir lieu dans la bouteille.

Dans cette méthode dite moderne, on perd le côté naturel d'un mélange de levures et de LAB (Lactic Acid Bacteria) inoculés simultanément. Seule la méthode traditionnelle se veut réellement être une fermentation mixte, dans le sens strict.

3.3.2.3. Sour mashing

Le procédé de Sour mashing vise à acidifier la bière avant la fermentation primaire, en ajoutant des bactéries lactiques dans la maische. La maische désigne le mélange de céréales concassées et d'eau contenu dans la cuve lors de l'empâtage. Elle diffère du moût qui est le nom donné au jus sucré obtenu après l'opération d'empâtage et de filtration de la maische.

Traditionnellement, les brasseurs allemands obtenaient l'acidité en ajoutant du malt non concassé durant leur empâtage, l'écorce du malt apportant la bactérie lactique (*Lactobacillus*) nécessaire.

Le brassage est classique jusqu'à l'étape de l'empâtage. Cette étape permet aux germes contenus dans les grains d'activer leurs enzymes, et donc à l'amidon de se transformer en sucre. Après cette étape, la maische est refroidie à environ 50°C, et les bactéries lactiques sont inoculées.

Puis, pour favoriser la croissance des lactobacilles par rapport aux autres microorganismes indésirables, il est important que la maische soit maintenue en anaérobiose et incubée au chaud (idéalement 45-50°C) pendant toute la durée du sour mashing.

Les sour mash dure généralement entre 12 heures et 3 jours. Une fois que la maische a atteint l'acidité désirée, le moût est séparé du grain, c'est l'équivalent de l'étape traditionnelle de filtration, et suit l'étape de l'ébullition et la fermentation. Ces étapes sont semblables aux brassages traditionnels.

Le pouvoir tampon de la maische est plus élevé que celui du moût en raison du grain. Ceci a un effet positif sur la croissance des bactéries lactiques. Certaines publications scientifiques ont constaté une légère augmentation de la croissance cellulaire de *Lactobacillus* lorsqu'ils sont incubés dans une maische plutôt que lorsqu'ils sont dans un moût. Cependant, en raison d'une concentration beaucoup plus élevée en sucre et du pouvoir tampon de la maische par rapport au moût, moins d'acide lactique a été produit. En effet, les bactéries lactiques ont plus de difficulté à métaboliser de l'acide lactique dans cet environnement car elles sont moins bien adaptées aux concentrations élevées en sucre (Peyer et al., 2017).

L'utilisation de houblons peut être faite sans problème. Les bactéries lactiques ne supportent pas les acides α mais ici comme l'acidification est faite lors de l'empâtage, l'ajout de houblons lors de l'ébullition peut se faire sans inconvénients.

L'exécution d'un sour mashing est similaire au wort souring dans la mesure où les deux techniques impliquent l'acidification sur produit avec des bactéries lactiques avant la fermentation primaire.

De nombreux brasseurs de bières acides préfèrent le wort souring parce qu'ils ont plus de contrôle sur les saveurs produites qu'avec le sour mashing, de par le travail sur un liquide plutôt qu'un solide.

3.3.2.4. Sour wort

Ce procédé vise à acidifier la bière avant la fermentation primaire, en ajoutant des bactéries lactiques dans le moût.

Lors de l'acidification du moût, certains brasseurs abaissent d'abord le pH du moût à moins de 4,5 avant de lancer les *Lactobacillus*. Cela aide à protéger le moût des microorganismes contaminants.

- Souring in the Boiler (kettle Sour)

Le processus de brassage est le même que pour toutes bières classiques jusqu'à l'étape d'ébullition. Les températures du palier d'empâtage ne sont pas suffisantes pour pasteuriser complètement le moût (Vaughan *et al.*, 2005 ; Bokulich *et al.*, 2015 ; Bamforth *et al.*, 2013). Par conséquent, la meilleure approche consiste à chauffer le moût pendant une courte période d'ébullition (1-2 minutes) afin de détruire un maximum (2-3 logs de plus) de microorganismes thermotolérants (Sour Beer Blog, 2015).

Une fois que tout le moût est recueilli après courte ébullition, le moût est refroidi selon la culture de LAB utilisée. Le moût est ensuite inoculé. Le houblon ne doit être ajouté à aucun moment, car la plupart des espèces de *Lactobacillus* seront inhibées par la présence de très petites quantités de houblon. Maintenir la température entre 35-40°C encouragera les lactobacilles à activer leur métabolisme et limitera le développement d'autres bactéries. La constance de la température est donc essentielle durant ce processus. Selon la souche de *Lactobacillus* et le niveau d'acidité désiré, le temps d'incubation est finalement une variable qui dépend du brasseur.

Une fois le niveau d'acidité atteint, le moût est porté à ébullition. La pasteurisation à la chaleur à 100°C pendant 60 minutes détruira les espèces de *Lactobacillus* et les bactéries pathogènes, même les plus thermorésistantes (Milk The Funk Wiki, s.d.). Il faut noter qu'en faisant bouillir un moût acide dont le pH est inférieur à 5,0, on diminue le taux de coagulation des protéines, ce qui peut entraîner une bière plus trouble ou mener à avoir plus de sédiments dans la bouteille finale.

L'ajout de houblons se produit à cette période. On sait que toutes bactéries lactiques sont dénaturées par l'ébullition. L'ajout de houblons ne pose donc plus de problème, même avec un IBU élevé, l'acidification ayant déjà eu lieu. Une fois le moût acide ébouillanté, il peut être ajouté en toute sécurité dans le récipient de fermentation primaire sans crainte d'infections futures. Ensuite, les levures peuvent être inoculées normalement.

À un pH de 3,4 ou moins, l'acidité du moût peut affecter la fermentation de certaines souches de levure de bière (The Mad Fermentationist, 2016). Par exemple, une étude publiée a montré que la croissance des US-05 était de 82 % à un pH de 3,51 et de 53 % à un pH de 3,17. La fermentation a été retardée de 2 à 4 jours (plus le pH est bas, plus le début de la fermentation est retardé).

Maillard et diverses réactions de brunissement conduisent à un brunissement de la bière en général. Ces réactions sont liées à la fois à la température et au pH. Un pH bas prévient ces réactions et donnera une bière de couleur plus légère quantitativement à une bière témoin qui n'est pas acidifiée (Peyer *et al.*, 2017).

3.4. Formulation et définition du processus de fabrication

3.4.1. Choix de la méthode d'acidification

Parmi les quatre méthodes énumérées précédemment, nous avons choisi la méthode la mieux adaptée à ce que nous visons, ainsi qu'aux contraintes de temps et de matériel, auxquelles nous devons faire face.

Nous voulions une bière avec une fermentation rapide (par fermentation nous entendons le processus d'acidification, de fermentation primaire et secondaire) et une méthode relativement simple à mettre en œuvre au vu de notre matériel de brassage traditionnel déjà possédé.

Cela nous permet d'emblée d'éliminer la fermentation spontanée, cette fermentation nécessitant des années d'expériences pour appréhender tous les caractères complexes qui découle d'une bière de type lambic. De plus nous souhaitons avoir des bières normalisées en fin de production et ce type de fermentation, bien que riche en goût, ne nous permet pas de contrôler tous les paramètres de la fermentation.

Un autre point critique est la totale maîtrise des microorganismes venant contaminer le moût. Or, l'endroit que nous occupons pour brasser n'est pas un espace dédié à cela en premier lieu, et les fluctuations de foule ne sont pas maîtrisées.

Compte tenu du temps imparti, la méthode traditionnelle de la fermentation mixte est à prohiber également. En effet, il faut attendre deux mois pour espérer atteindre un début d'acidification.

La méthode courte quant à elle pourrait être efficace en un minimum de temps. Mais cette méthode demande beaucoup de surveillance pour estimer le bon moment pour inoculer. En effet, il est important d'atteindre l'activité optimale de tous les microorganismes et de ne pas induire une compétition entre microorganismes sans que le paramètre à faire évoluer ne soit totalement atteint.

Il ne reste plus alors que deux méthodes : l'acidification par la maische ou par le moût.

L'exécution d'un sour mashing est similaire au wort souring dans la mesure où les deux techniques impliquent l'acidification avec des bactéries lactiques avant la fermentation primaire. Au niveau du matériel celles-ci sont simples à mettre en œuvre. Elles sont toutes les deux rapides, et permettent l'ajout de houblon en fin d'ébullition sans empêcher l'acidification, les bactéries lactiques ayant déjà réalisé la fermentation lactique.

L'unique différence entre ces deux techniques réside dans le moment où on inocule les bactéries.

Nous avons donc préféré le wort souring (qui comprend le kettle souring) pour le meilleur contrôle sur les saveurs produites, de par l'inoculation dans un liquide plutôt qu'un solide ce qui en fait un meilleur milieu de développement des bactéries car plus uniforme. De plus la mise en étuve, le maintien de la température et l'aspect pratique font que nous avons choisi cette dernière technique.

3.4.2. Choix des matières premières

3.4.2.1. Eau

Comme nous l'avons constaté avec nos recherches bibliographiques, le choix de l'eau de brassage et de sa composition minérale peut avoir un impact sur le goût du produit fini. Toutefois dans le cadre de développement de notre bière acide nous nous sommes davantage concentrés sur le choix des houblons

et des lactobacilles et avons décidé d'utiliser de l'eau du réseau. Ainsi le choix d'une autre eau de brassage pourra constituer une piste d'amélioration pour affiner le goût de notre bière.

3.4.2.2. Céréales

Nous voulions une bière claire et relativement neutre pour laisser le côté acide s'exprimer. Ces caractéristiques sont davantage corrélées à la représentation que nous nous faisons de la bière acide, à savoir une bière estivale et légère.

Pour obtenir une bière claire il faut choisir des céréales à faible taux d'EBC telles que le Pils ou le blé avec leur valeur de 3 en EBC. Ce dernier est aussi utilisé pour améliorer la rétention de mousse, chose désirable dans notre produit.

Cependant les qualités organoleptiques avec ce genre de céréales sont très faibles, et la bière risquerait de ne pas obtenir les saveurs escomptées. Pour cela nous devons ajouter des céréales avec un fort potentiel de saveurs, tout en faisant attention au taux d'EBC, pour ne pas obscurcir le moût.

Le malt munich est reconnu par les brasseurs pour son apport exceptionnel en goût d'une part et en pouvoir enzymatique d'autre part. Et avec ses 15 d'EBC c'est un très bon candidat. Couplé au malt caramel, ce choix dans notre recette amènera du mou, de la rondeur et un côté suave à notre bière.

La seule composante qui diffère face à une recette classique est le pH du moût. En effet avec le kettle sour, il est préférable que le moût soit déjà à un pH acide afin de défavoriser d'autres bactéries présentes (e.g. apportées dans les céréales). La plupart des brasseurs se servent d'acide phosphorique qu'ils versent directement. Nous voulions garder un côté "naturel" et se servir de malt acide dans notre composition de recette pour acidifier le moût.

3.4.2.3. Houblon

Le premier critère de sélection était la quantité d'huiles essentielles (désirée élevée) de sorte à obtenir une bière riche en arômes. Nous avons ensuite regardé la composition de ces huiles pour sélectionner des houblons fruités et/ou floraux. Nous nous sommes enfin attardés sur la composition en acides α (désirée faible) afin de minimiser l'amertume.

A partir de ces critères, nous avons sélectionné trois variétés à tester séparément :

- Cascade : arômes d'agrumes, de fruits et d'herbes ;
- Citra : arômes de citron, d'agrumes et de litchi ;
- Mandarina Bavaria : arômes de mandarine et de raisin.

3.4.2.4. Bactéries lactiques

Au vu des recherches bibliographiques, nous avons choisi d'acidifier notre bière avec des bactéries lactiques du genre *Lactobacillus*.

Le CIRM nous a très généreusement proposé la mise à disposition de quatre souches (*L. plantarum*, *L. helveticus*, *L. acidophilus* et *L. delbrueckii*). Nous en avons sélectionné deux (*L. plantarum* BIA 653 et *L. delbrueckii* BIA 227), la première pour sa température optimale de croissance inférieure aux autres, et la seconde pour son métabolisme des glucides homofermentaire.

Ces souches n'ayant jamais été testées à des fins de production alimentaire, nous avons souhaité maximiser nos chances en testant en parallèle deux souches commerciales (*L. plantarum* dite Sour Pitch

de Lallemand et *L. buchneri* 5335 de Wyeast Lab). Ces souches ont été sélectionnées parmi celles disponibles sur le marché en fonction de leur température optimale de croissance (autour de 30 °C) puisque nous voulions des conditions favorables au succès des souches du CIRM et que nous ne disposerions que d'une étuve lors de la fermentation acidifiante.

3.4.3. Calcul des quantités des matières premières

Le volume de produit fini visé était de 1,5 L par essai, soit 18 L au total. Ce volume a été fixé en tenant compte du matériel disponible.

Les pertes possibles de produit au cours du processus de fabrication ont été identifiées :

- Rétention du moût par les drêches lors du rinçage et de la filtration (couramment estimée à 1 L/kg de céréales, élevée à 1,5 L du fait du matériel peu adapté) ;
- Rétention du moût par le houblon après houblonnage (négligeable) ;
- Évaporation lors de l'ébullition (des couvercles étant prévus, nous établissons 2,5 L au total par sécurité) ;
- Perte matière lors des transferts de contenants (volume de 1 L établi par sécurité).

Ainsi, le volume d'eau total est donné par la formule suivante :

$$V_{eau} = V_{produit\ fini} + Volume\ de\ sécurité + 1,5 * m_{céréales}$$

Avec $V_{produit\ fini} = 18\text{ L}$; $Volume\ de\ sécurité = 3,5\text{ L}$; $m_{céréales}$ en kg.

Le ratio d'empâtage, c'est-à-dire la masse de céréales sur le volume d'eau d'empâtage, est généralement compris entre 2,5 et 3,5. Les bières acides présentes sur le marché sont relativement faibles en alcool. Afin de se démarquer, nous avons fixé un ratio d'empâtage haut pour maximiser la conversion des sucres en sucres fermentescibles utilisables par les levures :

$$V_{empâtage} = m_{céréales} * 3,5$$

Le volume de rinçage correspond au volume manquant pour atteindre le volume total d'eau :

$$V_{rinçage} = V_{eau} - V_{empâtage}$$

3.4.3.1. Céréales

Pour apporter la quantité suffisante de sucres fermentescibles et d'enzyme à notre bière nous devons utiliser un fort pourcentage relatif de malt de base, nous avons choisi le malt Pils, facile à se procurer.

Comme énoncé auparavant, il nous fallait ajouter du malt acide. Nous avons utilisé un site (Brewersfriends) permettant de nous donner le pH visé du moût en fonction de la composition de notre base céréalière. Rappelons que nous souhaitons un pH de 4,5, c'est une norme pour brasser via kettle sour.

Les quantités des autres malts ont été choisies en fonction du goût qu'ils apportent.

Ici l'expérience des brassages effectués à La Ruée Vers L'Orge, association de brassage étudiante, a primé.

Nous voulions, à la base, une bière avec une rétention de mousse accentuée. Nous avons alors choisi un taux de blé de 8 %, de par l'expérience d'anciennes recettes effectuées au sein de l'association.

Tableau 3 : Composition de la base céréalière (source auteurs)

Type de malt	Part de la base céréalière (%)
Malt Pilsner	75
Malt acide	12
Malt de blé	8
Malt Caramunich	4

Tableau 4 : Volumes d'inoculation des bactéries lactiques pour chaque souche (source auteurs)

Volume totale de solution (en L)	Volume de souche introduite (en L)	Volume de moût (en L)
5,000	0,100	4,900
0,750	0,015	0,735
0,250	0,005	0,245

Nous avons finalement ajouté du malt Caramel pour la différence afin d'apporter de la rondeur à notre produit final. Le tableau 3 présente la composition de notre base céréalière.

3.4.3.2. Houblon

La quantité de houblon a été définie en se basant sur l'amertume.

Nous souhaitons obtenir une bière peu amère mais riche en arômes de houblons. Suite aux recherches bibliographiques, nous avons ciblé un ratio d'amertume de 0,5 s'approchant du style Pale Ale.

Après calcul pour chaque variété de houblon selon sa composition, nous avons obtenu les concentrations suivantes (un houblon par essai) :

- Houblon Cascade : 1,67 g/L ;
- Houblon Citra : 0,83 g/L ;
- Houblon Mandarina Bavaria : 1,33 g/L.

3.4.3.3. Bactéries lactiques

- Revivification

Les quatre souches bactériennes testées se présentent sous des formes différentes : les deux souches du CIRM (*Lactobacillus delbrueckii lactis* et *Lactobacillus plantarum*) étaient lyophilisées et congelées, la souche Sour Pitch (*Lactobacillus plantarum*) était lyophilisée et la souche *Lactobacillus buchneri* 5335 Wyeast Labs était sous forme liquide. Afin de normaliser au maximum les cultures, elles ont toutes été revivifiées dans les mêmes conditions, soit selon la méthode de deux repiquages successifs dans un milieu MRS.

D'après les indications des souches commerciales, la souche Sour Pitch et la souche *Lactobacillus buchneri* 5335 Wyeast Labs reçues compteraient 10^{11} cellules viables par gramme. De plus pour la préparation, il est indiqué d'utiliser 10 g de bactéries commerciales (sèches et liquides) par hectolitre de moût àensemencer, soit 100 mg par litre et ainsi obtenir une concentration de 10^{10} cellules par litre. D'après les indications du CIRM, les bactéries compteraient une population de 10^{10} /ml. Souhaitant inoculer 6 L de moût par souche, 125 mL de chaque souche revivifiée a été préparé à partir de 12,5 mg de produit initial.

Le temps accordé aux essais étant restreint, il a été décidé d'inoculer l'ensemble des souches à hauteur de 2 % dans le moût, un dénombrement ultérieur nous permettant de déterminer la quantité de bactéries inoculées exactement.

- Inoculation

L'ensemble des contenants (flacons shots) ont préalablement été autoclavés afin de limiter les contaminations bactériennes. Une fois le moût refroidi (voir étapes de fabrication) il est introduit dans les récipients. Chaque souche est inoculée dans 6 L de moût. Pour des raisons pratiques, ce volume est divisé en 5 L, 0,75 L et 0,25 L. L'inoculation est réalisée à hauteur de 2 % de la façon présentée dans le tableau 4.

- Dénombrement

Le dénombrement des souches bactériennes revivifiées est réalisé selon la méthode décrite en annexe VII. Des dilutions décimales sont réalisées dans des tubes de 9 mL de tryptone sel (de 10^{-1} à 10^{-8})

Tableau 5 : Répartition des houblons dans les différentes solutions (source auteurs)

Nom de la solution	Houblon	Souche
S1H1	Cascade	<i>Lactobacillus Plantarum</i> (CIRM BIA 653)
S1H2	Citra	<i>Lactobacillus Plantarum</i> (CIRM BIA 653)
S1H3	Mandarina Bavaria	<i>Lactobacillus Plantarum</i> (CIRM BIA 653)
S2H1	Cascade	<i>Lactobacillus Delbrueckii</i> (CIRM BIA 227)
S2H2	Citra	<i>Lactobacillus Delbrueckii</i> (CIRM BIA 227)
S2H3	Mandarina Bavaria	<i>Lactobacillus Delbrueckii</i> (CIRM BIA 227)
S3H1	Cascade	Sour Pitch (Commerciale)
S3H2	Citra	Sour Pitch (Commerciale)
S3H3	Mandarina Bavaria	Sour Pitch (Commerciale)
S4H1	Cascade	<i>Lactobacillus</i> 5335 Wyeast Labs (Commerciale)
S4H2	Citra	<i>Lactobacillus</i> 5335 Wyeast Labs (Commerciale)
S4H3	Mandarina Bavaria	<i>Lactobacillus</i> 5335 Wyeast Labs (Commerciale)

puis 1 mL de chaque dilution est ensemencé en masse dans une gélose MRS. Le dénombrement est effectué après incubation à 35°C pendant 24 heures.

3.4.4. Phase expérimentale

La première partie du processus de fabrication correspond à la préparation du moût et à son inoculation avec les bactéries lactiques. Avant toute manipulation, il est important de nettoyer et désinfecter l'ensemble du matériel qui est nécessaire au brassage.

La cuve d'empâtage est d'abord remplie avec 15,23 L d'eau. L'eau est chauffée jusqu'à atteindre une température de 70°C et maintenue à température. De la même façon, 14,29 L d'eau sont chauffés dans la cuve de rinçage jusqu'à atteindre une température de 74°C. En parallèle, les différents malts sont pesés (4,575 kg) et concassés de sorte à avoir peu de farines et que les grains soient brisés en trois ou quatre morceaux. Le tout est ensuite placé dans un sac de brassage. Une fois noué, celui-ci est introduit dans la cuve d'empâtage : la solution doit être maintenue à 70°C pendant une heure. A l'issue de l'heure d'empâtage, le sac de brassage est rincé au-dessus de la cuve d'empâtage avec l'eau de la cuve de rinçage. Les drêches sont écartées de la cuve et le moût est porté à ébullition pendant deux minutes, puis refroidi rapidement à l'aide d'un échangeur à plaque. Il est ensuite séparé dans des flacons shots de différentes contenances pour l'inoculation : 4 x 5,00 L, 4 x 0,75 L et 4 x 0,25 L. Les flacons shots sont identifiés, et chacune des quatre souches est inoculée dans un flacon de chaque volume (tableau 4). Les flacons de 0,25 L de solution servent aux différents tests de suivi de la fermentation. Les contenants sont ensuite placés dans une étuve à 37°C pendant 48 h. Durant cette période, un suivi de l'acidité et du pH est effectué régulièrement en suivant le protocole en annexe IX. Après 48 h d'étuvage pour permettre le développement des bactéries, le pH souhaité dans le milieu (aux alentours de 3,7) est atteint : débute alors la deuxième partie du brassage.

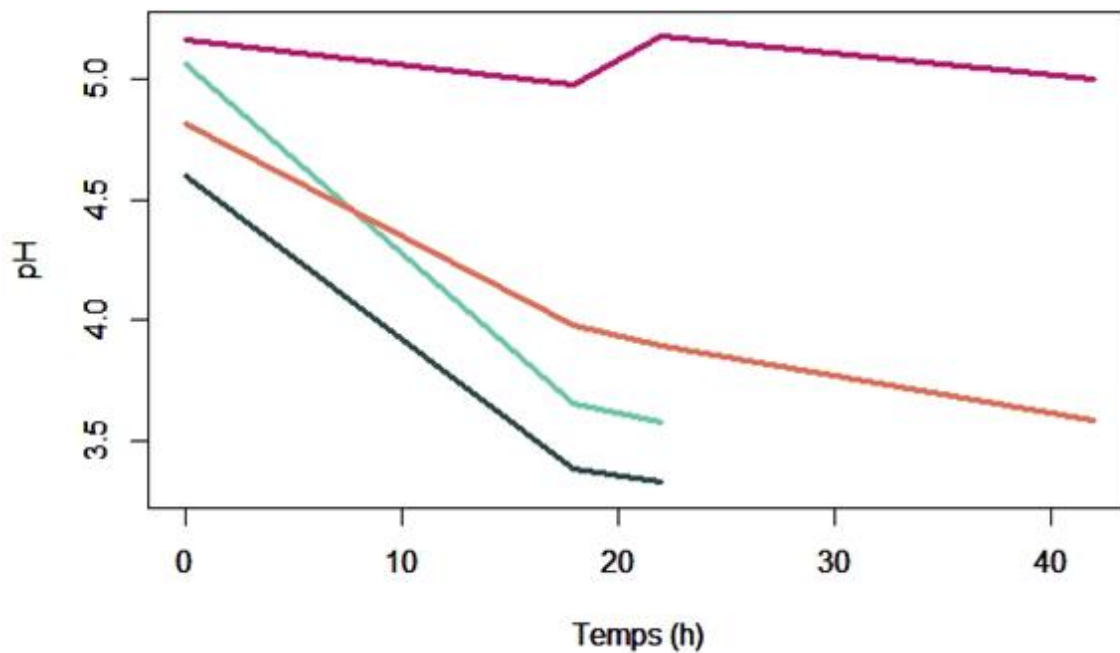
Les moûts inoculés avec les mêmes souches sont séparés dans des casseroles en trois volumes identiques (2 L environ) afin d'obtenir 12 solutions identifiées. Séparément, chaque solution est portée à ébullition pendant une heure. Un quart d'heure avant la fin de l'ébullition, le houblon est ajouté au moût de façon à ce que les trois houblons soient introduits séparément comme présenté dans le tableau 5. Finalement, chaque houblon est introduit dans chaque moût inoculé avec une souche différente.

A la fin de l'ébullition, les solutions sont refroidies à 20°C avant d'être inoculées par les souches de levure *Saccharomyces cerevisiae*. Les différentes solutions sont placées dans des flacons shots fermés hermétiquement et surmontés de barboteurs. Débute alors la fermentation alcoolique : elle dure 21 jours à une température de stockage comprise entre 18 et 20°C.

A l'issue de cette fermentation, 6 g/L de sucre sont ajoutés aux milieux avant l'étape de mise en bouteille : six bouteilles de chaque solution sont obtenues. Elles sont stockées entre 18 et 21°C afin de permettre la refermentation en bouteille. Après 14 jours, l'ensemble est placé au froid pour la dégustation.

3.5. Résultat des expérimentations

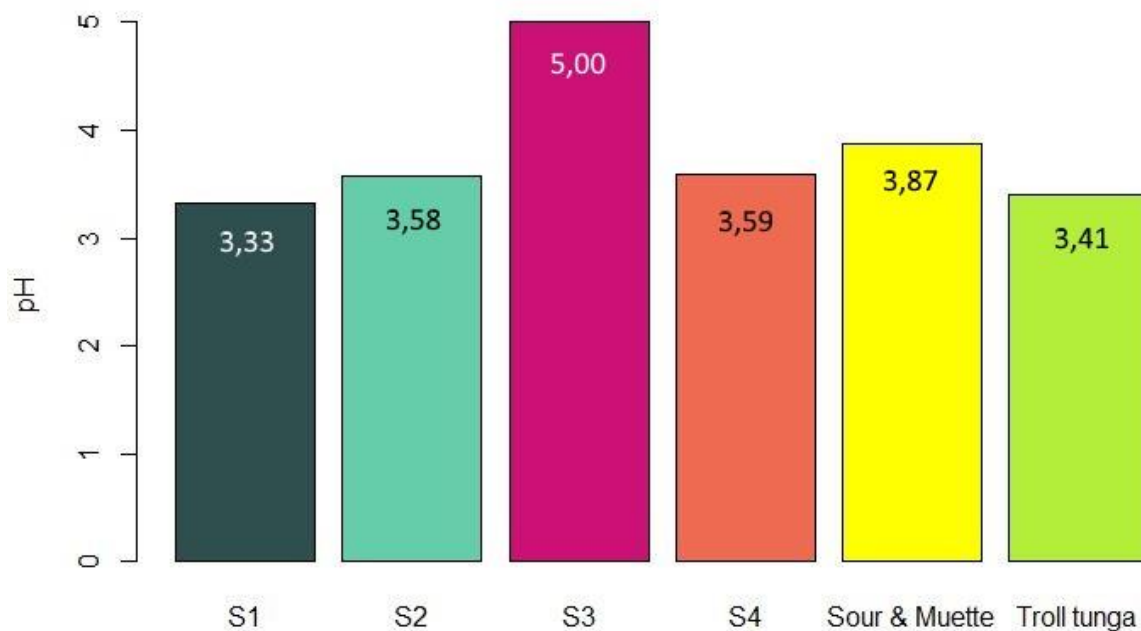
Au cours de la fermentation lactique, le pH et l'acidité titrable totale ont été mesurés de sorte à arrêter cette fermentation une fois les valeurs cibles obtenues. Ces mesures ont été réalisées au temps 0, après 18 h, 22 h et 42 h de fermentation. Les mesures cibles ont été définies en effectuant ces mêmes analyses sur deux bières commerciales qui nous avait plu, la Sour & Muette de la brasserie La Musse et la Trolltunga des brasseries Buxton et Lervig. Il a finalement été décidé de se fier uniquement au pH car l'acidité totale des deux bières commerciales différait de 38 mL.



Légende :

- S1 : *Lactobacillus plantarum* BIA 653 (CIRM)
- S2 : *Lactobacillus delbrueckii lactis* BIA 227 (CIRM)
- S3 : *Lactobacillus plantarum* Sour Pitch (Lallemand)
- S4 : *Lactobacillus buchneri* 5335 (Wyeast Lab)

Figure 19 : Évolution du pH par essai au cours de la fermentation lactique (Source auteurs)



Légende :

- S1 : *Lactobacillus plantarum* BIA 653 (CIRM)
- S2 : *Lactobacillus delbrueckii lactis* BIA 227 (CIRM)
- S3 : *Lactobacillus plantarum* Sour Pitch (Lallemand)
- S4 : *Lactobacillus buchneri* 5335 (Wyeast Lab)

Figure 20 : Valeurs finales de pH à l'arrêt de la fermentation lactique (Source auteurs)

Les essais ont été évalués sensoriellement à l'issu de la fermentation alcoolique afin de sélectionner le prototype et de le caractériser.

3.5.1. Evolution du pH

La figure 19 présente l'évolution du pH par souche au cours du kettle sour.

La souche 2 (*Lactobacillus delbrueckii lactis*) occasionne la baisse du pH la plus rapide ($pH_t = pH_0 - 0,078 * t$) au cours des 18 premières heures. La diminution de pH semble ralentir après 18h de fermentation, tout comme pour les souches 1 (*Lactobacillus plantarum* BIA 653).

La souche 4 (*Lactobacillus buchneri* 5335) occasionne une baisse de pH plus lente ($pH_t = pH_0 - 0,029 * t$), il a fallu près de deux fois plus de temps avec cette souche qu'avec la souche 2 pour obtenir une valeur de pH identique.

L'évolution du pH dans l'essai avec la souche 3 (*Lactobacillus plantarum*) est surprenante, la diminution du pH est très inférieure à celle des autres essais avec même une phase de remontée du pH entre 18 et 22 h de fermentation. Une première hypothèse pour l'expliquer est la fermentation malo-lactique, la conversion de l'acide malique en acide lactique, qui est un acide moins fort que son précurseur. Cependant, aucune source d'acide malique n'a été identifiée. La seconde hypothèse est la décarboxylation de l'histidine en histamine qui a pour conséquence une alcalinisation du pH.

La fermentation lactique a été stoppée au bout de 22 h pour les souches 1 et 2 et au bout de 42 h pour les souches 3 et 4. La figure 20 présente les valeurs finales de pH ainsi que les valeurs de pH des bières commerciales.

3.5.2. Evolution de l'acidité titrable totale

L'évolution de l'acidité titrable totale pour les différents essais est présentée dans la figure 21.

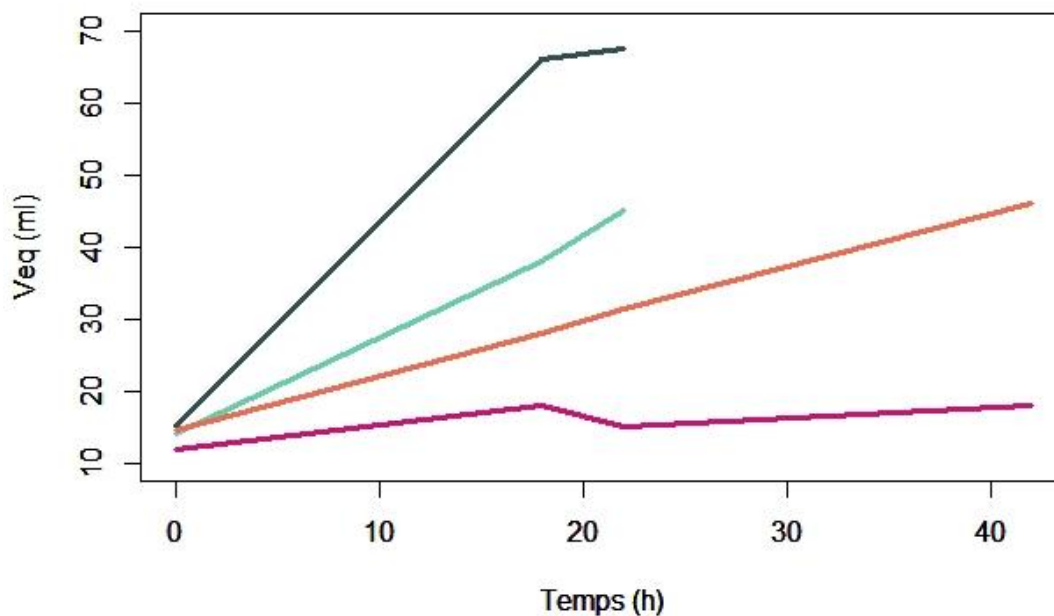
L'essai pour lequel l'acidité titrable totale a augmenté le plus rapidement est celui avec la souche 1 (*Lactobacillus plantarum* BIA 653). C'est aussi l'essai pour lequel l'acidité totale titrable finale est la plus élevée à l'issu de la fermentation.

Concernant l'essai contenant la souche 3 (*Lactobacillus plantarum*), l'acidité titrable totale remonte de la même manière que son pH descend entre 18 et 22 h de fermentation.

Aucune souche n'a permis d'atteindre les valeurs d'acidité titrable totale des bières commerciales (figure 22).

3.5.3. Dénombrement

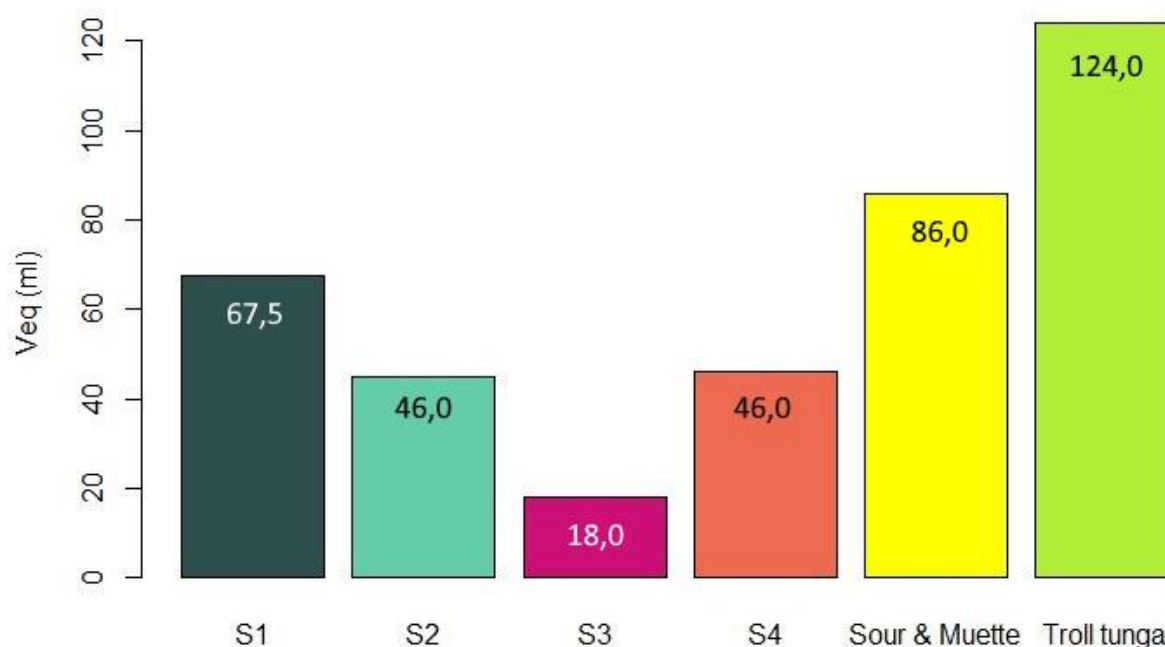
Après 24 heures à 35°C, les boîtes de pétri ont été récupérées pour effectuer le dénombrement. Un comptage manuel a permis de déterminer le nombre de cellules par millilitre dans leur milieu de culture une fois revivifiées. On remarque que les différents flacons ne présentent pas les mêmes concentrations en cellules, comme le montre les résultats du tableau 6. Pour chaque souche, le même volume a été inoculé dans les différents moût, et donc un nombre de cellules différent pour chaque souche. Cela peut être une explication des différences d'acidité entre les essais.



Légende :

- S1 : *Lactobacillus plantarum* BIA 653 (CIRM)
- S2 : *Lactobacillus delbrueckii lactis* BIA 227 (CIRM)
- S3 : *Lactobacillus plantarum* Sour Pitch (Lallemand)
- S4 : *Lactobacillus buchneri* 5335 (Wyeast Lab)

Figure 21 : Évolution de l'acidité total titrable par essai au cours de la fermentation lactique (Source auteurs)



Légende :

- S1 : *Lactobacillus plantarum* BIA 653 (CIRM)
- S2 : *Lactobacillus delbrueckii lactis* BIA 227 (CIRM)
- S3 : *Lactobacillus plantarum* Sour Pitch (Lallemand)
- S4 : *Lactobacillus buchneri* 5335 (Wyeast Lab)

Figure 22 : Valeurs finales de l'acidité totale titrable à l'arrêt de la fermentation lactique (Source auteurs)

3.5.4. Détermination du taux d'alcool

Le taux d'alcool de la bière est calculé en comparant la densité avant fermentation alcoolique ($d(\text{initiale})$) et la densité après fermentation ($d(\text{finale})$). Ces densités peuvent s'obtenir grâce à un refractomètre qui mesure des valeurs en degrés Brix. Cette valeur doit ensuite être convertie en degrés Plato ($1^\circ \text{ Plato} = 0,96^\circ \text{ Brix}$) pour calculer la densité avec la formule suivante :

$$d = 1 + \frac{p}{258,6 - 0,88 \cdot p}$$

Avec d la densité, p le degré Plato.

La refermentation en bouteille avec ajout de sucre fait augmenter le taux d'alcool, 1 g de sucre donne 0,5 g d'alcool et 0,5 g de CO_2 environ (Univers Bière, s.d).

Le pourcentage d'alcool par volume après fermentation s'obtient ainsi :

$$\frac{100 * (1,05 * (D_i - D_f) + \frac{s}{2})}{0,789 * D_f}$$

Avec s la quantité de sucre ajoutée pour la refermentation en bouteille en kg/L.

Taux d'alcool de l'essai S1H1 :

- Degré Brix avant fermentation : 10,5
- Densité initiale : 1,040
- Degré Brix après fermentation : 3
- Densité finale : 1,011
- Sucre : 6 g/L
- Alcool : 4,2 % Vol.

3.5.5. Evaluation sensorielle

3.5.5.1. Conditions de l'étude

Une première dégustation a permis d'éliminer six premiers essais. En effet, les essais réalisés avec les souches de bactéries commerciales étaient nettement inférieurs aux essais réalisés avec les souches du CIRM en termes de saveurs. De plus, ces souches commerciales avaient été utilisées par sécurité dans le cas où les souches du CIRM n'auraient pas donné de bon résultat.

Une seconde dégustation a donc été organisée afin de sélectionner le produit final parmi les six restants, de le caractériser et de comprendre la note hédonique à partir des descripteurs sensoriels

Les six prototypes de bière acide ont été dégustés à l'aveugle par neuf juges, les membres du projet et leurs tutrices. Un septième produit, une bière issue du commerce (Sour & Muette de la brasserie La Musse), a été servi en fin de séance afin de voir si l'un des prototypes obtenait une note hédonique moyenne supérieure à ce produit de référence et comment le produit en développement s'en différenciait. Ce produit n'a pas été inclus au reste de l'analyse afin de caractériser uniquement les essais les uns en fonction des autres. Les juges n'étaient pas des experts mais avaient déjà dégusté ce type de produit à plusieurs reprises. Ils n'avaient pas le droit de communiquer durant la dégustation. Les sept bières ont été servies dans le même contenant et à la même température. Deux séances ont été organisées, chaque juge

n'a réalisé qu'une séance de dégustation. L'ordre de dégustation des bières pour une même séance était identique pour chaque juge mais changeait d'une séance à l'autre. Seul le rang de la bière commerciale n'a pas été modifié.

3.5.5.2. Questionnaire et descripteurs

Il existe une liste de descripteurs dédiés à la bière pré-établie par Meilgaard et al, mais nous n'avons pas réussi à obtenir le document, Beer Flavour Terminology dans Journal of the Institute of Brewing (1979).

La fiche de dégustation a donc été réalisée en se basant sur le modèle proposé par la société d'analyse sensorielle spécialisée dans la bière *Beerology* (beerology, 2017). Les descripteurs ont été choisis de façon à faire référence aux quatre sens (vue, odorat, goût et toucher) afin d'obtenir un profil global des produits. Ils ont également été limités aux descripteurs de saveurs les plus fréquents rencontrés dans la bière, tels que l'odeur et le goût houblonnés, afin de s'adapter aux connaissances des juges et au nombre de produits à déguster. Des espaces de libre expression ont également été mis à disposition afin que le juge précise son analyse si besoin. Enfin, une note hédonique concluait chaque fiche de dégustation afin de juger l'appréciabilité des différentes bières et de lier cette appréciabilité à l'évaluation des produits selon les descripteurs. La fiche de dégustation est en annexe X.

3.5.5.3. Résultats de l'analyse

Le détail de l'analyse est en annexe XI, en voici les conclusions tirées.

Les essais sont très différents de la bière commerciale prise pour référence. Ils s'en démarquent par leur aspect, leur carbonatation plus faible et leur odeur moins marquée.

Un des essais est particulièrement plus apprécié que les autres mais aussi que la bière commerciale, l'essai contenant la souche *Lactobacillus plantarum* et le houblon Cascade (figure 23). C'est un produit caractérisé par une amertume faible et des notes plus florales que fruitées.

La souche de lactobacilles utilisée a une influence sur l'odeur de la bière, plus marquée avec *Lactobacillus plantarum* qu'avec *Lactobacillus delbruekii*.

La variété de houblon a une influence sur l'appréciation de la bière, les produits les moins appréciés étant ceux contenant du Mandarina Bavaria et les plus appréciés ceux contenant du Cascade (figure 24).

Les préférences des juges sont liées à l'acidité, à l'intensité du goût globale, fruité et houblonné mais aussi à la longueur en bouche.

Les essais apparaissent tous conformes aux attentes des consommateurs en termes d'acidité à l'exception de l'essai contenant la souche *Lactobacillus plantarum* et le houblon Mandarina Bavaria. Ils apparaissent cependant moins amers et moins fruités. Aucun essai n'est plus fidèle que les autres à ces attentes.

L'essai sélectionné est donc la bière acidifiée par *Lactobacillus plantarum* BIA 653 du CIRM et aromatisée par le houblon Cascade.

Tableau 6 : Dénombrement manuel des souches revivifiées avant inoculation

Souche	Nombre de cellules par mL
<i>Lactobacillus plantarum</i>	$1,6.10^9$
<i>Lactobacillus delbrueckii lactis</i>	$2,0.10^7$
Sour Pitch	$2,7.10^9$
<i>Lactobacillus</i> 5335 Wyeast Labs	$3,8.10^6$

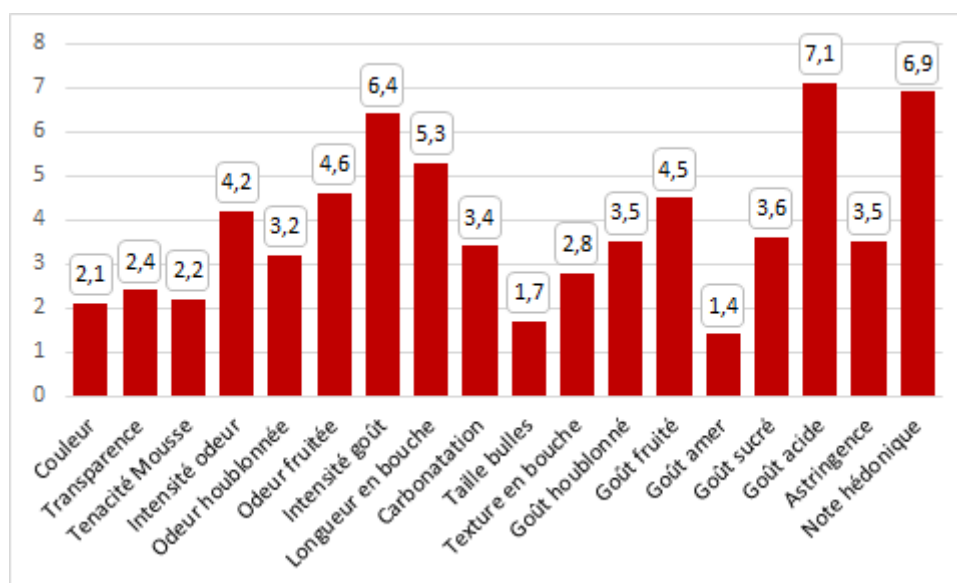


Figure 23 : Notes moyennes par descripteur obtenues par l'essai S1H1

4. Industrialisation

4.1. Processus de fabrication

Notre process de fabrication est constitué de huit grandes étapes : réception et stockage des matières premières, préparation des matières premières, brassage, fermentation lactique, ébullition, fermentation primaire, conditionnement et fermentation secondaire. Le diagramme de fabrication est présenté en Figure 25.

4.1.1. Réception et stockage des matières premières

Notre produit est fabriqué à partir de matières premières stockées à température ambiante (malt d'orge, malt acide, malt de blé, sucre) et de matières premières réfrigérées (houblon, levure, lactobacilles) stockées dans une chambre froide pour qu'elles conservent leurs qualités fonctionnelles et organoleptiques.

L'eau provient du réseau, il n'y a pas d'étape de réception ni de stockage.

4.1.2. Préparation des matières premières

Les souches de bactéries lactiques sont revivifiées la veille du brassage. Le jour du brassage, les cuves de brassage et de rinçage sont remplies d'eau et mise en chauffe jusqu'à atteindre les températures nécessaires.

Durant la montée en température, les céréales sont pesées et concassées manuellement.

4.1.3. Brassage

Les céréales sont insérées dans l'eau de brassage à température. Après 60 minutes d'infusion, le moût est transféré dans la cuve d'ébullition. L'eau de rinçage est déversée sur les drèches. L'eau de rinçage est transférée dans la cuve d'ébullition.

Le moût est porté à ébullition deux minutes afin d'assurer sa stérilité avant incubation des bactéries lactiques. Le moût stérilisé est ensuite refroidi à 35°C avec un échangeur à plaque et transféré dans un contenant.

4.1.4. Fermentation lactique

Le moût estensemencé avec les bactéries lactiques et placé à l'étuve à 35°C. À partir de 20 h de fermentation, le pH est relevé toutes les heures jusqu'à atteindre la valeur cible.

4.1.5. Ébullition

Le moût fermenté est transféré dans la cuve d'ébullition. Il est porté à ébullition durant 45 minutes. Pendant ce temps, le houblon est pesé et un starter est réalisé pour les levures.

Le houblon est ajouté et le moût est porté à ébullition 15 minutes supplémentaires. Il est refroidi à 20°C avec un échangeur à plaque et transféré dans le fermenteur.

4.1.6. Fermentation primaire

Le fermenteur estensemencé avec les levures et placé dans une zone à 20°C. La fermentation primaire dure entre 18 et 21 jours.

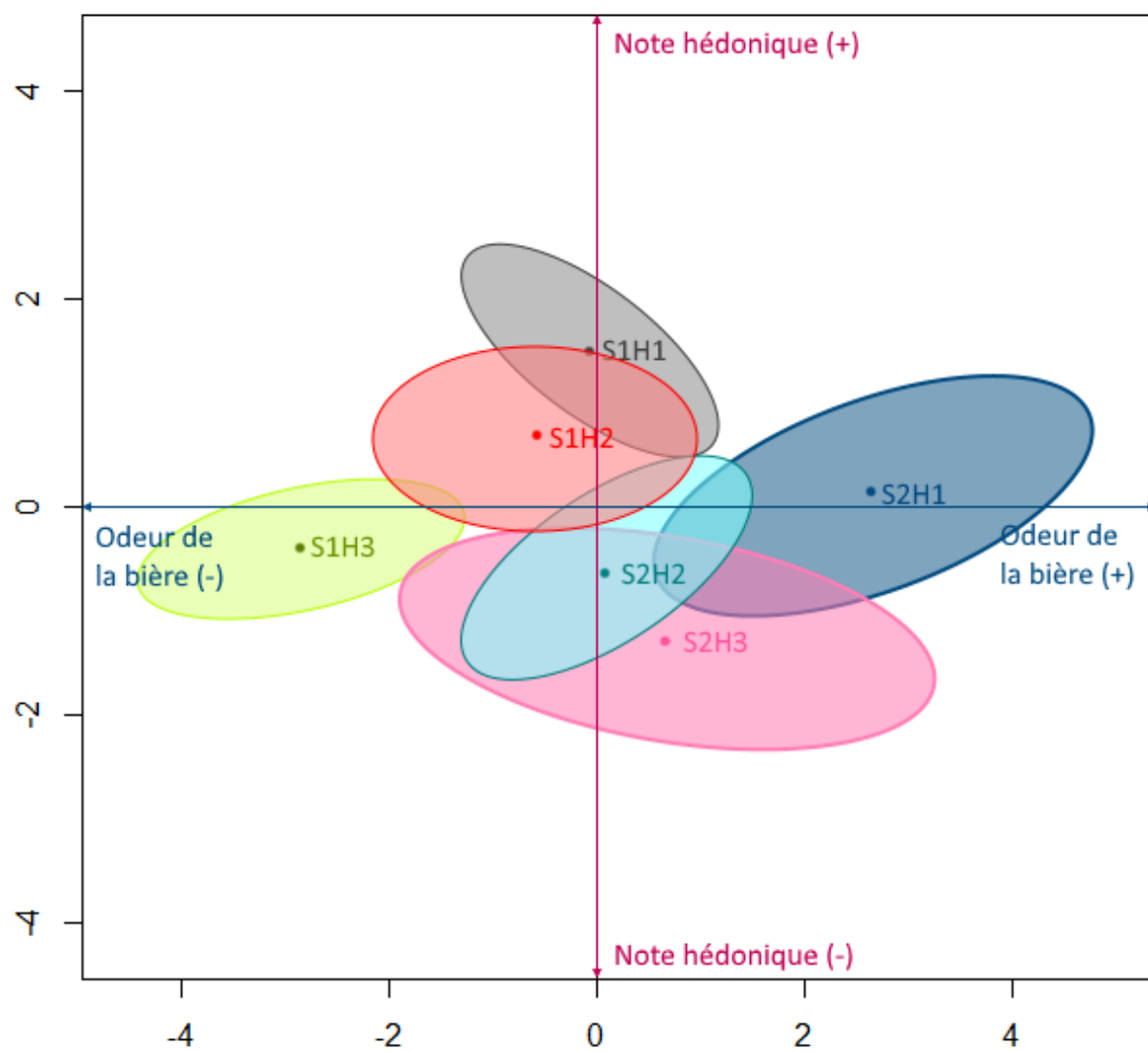


Figure 24 : Répartition des essais selon les descripteurs d'odeur associés à la souche et la note hédonique associée au houblon

4.1.7. Conditionnement

Le sucre est pesé et ajouté dans le produit. La bière est conditionnée semi-manuellement dans des bouteilles en verre de 25 cL. Les bouteilles sont encapsulées et étiquetées.

4.1.8. Fermentation secondaire

Les bouteilles sont conservées entre 18 et 21°C pour carbonatation par les levures pendant au minimum 14 jours. Après ces deux semaines de fermentation, les bouteilles sont considérées en stockage prêtes à être expédiées.

4.2. Nettoyage et désinfection

Des contaminants (chimiques et biochimiques) peuvent provoquer l'altération du produit mais également nuire à la santé du consommateur. Ainsi il est très important de faire preuve de rigueur en brasserie, et respecter un certain nombre de règles d'hygiène. Les règles générales de bonnes pratiques concernent les matières premières et les ingrédients, le personnel et les locaux sont exposés à travers la démarche HACCP. Nous nous attarderons ici sur le nettoyage et la désinfection des équipements.

Afin de maîtriser la salubrité de nos équipements et ainsi la sécurité de nos produits, un plan de nettoyage et désinfection est mis en place selon un système de nettoyage en place (NEP). L'ensemble des cuves et de la tuyauterie est en acier inoxydable, ce qui rend possible un nettoyage efficace. Le nettoyage et la désinfection se décomposent généralement en cinq phases successives (Association des brasseurs de France, 2001) :

- Le pré-rinçage : se fait à l'eau pour éliminer le maximum de salissures ;
- La détergence : introduction d'un produit détergent pour un nettoyage efficace ;
- Le rinçage intermédiaire : se fait à l'eau, pour ne pas qu'il y ait de contact entre le produit détergent et le produit désinfectant ;
- La désinfection : introduction d'un produit désinfectant ;
- Le rinçage final : phase obligatoire qui se fait à l'eau et dont l'efficacité est contrôlée afin qu'il n'y ait pas de résidus de produit désinfectant sur les surfaces traitées.

Pour la cuve de désinfection, un lavage alcalin à chaud est effectué (température 80°C et temps de contact 1 heure) suivi d'un rinçage à l'eau froide. Le même produit est utilisé pour le nettoyage du refroidisseur à plaque, mais la circulation des fluides (eau, solutions nettoyantes) se fait dans les deux sens de circulation. Pour le tank de fermentation et le tank de garde (une fois purgé du CO₂ résiduel), le lavage alcalin à chaud (température 80°C et temps de contact 1 heure) est suivi d'un rinçage et d'une désinfection acide (à froid et temps de contact 15 minutes). Ces lavages se font à chaque utilisation, soit entre chaque brassage (Brewline, s.d.). En effet, bien que la brasserie ne produise que des bières acidifiées par l'introduction de bactéries lactique, il est important de ne garder aucune trace de bactéries ou de spores après chaque nettoyage.

4.3. Gestion des co-produits de production

Plusieurs co-produits sont issus de la production de la bière : les eaux usées, les emballages, mais se sont surtout les drêches qui imposent une organisation particulière. A l'échelle de notre microbrasserie, il n'y a pas de salle de stockage uniquement dédiée à ces coproduits. En effet, les drêches sont stockées dans des bacs ouverts, spécifiques et identifiés, et enlevés quatre fois par mois (une fois après chaque brassage) par un agriculteur de Noyal-Châtillon-Sur-Seiche. A court terme, l'idée serait de pouvoir stocker

DIAGRAMME DE FABRICATION

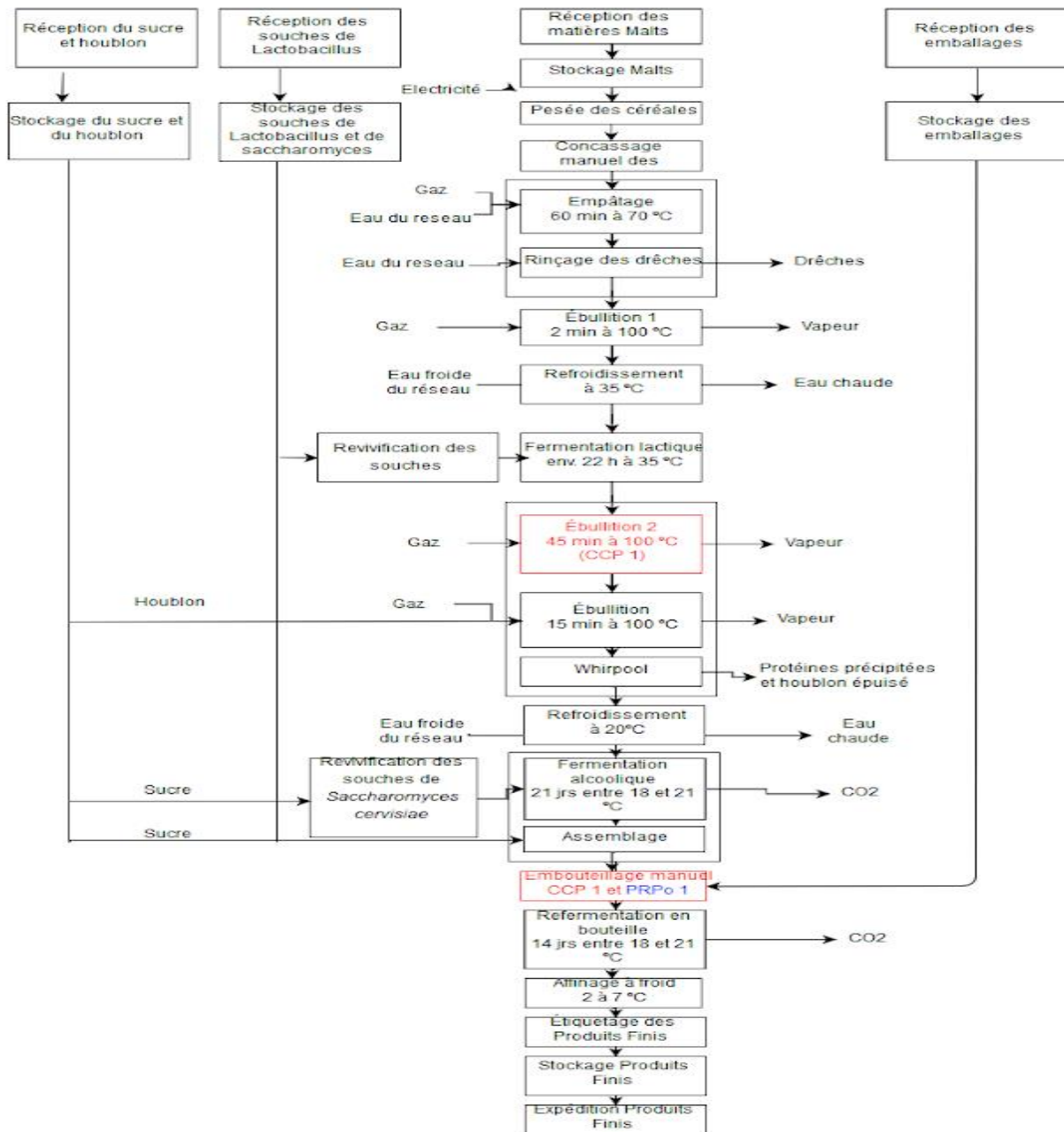


Figure 25 : Diagramme de fabrication

ces co-produits dans un emplacement dédié, ventilé et réfrigéré afin de limiter au maximum les phénomènes de développement de moisissure et de fermentation. A long terme, nous souhaitons réaliser un partenariat avec une entreprise pouvant valoriser les drêches, notamment pour l'alimentation humaine. Du fait de l'ensemble des contraintes liées à ce produit et de son altération rapide, il est nécessaire que cette entreprise se situe à proximité de la brasserie pour un traitement de la matière sous 24 heures.

4.4. Volume

Nous avons établi un volume de brassin de 100 L à raison de quatre productions par mois pour le démarrage de l'activité. Ce volume évoluera en fonction des ventes réalisées.

5. Démarche qualité

5.1. Réglementation

5.1.1. Dénominations

Le décret n° 92-307 du 31 mars 1992 portant application de l'article L. 412-1 du code de la consommation en ce qui concerne les bières décrit la bière comme « la boisson obtenue par fermentation alcoolique d'un moût préparé à partir du malt de céréales, de matières premières issues de céréales, de sucres alimentaires et de houblon, de substances conférant de l'amertume provenant du houblon, d'eau potable » (JORF, 1992). Des levures sont généralement utilisées au cours de la fermentation.

Le malt de céréales doit représenter 50 % du poids des matières amylacées ou sucrées mises en œuvre pour la fabrication de la bière. De même, l'extrait sec doit représenter au moins 2 % du moût primitif.

Le brasseur peut utiliser d'autres ingrédients, tels que des herbes aromatiques, épices, mélanges de plantes, fleurs, graines, racines ou zestes d'agrumes.

Les dénominations « bière de fermentation lactique » ou « Gueuze » sont, quant à elles, attribuées aux bières ayant subies une fermentation lactique au cours de leur procédé de fabrication (JORF, 1992).

De même, l'emploi du terme "bière artisanale" nécessite de répondre à deux exigences réglementaires. Tout d'abord l'entreprise doit être immatriculée au Répertoire des métiers et ne doit donc pas avoir un effectif de plus de 10 salariés. De plus, elle doit répondre à certaines exigences de qualification professionnelle, à savoir la détention d'un certificat d'aptitude professionnelle ou un brevet d'études professionnelles délivré par le ministre chargé de l'Éducation pour le métier de brasseur (DGCCRF, 2017).

5.1.2. Etiquetage

L'étiquette d'une bière doit contenir obligatoirement les neuf catégories d'informations suivantes :

- La dénomination de la denrée, encadrée par décret n°92-307 précédemment nommé) ;
- Les allergènes contenus dans le produit. L'allergène le plus courant dans les bières est le gluten qui est présent dans les céréales mises en œuvre pour fabriquer les bières (blé, orge...) ;
- La quantité nette/volume net de la bière ;
- La date de durabilité minimale ;

Tableau 7 : Equipe HACCP (Source auteurs)

Prénom -Nom	Fonction au sein de l'entreprise
Alexia Manez	Membre du Pôle Fabrication – Pilote HACCP
Lénaïg Cornanguer	Membre du Pôle Fabrication – Expert process - Suivi HACCP
Mario Serouart	Membre du Pôle Fabrication – Expert Produit - Suivi HACCP
Adeline Le Bel	Membre du Pôle Fabrication – Expert Nettoyage & Désinfection Suivi HACCP

- Les conditions particulières de conservation et/ou d'utilisation ;
- Le nom ou raison sociale et adresse de l'exploitant du secteur alimentaire ;
- Le pays d'origine ou lieu de provenance ;
- Le mode d'emploi, lorsque son absence rendrait difficile un usage approprié de la bière ;
- Le titre alcoométrique volumique acquis.
- En vigueur de l'article 16 du règlement (UE) n°1169/2011, les boissons alcoolisées (Titre Alcoométrique volumique > 1,2 %) ne sont pas soumises à l'obligation de déclaration nutritionnelle (DGCCRF, 2017).

5.2. Maîtrise de la sécurité sanitaire : Mise en place d'une démarche HACCP

5.2.1. Méthode

Comme l'impose le règlement européen CE 852/2004 relatif à l'hygiène des denrées alimentaires, une procédure permanente fondée sur les principes de l'HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Point) doit être mise en place au sein de toute entreprise agroalimentaire. En effet, la méthode HACCP permet « d'analyser les dangers associés aux différents stades du procédé de production/fabrication, de définir les moyens nécessaires à leur maîtrise et de valider, puis de surveiller et de vérifier l'efficacité de ces moyens » (ANSES, 2013). Ainsi, afin d'identifier les CCP (Critical Control Point) du processus de fabrication de nos produits, une analyse des dangers a été effectuée. La démarche décrite ci-dessous a été effectuée pour notre première bière, "La Sourvoltée", mais s'appliquera à l'ensemble des produits qui seront développés par notre brasserie. Le champ de l'étude HACCP s'étend de la réception des matières premières à l'expédition du produit final.

5.2.1.1. Tâches préalables à l'étude HACCP

Dans un premier temps cinq étapes préalables à l'application des sept principes HACCP ont été réalisées.

Ainsi une équipe HACCP pluridisciplinaire a été constituée. L'équipe a été constituée de telle sorte à avoir suffisamment de connaissances relatives au produit, au procédé de fabrication, au nettoyage et à la désinfection ou encore en microbiologie alimentaire (Tableau 7).

Puis nous avons décrit les caractéristiques de notre produit pouvant avoir un impact sur l'analyse des risques. :

- Les caractéristiques générales du produit : ingrédients, poids, couleur ;
- Les caractéristiques physico-chimiques du produit : a_w , et pH ($I'a_w$ et pH des différents constituants du produit ont été estimés grâce à des recherches bibliographiques. Ces valeurs seront affinées par des analyses une fois le produit fabriqué) ;
- Autres caractéristiques : DLC, emballages, condition de stockage et de distribution.

Les usages attendus, raisonnablement prévisibles et anormaux ont également été inclus lors de cette étape de description. Enfin le diagramme de fabrication du produit a été réalisé puis vérifié sur ligne de fabrication.

Tableau 8 : Tableau d'évaluation de la probabilité et la gravité des dangers (Source auteurs)

	Probabilité	Gravité
1	Moins d'une fois par semestre	Légers troubles
2	Entre une fois par mois et une fois par semestre	Troubles significatifs ne nécessitant pas de suivi médical
3	Entre une fois par semaine et une fois par mois	Troubles graves nécessitant un suivi médical
4	Plus d'une fois par semaine	Décès ou troubles graves et irréversible

Tableau 9 : Priorisation des risques (Source auteurs)

	Probabilité d'apparition				
		1	2	3	4
Gravité	1	1	2	3	4
	2	2	4	6	8
	3	3	6	9	12
	4	4	8	12	16

Catégories de risque : ■ Faible ■ Modéré ■ Elevé ■ Très Elevé

5.2.1.2. Application des 7 principes de l'HACCP

Une fois ces tâches préliminaires effectuées, nous avons été à même d'exécuter les sept principes de l'HACCP. Cette étude HACCP a été réalisée en s'appuyant sur le guide des bonnes pratiques d'hygiène en brasserie.

Principe 1 : Nous avons premièrement procédé à une analyse des risques. Cela a consisté à identifier, à chaque étape du procédé, tous les dangers pouvant raisonnablement survenir. Trois catégories de dangers ont été pris en compte pour cette analyse : les dangers biologiques (micro-organismes pathogènes, microorganismes producteurs de toxine, virus, prions), les dangers chimiques (métaux lourds, nitrates, nitrites), et les dangers physiques (verre, métal, plastiques durs, *etc.*).

La recherche des causes des dangers a été effectuée selon la méthode des "5M" : Matière, Méthode, Main d'œuvre, Matériel et Milieu.

Pour chaque danger identifié, une analyse du risque correspondant a été réalisée. Pour ce faire, nous avons évalué la probabilité d'apparition et la gravité des effets indésirables de ces dangers. La grille de cotation de ces deux paramètres est présentée en Tableau 8. Cette évaluation des risques s'est donc faite à l'aide des guides de bonnes pratiques d'hygiène. L'analyse des risques relatifs aux dangers microbiologiques a également été étoffée par une étude de la littérature scientifique. Ainsi l'avis de 2018 de l'ANSES relatif à l'attribution des sources des maladies infectieuses d'origine alimentaire et les données du RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed) ont été utilisés.

Nous avons ainsi été capables de prioriser les risques en quatre catégories : Faible, Modéré, Élevé, Très élevé (Tableau 9).

Pour finir des mesures préventives ont été établies pour l'ensemble des dangers identifiés afin de les éliminer ou de les réduire. Ces mesures préventives sont les BPH (Bonnes Pratiques d'Hygiène) de l'entreprise (appelées également PRP (Programmes Prérequis)). "Ces PRP/BPH sont génériques et nécessaires pour maintenir tout au long de la chaîne de l'alimentation un environnement hygiénique approprié à la production, à la manutention et à la mise à disposition de denrées alimentaires sûres pour la consommation humaine" (ANSES, 2013).

Principe 2 : Nous avons ensuite identifié les CCP et PRPo (Programmes Prérequis opérationnels) éventuels de notre processus de fabrication en appliquant un arbre de décision (Figure 26) sur les risques classés "Élevé" et "Très élevé" à l'étape précédente.

Principe 3 : Nous avons ensuite établi les limites critiques à respecter pour les CCP identifiés et les objectifs à atteindre pour les PRPo identifiés.

Principe 4 : Cette étape a consisté à établir pour chaque CCP et PRPo un système de surveillance (permanent pour les CCP et régulier pour les PRPo).

Principe 5 : Des actions correctives ont par la suite été déterminées en cas de déviation.

Principe 6 : Un système d'enregistrements et de documentation a été créé.

Principe 7 : Enfin le fonctionnement du système HACCP sera à vérifier et valider une fois les opérations de productions entamées via notamment des analyses microbiologiques et une revue annuelle de l'étude HACCP par l'ensemble de l'équipe.

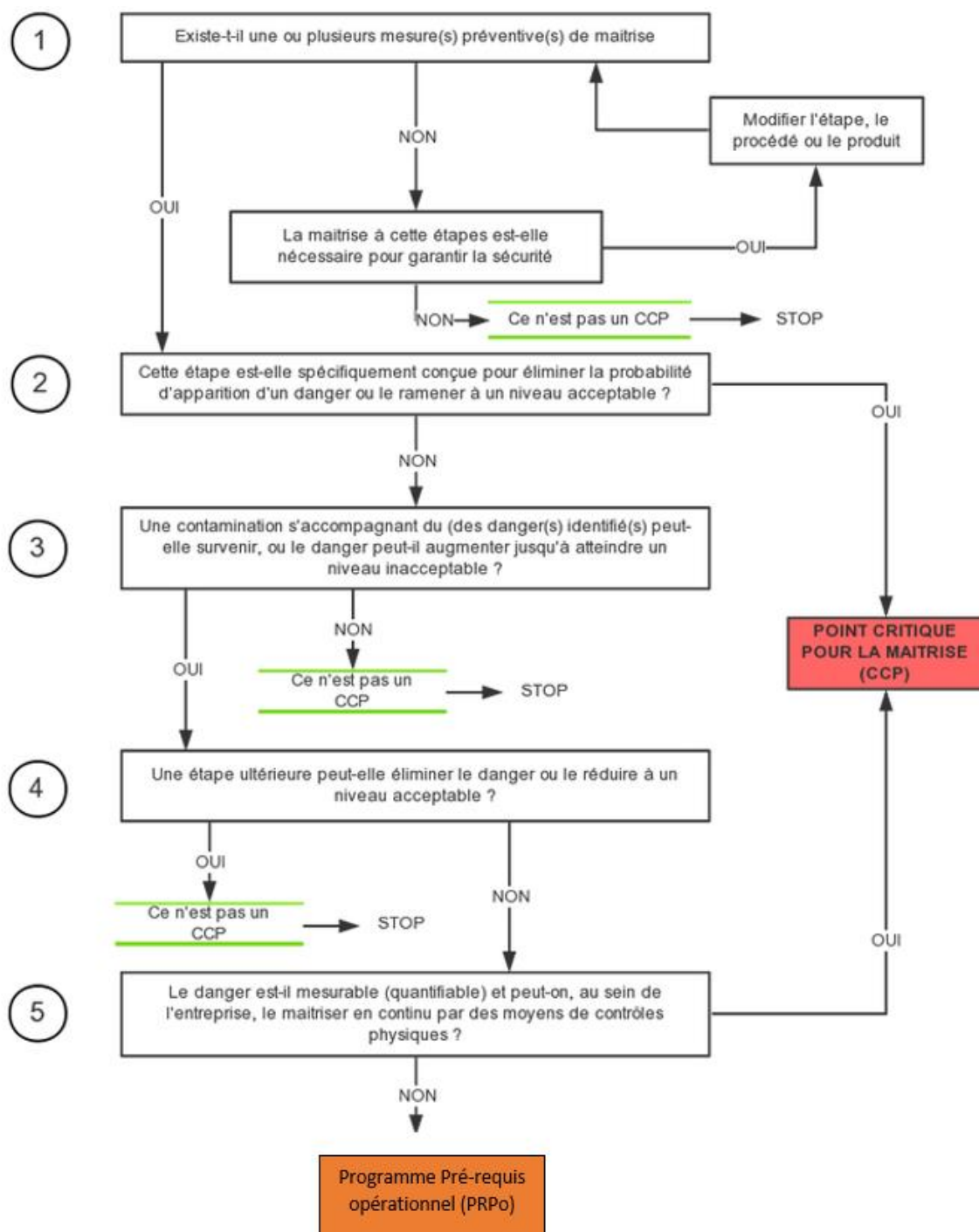


Figure 26 : Arbre de décision

Tableau 10 : Efficacité du traitement thermique à l'étape d'ébullition 2 (Source auteurs)

Micro-organismes	D _{référence}	z (°C)	D _{100°C}	Temps de traitement thermique	Nombre de réductions décimales
<i>Bacillus cereus</i>	D _{95°C} =2 minutes	12,5	0,8	45	56
<i>Bacillus cereus</i>	D _{95°C} =2 minutes	12,5	0,8	40	50
<i>Aspergillus flavus</i>	D _{60°C} =1 minute	4,1	1,8 x10 ⁻¹⁰	45	11,4
<i>Aspergillus flavus</i>	D _{60°C} =1 minute	4,1	1,8 x10 ⁻¹⁰	40	11,3

5.2.2. Résultats

5.2.2.1. Les PRP/Bonnes Pratiques d'Hygiène

Neuf programmes prérequis ont été établis dans le cadre de notre étude HACCP :

- Programme Prérequis n°1 : Hygiène du personnel
- Programme Prérequis n°2 : Nettoyage et Désinfection
- Programme Prérequis n°3 : Lutte contre les nuisibles
- Programme Prérequis n°4 : Bonnes Pratiques de Fabrication et de conditionnement
- Programme Prérequis n°5 : Gestion des corps étrangers
- Programme Prérequis n°6 : Gestion des allergènes
- Programme Prérequis n°7 : Locaux équipement et fluides
- Programme Prérequis n°8 : Achats et Fournisseurs
- Programme Prérequis n°9 : Logistique

L'ensemble de ces programmes Pré-requis est disponible en Annexe VIII.

5.2.2.2. Les CCP

Le premier CCP identifié par notre analyse des risques est l'ébullition 2, traitement thermique le plus important de notre process de fabrication. Les matières premières étant végétales, les principaux micro-organismes de préoccupation sont des bactéries telluriques et notamment *Bacillus cereus* ou encore *Clostridium perfringens*. Le traitement thermique appliqué lors de cette étape est de 100°C pendant 45 minutes et permet ainsi d'obtenir 56 réductions décimales de *Bacillus Cereus* (Tableau 10).

En outre la stabilité microbiologique du produit est non seulement assurée par les différents traitements thermiques (l'empâtage et les trois étapes d'ébullition) mais aussi :

- Par le pH du produit fini de 3,5 inhibant le développement de nombreux microorganismes pathogènes, pouvant être apportés par la main d'œuvre ou la matière première (Tableau 11) ;
- Par l'ajout de houblon ayant un effet aseptisant ;
- Par la présence d'alcool produit par les levures.

Le deuxième CCP mis en évidence est l'embouteillage manuel. En effet, une mauvaise étanchéité entre le goulot de la bouteille et la capsule représenterait un danger microbiologique puisqu'il pourrait y avoir une contamination ultérieure par une flore pathogène lors du stockage. Il a donc été identifié que la capsule devait intégralement épouser le goulot de la bouteille en verre d'assurer l'étanchéité. Le Tableau 12 présente la gestion des CCPs.

5.2.2.3. Les PRPo

Le seul et unique PRPo identifié sur notre processus de fabrication est lié à un danger physique. Il s'agit de l'embouteillage manuel pour le risque de casse d'une bouteille en verre (Tableau 13). L'ensemble des CCPs et PRPo sont identifiés sur le diagramme de fabrication (Figure 25).

5.2.2.4. Les critères microbiologiques

Conformément au règlement CE Numéro 2073/2005 de la commission européenne et le 7ème principe de l'HACCP des critères microbiologiques (critères de sécurité ou critères d'hygiène) à suivre ont été instaurés au sein de l'entreprise. Cela vise notamment à valider et vérifier l'efficacité du système HACCP. On dénombre ainsi l'application d'un critère obligatoire (Tableau 14).

Tableau 11 : pH minimal de micro-organismes de préoccupation (Source : anses, 2011-2017)

Micro-organismes	pH minimal de développement
<i>Bacillus Cereus</i>	4,3
<i>Clostridium perfringens</i>	5
<i>Clostridium botulinum</i>	4,6
<i>Listeria monocytogenes</i>	4
<i>Staphylococcus aureus</i>	4
<i>E.coli</i>	4,4

Tableau 12 : Gestion des CCPs (Source auteurs)

Etape	Danger	Mesures Préventives	Valeur cible	Limite critique	Système de surveillance			Actions correctives en cas de déviation	Enregistrements
					Fréquence	Moyen	Responsable(s)		
Ebullition 2	Non-destruction de la flore pathogène	Mise en place d'un barème temps-température lors de l'élaboration de la recette	100°C – 45min	100°C -40 minutes	Chaque ébullition	Enregistrement des paramètres temps – température	Opérateur en charge de l'ébullition	Produit mis à nouveau en ébullition ou évaluation du risque	Fiches suivies de fabrication
Embouteillage manuel	Contamination ultérieure du produit lors du stockage ou de l'expédition	Réglage de la machine d'encapsulage des bouteilles pour assurer l'étanchéité	Capsule enserrant complètement le goulot de la bouteille	Espace entre le bord de la bouteille et la capsule	Chaque bouteille	Contrôle visuel après encapsulage et au tri des produits finis	Opérateur en charge de l'embouteillage	Détection à l'étape d'embouteillage : Ré-encapsulage de la bouteille Détection au tri des produits finis : Produit jeté et non-conformité enregistrée	Fiches suivies de fabrication Fiche de non-conformité

Tableau 13 : Gestion du PRPo (Source auteur)

Etape	Danger	Mesures préventives	Objectifs	Surveillance			Actions correctives	Enregistrements
				Fréquence	Moyens	Responsable		
Embouteillage manuel	Casse verre	Contrôles à réception des bouteilles en verre	Absence de verre cassé	Une fois par jour	Contrôle visuel- Enregistrement casse verre- Validation du nettoyage avant reprise de production- Matériel de nettoyage spécifique	Opérateur en charge de l'embouteillage	Destruction des bouteilles cassées. Si casse d'une bouteille à proximité d'autres bouteilles ouvertes, Destruction des bouteilles situées dans un rayon de 20 cm Arrêt de production- Nettoyage de la zone avec matériel dédié à cet usage.	Enregistrement casse verre Fiches suivies de production

Tableau 14 : Critères microbiologiques – La Moussaillonne (Source : Journal Officiel de l'Union Européenne, 2005)

Type de critère	Micro-organismes, métabolites, toxines	Plan d'échantillonnage		Limites		Méthode d'analyse de référence
		n	c	m	M	
Critère de sécurité	<i>Listeria Monocytogenes</i>	5	0	100 ufc/g		EN/ISO 11290- 2

6. Marketing opérationnel : marketing mix

Pour définir notre marketing opérationnel, nous avons utilisé la méthode des 4P (Product, Price, Position and Promotion).

6.1. Produit

6.1.1. Qualités intrinsèques

Notre produit est un bien non tangible et non durable. C'est un bien banal de commodité, dont l'achat est fréquent. Notre concept repose sur une bière au goût acide, légèrement fruitée et faible en alcool. C'est également un produit artisanal fabriqué en Bretagne.

6.1.2. Qualités extrinsèques

Pour notre bière, nous avons choisi un nom de marque rappelant le côté acide. Nous avons donc opté pour "La Sourvoltée". Pour le côté Breton, nous avons décidé d'utiliser un phare sur notre étiquette. Nous utilisons la couleur noire en fond sur notre étiquette pour le côté premium et les couleurs jaunes et oranges pour rappeler le côté fruité et l'acidité de l'agrume.

Pour le conditionnement, nous avons choisi un conditionnement en bouteille de 25 centilitres. En effet, notre produit est une bière de dégustation et se consomme donc en quantité limitée.

6.2. Prix

6.2.1. Coût de revient

Afin de calculer le coût de revient de notre bière acide, nous avons identifié sept postes de dépense :

- Matières premières (malt, houblon...) ;
- Emballage (bouteille, capsule, étiquette) ;
- Autres consommables (produits de nettoyage, gaz...) ;
- Taxes (droits d'accise et cotisation à la Sécurité Sociale) ;
- Frais de fonctionnement (loyer, assurance...) ;
- Amortissement du matériel ;
- Rémunération des employés.

Nous avons par ailleurs établi un volume de brassin de 100 L à raison de quatre productions par mois.

Les bières alcoolisées sont soumises à deux taxes particulières, les droits d'accises (douane) et une cotisation à la Sécurité Sociale. Les brasseries indépendantes produisant moins de 200 000 hL/an bénéficient d'un tarif réduit. En 2019, les droits d'accise sont de 3,75 €/degré/hL et la cotisation à la Sécurité Sociale de 1,50 €/degré/hL (service-public.fr, 2019).

Certains postes de dépense n'ont pas pu être estimés car ils nécessitent une première fabrication en conditions réelles pour être évalués (consommation en gaz, produits de nettoyage etc.).

Le coût de revient pour 25 cL avoisinera les 2 €, sa décomposition est présentée dans la [figure 27](#). Le détail du calcul est disponible dans l'annexe XII.

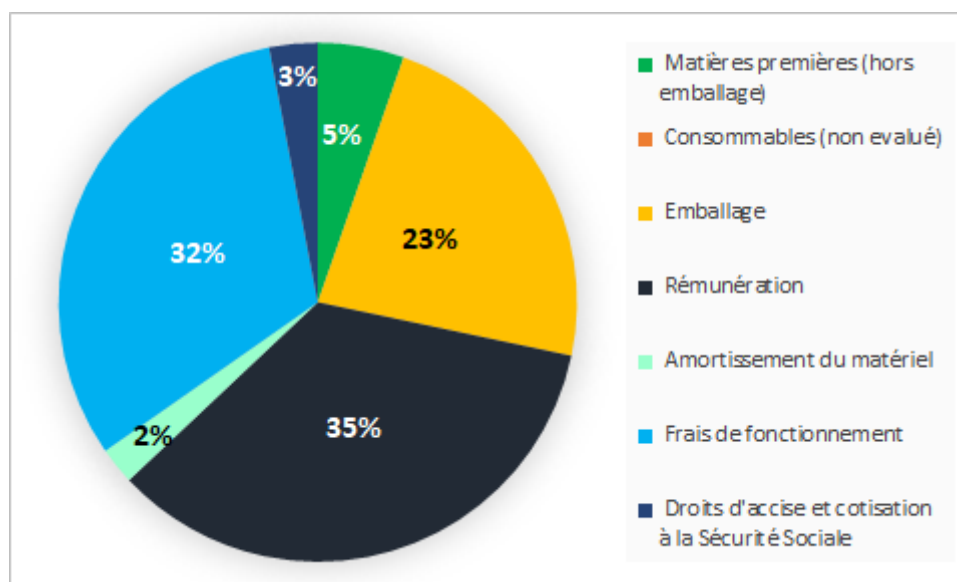


Figure 27 : Décomposition du coût de revient

6.2.2. Prix de vente

Après la détermination de notre prix de revient ainsi que l'étude des résultats du test de concept, nous avons décidé de mettre un prix de vente de 3 €. En effet, les consommateurs potentiels étaient en accord avec un prix de vente de l'ordre de 3 à 3,50 €.

6.3. Distribution

La distribution du produit ne comporte qu'un intermédiaire. En effet, nos distributeurs seront des bars à bières ou des caves spécialisées. Le consommateur ira se fournir directement chez eux et pourra consommer les bières sur place ou à son domicile.

Dans un premier temps, les distributeurs cible se trouveront en Bretagne et plus particulièrement dans les villes à proximité de notre brasserie.

La distribution sera donc une distribution sélective, les points de vente seront sélectionnés sur des critères de taille et de public ciblé. Ils seront livrés directement par nos soins.

6.4. Communication

La communication passera tout d'abord par le packaging de notre produit. En effet, l'emballage est l'un des premiers vecteurs de communication. Nous utiliserons aussi les réseaux sociaux comme Facebook et Instagram qui sont de forts vecteurs de communication où la majeure partie de notre cible est accessible.

Dans un second temps, notre communication passera par nos distributeurs. Des présentations de notre bière sous forme de flyers permettront au consommateur de découvrir ce nouveau type de bière encore méconnu du grand public. Des offres promotionnelles et de découverte permettront aussi de donner de la visibilité à notre produit et de donner envie au consommateur de le déguster.

6.5. Emballage primaire

Le projet réalisé dans l'UC Emballages et conditionnement nous a permis de nous pencher davantage sur le choix de notre matériau d'emballage, notamment basé sur des critères environnementaux. Concernant l'emballage primaire de la bière, on pense traditionnellement à la bouteille en verre ou à la canette. Mais pourquoi ne pas imaginer une bouteille en PET (Polytéréphtalate d'éthylène), ou bien en "bioplastique" ? Le but du projet étant de sélectionner le meilleur compromis entre les contraintes liées au produit et à la durabilité des matériaux d'emballage.

Le premier matériau étudié est la bouteille en verre à usage multiple (consignée). C'est le matériau le plus classique pour l'emballage de la bière et qui a une très bonne image du point de vue des consommateurs : gage de qualité, pratique, recyclable, sûr pour la santé, *etc.* (Leboulenger, 2018). De plus, le verre possède de nombreuses propriétés physico-chimiques et fonctionnelles intéressantes, notamment en termes de résistance aux chocs mécaniques et thermiques. En ce qui concerne la résistance chimique du verre, il est réputé pour qu'il n'y ait que très peu de migrations de l'emballage vers le produit en comparaison aux autres matériaux d'emballage. La réputation d'innocuité du verre d'emballage est valable pour tous les produits alimentaires, même à des pH acides (pH 3 à 7) (Mossé, 1997). Une des particularités du verre est qu'il présente diverses options de « fin de vie » après l'utilisation de son contenu. Il peut être recyclé dans des systèmes de collecte spécifiques ou réutilisé par re-remplissage avec le même produit : il s'agit alors d'un emballage consigné (ADEME, 2011).

Le second matériau est la cannette à usage unique conçue soit entièrement en aluminium, soit le corps de la cannette est en acier et l'opercule supérieur est en aluminium. Dans chaque cas, l'intérieur de la cannette est recouvert d'un film alimentaire qui a pour but d'éviter la migration des particules métalliques dans le liquide. Cela est cependant remis en cause dans plusieurs travaux de recherche, qui suspectent une interaction entre les ions métalliques et le contenu de la cannette, ce qui peut avoir un impact négatif sur l'organisme humain (ASEF, 2017). La cannette a cependant l'avantage d'être complètement opaque, ce qui évite les réactions du liquide avec la lumière et permet donc une meilleure conservation. Sa légèreté facilite également son transport.

La bouteille PET peut être vue comme une troisième option, car ce plastique est beaucoup exploité pour sa transparence et sa possible coloration, ainsi que pour sa flexibilité. Il peut être recyclé à l'infini et à une grande imperméabilité aux gaz (Ramos *et al*, 2015). Cependant certains composants du PET, notamment le trioxyde d'antimoine, sont susceptibles de migrer vers le contenu de la bouteille, ce qui entraînerait de graves conséquences pour la santé des consommateurs (Quentin, 2004). De plus, commercialiser de la bière dans une bouteille en PET n'est pas vendeur, ceci ne renvoie pas une image de qualité au consommateur.

Une dernière option serait d'utiliser une bouteille en bioplastique compostable. Les bioplastiques ont une empreinte carbone réduite par rapport aux autres emballages liquides. En revanche, ils n'ont pas tous les mêmes options de fin de vie. Le PLA (Polylactic Acid) associé à des matériaux pour améliorer sa rigidité et diminuer sa perméabilité pourrait être une alternative d'emballage intéressante (Van den Oever *et al*, 2017). Cependant, il y a pour l'instant peu d'informations sur la compatibilité avec les produits alimentaires. De plus, le prix de l'emballage au vu des volumes produits par la brasserie fait que cette solution n'est économiquement pas pérenne.

La solution la plus viable choisie pour l'emballage primaire est ainsi la bouteille en verre consignée pour des raisons budgétaires et environnementales. En effet, ce matériau est jugé après recherches le plus faible en termes d'empreinte carbone. En effet, la jeune brasserie *La Mousaillonne* commercialise ses bières acides dans des points de vente spécialisés dans un rayon de 100 km, ce qui rend possible le système de consigne du verre. De plus, l'association Distro se charge de collecter et laver les bouteilles de bière en Bretagne. Cette proximité géographique permet de limiter au maximum le transport, donc l'empreinte carbone, et ainsi renforcer à la fois notre implication dans l'éco-conception et dans la production exclusive en Bretagne.

7. Limites et perspectives

A ce stade, notre projet n'est pas encore abouti et nous pouvons énoncer quelques limites de notre développement. Conscients de ces freins, nous proposons alors quelques perspectives d'évolution pour y faire face et ainsi pérenniser notre produit.

- Formulation

Comme expliqué précédemment, le manque de temps ne nous a pas permis de réaliser un deuxième brassage avec l'essai sélectionné. En effet, il est primordial pour toute commercialisation que le produit soit reproductible, et nous n'avons malheureusement pas eu l'occasion de le vérifier. Or pour la session de brassage réalisée, nous avons utilisé l'eau du réseau, dont la composition peut changer au cours du temps. De ce fait, une installation de filtration de l'eau associée à des contrôles de teneur en minéraux réguliers sont indispensables dans toute brasserie.

De plus, la souche bactérienne sélectionnée pour acidifier notre bière provenant du CIRM rend notre bière non commercialisable. Il faudra alors imaginer un partenariat ou bien refaire des essais avec des souches similaires issues du commerce.

Par la suite, il serait également intéressant de décliner la gamme de "La Sourvoltée" avec des bières aromatisées aux agrumes ou aux fruits rouges par exemple. Enfin, d'après les résultats de notre test concept et pour répondre aux attentes de certains consommateurs, notre bière sera aussi proposée à un format de 75 cL. Cette bouteille destinée à être partagée pourrait être un cadeau idéal pour tous les connaisseurs ou les curieux avides de nouveautés.

- Marketing

Sur le plan marketing, il est important de continuer le développement sur les réseaux sociaux pour gagner en visibilité tout en éduquant le consommateur. En effet, beaucoup ne connaissent pas les bières acides et leur goût particulier. Pour préparer et renseigner les consommateurs, d'autres postes seront donc publiés régulièrement sur la page Instagram de la brasserie. Des soirées dégustations pourront également être organisées dans les caves à bière du centre-ville rennais afin de faire découvrir notre concept au plus grand nombre.

Conclusion

L'objectif de notre projet était d'innover sur un des produits les plus connus de l'agroalimentaire : la bière. Notre principal enjeu était de proposer une bière acide, non aromatisée avec un taux d'alcool suffisant tout en surfant sur la tendance locale. C'est ainsi que nous avons créé "La Sourvoltée", une bière acide produite en Bretagne.

De par les compétences et l'organisation qu'il nécessitait, ce projet fut très enrichissant. En effet, nous avons pu utiliser les compétences acquises tout au long de notre formation. Le fait d'avoir pu travailler en groupe sur ce projet nous a permis de nous rendre compte de l'importance de la communication et de l'organisation pour le mener à bien. Nous avons plus spécialement pu voir que la planification en amont est très importante pour un déroulement optimal du projet. De plus, les éventuels désaccords et difficultés nous ont permis de mettre le doigt sur les problèmes et donc d'avancer.

Les discussions avec les professeurs et le personnel du laboratoire mais aussi avec nos camarades de la Ruée Vers l'Orge nous ont été précieux pour l'avancée de notre projet. Nous avons réussi à développer un produit, tout en restant conscient qu'il demande encore de nombreuses améliorations et phases de test afin de qu'il soit abouti. De nombreuses choses restent encore à faire que ce soit au niveau du marketing opérationnel ou de la formulation de notre produit. En outre, ce projet a été un très bon moyen de découvrir la création d'un nouveau produit, de l'idée jusqu'à la méthode de vente en passant par son développement et sa production.

Finalement, ce projet a été un moyen de nous enrichir, tant sur le plan de la conduite de projet que sur l'acquisition de nouvelles compétences que ce soit en ingénierie agroalimentaire ou dans un registre commercial.

Références bibliographiques

ABRIOUEL, Hikmate, LERMA, Leyre Lavilla, CASADO MUÑOZ, María del Carmen, MONTORO, Beatriz Pérez, KABISCH, Jan, PICHNER, Rohtraud, CHO, Gyu-Sung, NEVE, Horst, FUSCO, Vincenzina, FRANZ, Charles M. A. P., GÁLVEZ, Antonio et BENOMAR, Nabil, 2015. The controversial nature of the Weissella genus: technological and functional aspects versus whole genome analysis-based pathogenic potential for their application in food and health. In : *Frontiers in Microbiology* [en ligne]. 27 octobre 2015. Vol. 6. [Consulté le 1 juin 2019]. DOI 10.3389/fmicb.2015.01197. Disponible à l'adresse : <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fmicb.2015.01197/abstract>.

ADEME, 2011. Consignes pour les emballages boissons [en ligne]. novembre 2011. S.l. : s.n. Disponible à l'adresse : <https://www.ademe.fr/sites/default/files/assets/documents/fiche-technique-ademe-sur-consigne-pour-emballages-boissons-2011.pdf>.

ALMAGUER, Cynthia, GASTL, M, ARENDT, Elke et BECKER, Th, 2012. Contributions of hop hard resins to beer quality. In : *BrewingScience*. 2012. Vol. 65, p. 118-129.

AMERICANCRAFTBEER (2018). America's fastest growing beer styles. <https://www.americancraftbeer.com/americas-fastest-growing-beer-styles/> [Consulté le 28 juin 2019]

ANSES, 2011a. Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments / *Clostridium botulinum*, *Clostridium neurotoxinogènes*. 2011. S.l. : s.n.

ANSES, 2011b. Fiche de description de danger biologiques transmissibles par les aliments / *E.coli* entérohémorragiques. 2011. S.l. : s.n.

ANSES, 2011c. Fiche de description de danger biologiques transmissibles par les aliments / *Staphylococcus aureus*. 2011. S.l. : s.n.

ANSES, 2012a. Fiche de description de danger biologique transmissibles par les aliments/*Bacillus cereus*. 2012. S.l. : s.n.

ANSES, 2012b. Fiche de description de danger biologiques transmissibles par les aliments / *Listeria Monocytogenes*. 2012. S.l. : s.n.

ANSES, 2013. Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments / *Aspergillus flavus* et autres moisissures productrices d'aflatoxines. 2013. S.l. : s.n.

ANSES, 2017. Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments / *Clostridium perfringens*. 2017. S.l. : s.n.

ANSES, 2018. Attribution des sources des maladies infectieuses d'origine alimentaire/ Partie 2: Analyse des données épidémiologiques. 2018. S.l. : s.n.

ASEF, 2017. L'aluminium, ce métal qui nous empoisonne : La synthèse de l'ASEF. In : [en ligne]. 27 avril 2017. Disponible à l'adresse : <http://www.asef-asso.fr/production/laluminium-ce-metal-qui-nous-empoisonne-la-synthese-de-lasef/>.

BARON, F. (2016). Travaux pratiques de microbiologie alimentaire, deuxième année cursus agroalimentaire, Agrocampus Ouest.

BERNOTIENĖ, Genovaitė et BUTKIENĖ, Rita, 2004. Chemical composition of essential oils of hops (*Humulus lupulus* L.) growing wild in Aukštaitija. In : Chemija. 2004. Vol. 15, n° 2, p. 31–36.

BOKULICH, N. A. et BAMFORTH, C. W., 2013. The Microbiology of Malting and Brewing. In : Microbiology and Molecular Biology Reviews. 1 juin 2013. Vol. 77, n° 2, p. 157-172. DOI 10.1128/MMBR.00060-12.

BOKULICH, Nicholas A., BAMFORTH, Charles W. et MILLS, David A., 2012. Brewhouse-Resident Microbiota Are Responsible for Multi-Stage Fermentation of American Coolship Ale. In : DU, Chenyu (éd.), PLoS ONE. 18 avril 2012. Vol. 7, n° 4, p. e35507. DOI 10.1371/journal.pone.0035507.

BOKULICH, Nicholas A, BERGSVEINSON, Jordyn, ZIOLA, Barry et MILLS, David A, 2015. Mapping microbial ecosystems and spoilage-gene flow in breweries highlights patterns of contamination and resistance. In : eLife [en ligne]. 10 mars 2015. Vol. 4. [Consulté le 2 juin 2019]. DOI 10.7554/eLife.04634. Disponible à l'adresse : <https://elifesciences.org/articles/04634>.

BOURRE, Jean-Marie, 2000. De l'épi au demi: la bière, aliment, santé, plaisir. Paris : Flammarion. ISBN 978-2-08-067723-5.

BRASSERIE CASTILLON, 2015. Walls and roof sprayed with Lambic. In : Brasserie Cantillon [en ligne]. 5 février 2015. Disponible à l'adresse : https://www.facebook.com/permalink.php?story_fbid=888263374558973&id=110627652322553%2F.

BTOBEER, 2016. Bien choisir son Eau de Brassage. In : BtoBeer [en ligne]. 20 octobre 2016. Disponible à l'adresse : <https://www.btobeer.com/themes-conseils-techniques-bieres-brasseries/zythologie/bien-choisir-son-eau-de-brassage>.

DE CLERCK, Jean, 1948. Cours de brasserie. 2. S.l. : E. De Clerck. Cours de brasserie.

DE KEUKELEIRE, Denis, 2000. Fundamentals of beer and hop chemistry. In : Química Nova. février 2000. Vol. 23, n° 1, p. 108-112. DOI 10.1590/S0100-40422000000100019.

DE KEUKELEIRE, Denis, DE COOMAN, Luc, RONG, Haojing, HEYERICK, Arne, KALITA, Jogen et MILLIGAN, Stuart R., 1999. Functional Properties of Hop Polyphenols. In : GROSS, Georg G., HEMINGWAY, Richard W., YOSHIDA, Takashi et BRANHAM, Susan J. (éd.), Plant Polyphenols 2 [en ligne]. Boston, MA : Springer US. p. 739-760. [Consulté le 26 avril 2019]. ISBN 978-0-306-46218-4. Disponible à l'adresse : http://link.springer.com/10.1007/978-1-4615-4139-4_41.

DR. LAMBIC, 2015. Lactobacillus 2.0 – Advanced techniques for souring beer. In : Sour Beer Blog [en ligne]. 18 novembre 2015. Disponible à l'adresse : <http://sourbeerblog.com/lactobacillus-2-0-advanced-techniques-for-fast-souring-beer/>.

DRIDER, Djamel et PRÉVOST, Hervé (éd.), 2009. Bactéries lactiques : physiologie, métabolisme, génomique et applications industrielles. Paris : Economica. ISBN 978-2-7178-5676-7. QR121 .B32 2009

EL KHOURY, Mariette, 2014. Etude de la diversité des souches d'Oenococcus oeni responsables de la fermentation malolactique des vins dans différentes régions vitivinicoles. Thèse de doctorat. Bordeaux : Bordeaux.

EUROPEAN COMMISSION, 2018. Rapid Alert System for Food and Feed 2017 Annual Report. 2018. S.l. : s.n.

EYRES, Graham et DUFOUR, Jean-Pierre, 2009. 22 - Hop Essential Oil: Analysis, Chemical Composition and Odor Characteristics. In : PREEDY, Victor R. (éd.), Beer in Health and Disease Prevention [en ligne]. San Diego : Academic Press. p. 239-254. ISBN 978-0-12-373891-2. Disponible à l'adresse : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123738912000225>.

FAIVELEY, Marc, 2009. Stratégies de fermentation appliquées aux boissons. In : Techniques de l'ingénieur Procédés biochimiques et chimiques en agroalimentaire [en ligne]. 2009. Vol. base documentaire : TIB431DUO., n° ref. article : f3550. Disponible à l'adresse : <https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/procedes-chimie-bio-agro-th2/procedes-biochimiques-et-chimiques-en-agroalimentaire-42431210/strategies-de-fermentation-appliquees-aux-boissons-f3550/>.

FAIVELEY, Marc, 2010. Fabrication des bières. In : Techniques de l'ingénieur Filière de production : produits d'origine végétale [en ligne]. 2010. Vol. base documentaire : TIB433DUO., n° ref. article : f6205. Disponible à l'adresse : <https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/procedes-chimie-bio-agro-th2/filiere-de-production-produits-d-origine-vegetale-42433210/fabrication-des-bieres-f6205/>.

FAUCHER, J.L. et al. (1983). Etude bactériologique de 131 échantillons de lait de femme collectés dans une banque de lait parisienne. In : Médecine et Maladies Infectieuses, 13, 788-792p.

FENG, Shi, 2014. Aroma-active compounds in « Centennial », « Citra » and « Nelson Sauvin » hop varieties and their aroma contribution to dry-hopped beer. Master Thesis. Oregon : Oregon State University.

FERRANDI, Jean-Marc, PONCHON, Camille et COUSIN, Laura, [sans date]. Le processus d'innovation. In : . p. 20.

FRANCE et ASSOCIATION DES BRASSEURS DE FRANCE, 2001. Guide de bonnes pratiques d'hygiène en brasserie. Paris : Direction des Journaux officiels. ISBN 978-2-11-074991-8.

GAJANAN, M. (2017). Why Everyone Is Suddenly Obsessed With Sour Beer. <http://time.com/4913121/sour-beer-drink/> [Consulté le 28 juin 2019]

GAUDIAUT, Tristan, 2018. Infographie: La succes story de la bière au pays du vin. In : Statista Infographies [en ligne]. 3 août 2018. [Consulté le 27 mai 2019]. Disponible à l'adresse : <https://fr.statista.com/infographie/14973/marche-de-la-biere-et-nombre-de-brasseries-en-france/>.

GIL-SÁNCHEZ, Irene, BARTOLOMÉ SUÁLDEA, Begoña et VICTORIA MORENO-ARRIBAS, M., 2019. Malolactic Fermentation. In : Red Wine Technology [en ligne]. S.l. : Elsevier. p. 85-98. [Consulté le 1 juin 2019]. ISBN 978-0-12-814399-5. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128143995000062>.

GOEMAERE, Matthieu, LOUIS, Linda et MOUSSEAU, Thomas, 2017. Secrets de brasseur: réussir sa bière maison. Paris : Éd. La Plage. ISBN 978-2-84221-490-6.

GUYOT-DECLERCK, Christine, FRANÇOIS, Nancy, RITTER, Christian, GOVAERTS, Bernadette et COLLIN, Sonia, 2005. Influence of pH and ageing on beer organoleptic properties. A sensory analysis based on AEDA data. In : Food Quality and Preference. mars 2005. Vol. 16, n° 2, p. 157-162. DOI 10.1016/j.foodqual.2004.04.007.

HALL, R. D., HARRIS, G. et RICKETTS, R. W., 1959. STUDIES ON NON-BIOLOGICAL HAZES OF BEERS V. ROLE OF HOP AND MALT TANNINS. In : Journal of the Institute of Brewing. 6 mai 1959. Vol. 65, n° 3, p. 247-251. DOI 10.1002/j.2050-0416.1959.tb01452.x.

HAMMES, W. P. et VOGEL, R. F., 1995. The genus Lactobacillus. In : WOOD, B. J. B. et HOLZAPFEL, W. H. (éd.), The Genera of Lactic Acid Bacteria [en ligne]. Boston, MA : Springer US. p. 19-54. [Consulté le 1 juin 2019]. ISBN 978-1-4613-7666-8. Disponible à l'adresse : http://link.springer.com/10.1007/978-1-4615-5817-0_3.

ISO 7218:2007, Microbiologie des aliments - Exigences générales et recommandations.

JACKSON, D. (2019). EeBriaTradeCraft Beer Trends. <https://www.beerguild.co.uk/wp-content/uploads/2019/04/EeBriaTrade-Craft-Beer-Trends-2019-Part-One.pdf> [Consulté le 28 juin 2019]

JESTER KING BREWERY, 2017. First Coolship Fill of 2017 with Brandon Jones of Embrace the Funk. In : Jester King Brewery [en ligne]. 13 janvier 2017. Disponible à l'adresse : https://www.facebook.com/JesterKingBrewery/posts/10154502699393649?comment_id=10154504389923649&reply_comment_id=10154512163043649&comment_tracking=%7B%22tn%22%3A%22R%22%7D.

JOURNAL OFFICIEL DE L'UNION EUROPÉENNE, [sans date]. Règlement (CE) no 2073/2005. S.l. : s.n.

LE FIGARO, 2018. Après 36 ans de recul, la consommation de bière repart en France. In : [en ligne]. 17 mars 2018. Disponible à l'adresse : <http://www.lefigaro.fr/conso/2018/03/17/20010-20180317ARTFIG00024-apres-36-ans-de- recul-la-consommation-de-biere-repart-en-france.php>.

LEBOULENGER, S. (2018). Les bières artisanales pourraient peser 440 millions d'euros en 2020 [Etude Xerfi]. <https://www.lsa-conso.fr/les-bieres-artisanales-pourraient-peser-440-millions-d-euros-en-2020-etude-xerfi,306241> [Consulté le 28 juin 2019]

LEBOULANGER, Sylvie, 2018. Emballages : les consommateurs veulent plus d'évolutions. In : lsa-conso.fr [en ligne]. 15 novembre 2018. Disponible à l'adresse : <https://www.lsa-conso.fr/emballages-les-consommateurs-veulent-plus-d-evolutions,303356>.

LEBOULENGER, Sylvie, 2011. La bière poursuit son chemin vers la valorisation. In : LSA. 14 avril 2011.

MILK THE FUNK WIKI, [sans date]. Lactobacillus. In : Milk The Funk Wiki [en ligne]. Disponible à l'adresse : <http://www.milkthefunk.com/wiki/Lactobacillus>.

MOLL, Manfred, 1991. Bieres alcoolisées, à Faible Teneur ou Sans Alcool & Coolers: Définition. Fabrication. Composition. Paris : Lavoisier. ISBN 978-2-85206-752-3.

MOSHER, Randy, 2009. Tasting beer: an insider's guide to the world's greatest drink. North Adams, MA : Storey Pub. ISBN 978-1-60342-089-1. TP577 .M68 2009

MOSSÉ, Michel, 1997. Emballages en verre. In : Techniques de l'ingénieur Conception d'emballage [en ligne]. 10 juillet 1997. Vol. base documentaire : TIB133DUO., n° ref. article : a9785. Disponible à l'adresse : <https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/genie-industriel-th6/conception-d-emballage-42133210/emballages-en-verre-a9785/>.

MOŠTEK, 1969. Chemical properties of polyphenols (tanning matters) present in hops and their role in brewing industry. In : Kvasný průmysl. 1969. n° 8, p. 6.

NISSSEN, Hans J., DAMEROW, Peter et ENGLUND, Robert K. (éd.), 2004. Informationsverarbeitung vor 5000 Jahren: frühe Schrift und Techniken der Wirtschaftsverwaltung im alten Vorderen Orient ; Informationsspeicherung und -verarbeitung vor 5000 Jahren. Hildesheim : Franzbecker [u.a.]. ISBN 978-3-88120-400-2.

OEVER, Martien van den, MOLENVELD, Karin, ZEE, Maarten van der et BOS, Harriëtte, 2017. Bio-based and biodegradable plastics: facts and figures : focus on food packaging in the Netherlands [en ligne]. S.l. : s.n. [Consulté le 5 juin 2019]. ISBN 978-94-6343-121-7. Disponible à l'adresse : <http://dx.doi.org/10.18174/408350>.

OLIVER, G. et COLICCHIO, T., 2011. The Oxford Companion to Beer [en ligne]. S.l. : Oxford University Press. ISBN 978-0-19-991210-0. Disponible à l'adresse : <https://books.google.fr/books?id=oWQdjnVo2B0C>.

PEYER, Lorenzo C., ZARNKOW, Martin, JACOB, Fritz, DE SCHUTTER, David P. et ARENDT, Elke K., 2017. Sour Brewing: Impact of Lactobacillus Amylovorus FST2.11 on Technological and Quality Attributes of Acid Beers. In : Journal of the American Society of Brewing Chemists. juin 2017. Vol. 75, n° 3, p. 207-216. DOI 10.1094/ASBCJ-2017-3861-01.

POT, Bruno, LUDWIG, Wolfgang, KERSTERS, Karel et SCHLEIFER, Karl-Heinz, 1994. Taxonomy of Lactic Acid Bacteria. In : DE VUYST, Luc et VANDAMME, Erick J. (éd.), Bacteriocins

of Lactic Acid Bacteria [en ligne]. Boston, MA : Springer US. p. 13-90. [Consulté le 1 juin 2019]. ISBN 978-1-4613-6146-6. Disponible à l'adresse : http://link.springer.com/10.1007/978-1-4615-2668-1_2.

QUENTIN, Jean-Pierre, 2004. PET ou polyéthylènetéréphtalate. In : Techniques de l'ingénieur Fabrication des grands produits industriels en chimie et pétrochimie [en ligne]. 10 juin 2004. Vol. base documentaire : TIB319DUO., n° ref. article : j6488. Disponible à l'adresse : <https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/procedes-chimie-bio-agro-th2/fabrication-des-grands-produits-industriels-en-chimie-et-petrochimie-42319210/pet-ou-polyethyleneterephtalate-j6488/>.

RAMOS, Marina, GARCÍA, Arantzazu, MELLINAS, Cristina et GARRIGÓS, Maria, 2015. New Trends in Beverage Packaging Systems: A Review. In : Beverages. octobre 2015. Vol. 1, p. 248. DOI 10.3390/beverages1040248.

RAYON BOISSON, 2008. Baromètre des bières et cidres. In : Rayon Boisson. mai 2008.

RAYON BOISSON, 2017. Dossier Bière de spécialités. In : . novembre 2017. n° 267, p. 61-68.

RAYON BOISSON, 2019. Dossier Bières. In : Rayon Boisson. avril 2019. n° 283, p. 61-82.

SAARELA, Maria (éd.), 2007. Functional dairy products. Vol. 2: ... Boca Raton, Fla : CRC [u.a.]. Woodhead publishing in food science and technology. ISBN 978-1-84569-153-0.

SAKAMOTO, Kanta et KONINGS, Wil N, 2003. Beer spoilage bacteria and hop resistance. In : International Journal of Food Microbiology. décembre 2003. Vol. 89, n° 2-3, p. 105-124. DOI 10.1016/S0168-1605(03)00153-3.

SALAC, V., 1957. In : Brewer's Digest. mai 1957.

SERVICE-PUBLIC.FR, 2019. Taxation des boissons. In : Service-public.fr [en ligne]. 1 janvier 2019. [Consulté le 16 mai 2019]. Disponible à l'adresse : <https://www.service-public.fr/professionnels-entreprises/vosdroits/F32101>.

SPARROW, Jeff, 2005. Wild brews: beer beyond the influence of brewer's yeast. Boulder, Colo : Brewers Publications. ISBN 978-0-937381-86-1. TP577 .S645 2005

SPITAEELS, Freek, WIEME, Anneleen D., JANSSENS, Maarten, AERTS, Maarten, VAN LANDSCHOOT, Anita, DE VUYST, Luc et VANDAMME, Peter, 2015. The microbial diversity of an industrially produced lambic beer shares members of a traditionally produced one and reveals a core microbiota for lambic beer fermentation. In : Food Microbiology. août 2015. Vol. 49, p. 23-32. DOI 10.1016/j.fm.2015.01.008.

STEVENS, Roger, 1967. The Chemistry of Hop Constituents. In : Chemical Reviews. 1 février 1967. Vol. 67, n° 1, p. 19-71. DOI 10.1021/cr60245a002.

STILES, Michael E. et HOLZAPFEL, Wilhelm H., 1997. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. In : International Journal of Food Microbiology. avril 1997. Vol. 36, n° 1, p. 1-29. DOI 10.1016/S0168-1605(96)01233-0.

THOMAS, 2016. Tout savoir sur les malts, céréales et sucres de la bière. In : Happy Beer Time [en ligne]. 3 mai 2016. Disponible à l'adresse : <https://www.happybeertime.com/blog/2016/05/03/tout-savoir-sur-les-malts-cereales-et-sucres-de-la-biere/>.

TONSMEIRE, Michael, 2014. American sour beers: innovative techniques for mixed fermentations. Boulder, Colorado : Brewers Publications. ISBN 978-1-938469-11-4. TP577 .T63 2014

TONSMEIRE, Michael, 2016. Quick Sour, then what? Acid Tolerance of Brewer's Yeast. In : The Mad Fermentationist [en ligne]. 13 décembre 2016. Disponible à l'adresse : <https://www.themadfermentationist.com/2016/12/quick-sour-then-what-acid-tolerance-of.html>.

UNIVERS BIÈRE, [sans date]. Ingrédients pour le brassage amateur - malt. In : Univers Bière [en ligne]. Disponible à l'adresse : http://univers-biere.net/br_malt.php.

UNIVERS BIÈRE, [sans date]. Mesurer le taux d alcool dans la bière. In : [en ligne]. Disponible à l'adresse : http://univers-biere.net/mesur_dens.php.

VAUGHAN, Anne, O'SULLIVAN, Tadhg et SINDEREN, Douwe, 2005. Enhancing the Microbiological Stability of Malt and Beer - A Review. In : Journal of the Institute of Brewing. 2005. Vol. 111, n° 4, p. 355-371. DOI 10.1002/j.2050-0416.2005.tb00221.x.

WÄHREN, 1990. Brot und Getreide in der Urgeschichte. S.l. : s.n. Die ersten Bauern.

Table des annexes

Annexe I : Planifications prévisionnelle et finale du projet	Erreur ! Signet non défini.
Annexe II : Compte rendu financier du projet	2
Annexe III : p-value des tests du khi ² significatifs, entre les variables en colonnes et en ligne.....	3
Annexe IV : Investissement en matériel au démarrage de la brasserie (source auteurs).....	4
Annexe V : Annonce de location pour un local d'activité (Guenno.fr)	5
Annexe VI : Huiles essentielles du houblon et descripteur aromatique associé (Oliver, Colicchio, 2011)	6
Annexe VII : Protocole de préparation des milieux de culture et de dénombrement des bactéries lactiques	7
Annexe VIII : Programmes Pré-requis	Erreur ! Signet non défini.
Annexe IX : Protocole de mesure de l'acidité titrable et du pH (Faucher, J.L. et al., 1983)	14
Annexe X : Fiche de dégustation de l'analyse sensorielle	17
Annexe XI : Compte-rendu de l'analyse sensorielle	18
Annexe XII : Calcul du coût de revient pour la production de 100 L de bière acide	27

Annexe I : Planifications prévisionnelle et finale du projet

[illegible]

Annexe II : Compte rendu financier du projet

COMPTE RENDU FINANCIER

Date	Numéro de facture	Dépenses	Montant TTC
Matériel			
03/04/2019	1302-0000001792	Gaz	2,58 €
26/03/2019	#FA345743	Barboteur plastique avec capuchon x 24	36,00 €
26/03/2019	#FA345743	Bouchon caoutchouc troué 9mm x 24	54,72 €
26/03/2019	#FA345743	Sac pour brassage 30*30*25cm	15,50 €
26/03/2019	#FA345743	Frais de livraison	3,60 €
22/05/2019	F7EB9480D0813C7	Goupillon	0,90 €
Sous-total			112,70 €
Matières premières			
26/03/2019	#FA345743	Houblon en pellets CASCADE Poids : 100 g	6,70 €
26/03/2019	#FA345743	Houblon en pellets CITRA Poids : 100 g	9,80 €
26/03/2019	#FA345743	Houblon en pellets MANDARINA BAVARIA Poids : 100 g	6,30 €
26/03/2019	#FA345743	LALLEMAND Wildbrew Sour Pitch - Poids : 10 g	11,90 €
26/03/2019	#FA345743	Malt acide 9EBC - Poids : 1 kg	3,80 €
26/03/2019	#FA345743	SAFALE US-05 - Poids : 11.5 g	3,20 €
26/03/2019	#FA345743	WYEAST 5335 Lactobacillus	17,50 €
26/03/2019	#FA345743	Frais de livraison	3,60 €
03/04/2019	1302-0000001792	Malts Pils	4,83 €
03/04/2019	1302-0000001792	Malt de blé	0,53 €
03/04/2019	1302-0000001792	Malt Caramunich	0,28 €
Sous-total			68,44 €
ETUDE DE MARCHÉ			
<i>Bières - veille concurrentielle</i>			
13/06/2018	07F770B5CCE33F9E	V&B Sour Ale Page 24	3,20 €
13/06/2018	07F770B5CCE33F9E	Lindemman gueze	1,60 €
13/06/2018	C321F5CAA1D61455	Chez Alain sour noise	3,60 €
13/06/2018	C321F5CAA1D61455	Trolltunga	4,00 €
13/06/2018	C321F5CAA1D61455	the rhubarb berliner weisse	3,60 €
13/06/2018	C321F5CAA1D61455	Iron: the time has come bitter	4,00 €
14/06/2018	241F377B5CCFC929	Maloan Política	5,95 €
14/06/2018	241F377B5CCFC929	Berliner Weiss	5,60 €
14/06/2018	E62DB4E6935A8586	Cave à Flo sour tepunga	3,25 €
14/06/2018	E62DB4E6935A8586	Rose Hipped: funky sour	3,55 €
<i>Bières - analyse acidité et pH</i>			
26/03/2019	D0BB68263EA36018	Chez Alain Trolltunga	7,50 €
26/03/2019	2F065D1D3745E209	Coin mousse Sour et muette	3,90 €
<i>Analyse sensorielle</i>			
14/05/2019	B35E857512C3DCD1	Coin mousse Sour et muette	3,90 €
27/05/2019	1C2A91812902AF04	Gressins pour l'analyse sensorielle	1,59 €
Sous-total			55,24 €
IMPRESSIONS			
11/06/2019		Rapport du projet L3/M1	50,00 €
24/05/2019		Fiches de dégustation d'analyse sensorielle	10,00 €
Sous-total			60,00 €
TOTAL			296,38 €

Annexe III : p-value des tests du khi² significatifs, entre les variables en colonnes et en ligne

	Sexe	Âge	CSP	Région	Freq conso biere	Conso vin	Conso cocktail
Ce concept est innovant	7.704e-05	0.00567	0.005	0,0963			
Envie tester La Sourvoltée					0.01567	0,035	0.0016
Achat occasion spéciale		0.0002	0.00047		0.02479		
Achat pour offrir	1.486e-05						
Achat curiosité					6.54e-05		
Achat bretagne				9.105e-07			

Annexe IV : Investissement en matériel au démarrage de la brasserie (source auteurs)

Libellé	Quantité	Prix unitaire (€)	Total (€)
Cuve en inox de 100 L avec couvercle, robinet et thermomètre	2	197,00	394,00
Cuve en inox de 150 L avec couvercle, robinet et thermomètre	1	229,00	229,00
Fourneaux à gaz	2	24,00	48,00
Bruleur à gaz	1	370,00	370,00
Fond de cuve filtrant	1	50,00	50,00
Échangeur à plaque (40 plaques)	1	70,00	70,00
Fermenteur de 150 L	1	132,00	132,00
Pompe pour liquide alimentaire	1	105,00	105,00
Structure en escalier en inox	1	200,00	200,00
Tuyau pour liquide alimentaire à haute température au mètre	8	14,00	112,00
Broyeurs à malt électrique	2	282,00	564,00
Spatule de brassage	1	1,90	1,90
Seaux en plastique 10 L	3	5,21	15,63
Réfractomètre	1	46,00	46,00
Capsuleuse électrique	1	390,00	390,00
Débitmètre	1	160,00	160,00
Remplisseuse 3 siphons	1	285,00	285,00
Balance précision 0,1g	1	185,00	185,00
Balance portée 60 kg	1	190,00	190,00
Armoire réfrigérée 1200 L	1	1 298,00	1 298,00
Etuve 112 L	1	1 754,00	1 754,00
Total (€)			6 599,53

Annexe V : Annonce de location pour un local d'activité (Guenno.fr)

[Accueil](#) [Immobilier d'entreprise](#) [Louer](#) [Acheter](#) [Vendre](#) [Rennes](#) [Juridique](#) [Recrutement](#) [Autre clients](#) [Contact](#) [02 52 56 03 81](#) 

[Accueil](#) [Location](#) [Local d'activité](#) [T0 NOYAL CHATELON SUR SEICHE](#) [Ref 61270](#)

Local d'activité T0 à Noyal chatillon sur seiche REF : 61270





NOYAL CHATELLON SUR SEICHE / NOYAL CHATELLON SUR SEICHE

Local d'activité T0 / 110 m²

Ref : 61270

890 €

[APPELER LE +33 2 52 56 03 81](#)

DÉTAILS DE L'ANNONCE

GUENNO BUSINESS MET A VOTRE DISPOSITION 6 NOYAL CHATELLON SUR SEICHE Local d'activité au coeur d'une zone dynamique et attractive au port de Rennes, au Sud de Rennes. Belle surface d'atelier de 110 m², bureau et belle hauteur, parking Accès immédiat 4 voies POUR + D'INFOS ET VISITES : GUENNO BUSINESS : 02 52 56 03 81

LES + DU BIEN

BON EMPLACEMENT FAIBLE CHARGES

[← Retour Recherche](#)

Annexe VI : Huiles essentielles du houblon et descripteur aromatique associé (Oliver, Colicchio, 2011)

Components of Essential Oils in Hop Lupulin

<i>Aroma descriptor</i>		<i>Essential oil/odorant</i>
Fruity	Citrus, bergamot	Linalool
	Citrus, balsamic	Limonene
	Citrus	Octanal
	Citrus, soapy	Nonanal
	Pineapple	Ethyl 2-methylpropanoate
	Pineapple	(3E,5Z)-Undeca-1,3,5-triene
	Pineapple	(3E,5Z,9E)-Undeca-1,3,5,9-tetraene
	Apple-like	(+/-)-Ethyl 2-methylbutanoate
	Raspberry	4-(4-Hydroxyphenyl)-2-butanone
	Black currant	4-Methyl-4-sulfanylpentan-2-one
	Fruity	Methyl 2-methylbutanoate
	Fruity	Ethyl 2-methylbutanoate
Floral	Gardenia	Farnesene
	Geranium leaf	Myrcene
	Geranium leaf	(5Z)-Octa-1,5-dien-3-one
	Rose	Geraniol
	Minty	2-Phenylethyl 3-methylbutanoate
Spicy	Black pepper	Carophyllene
	Aniseed, sweet	Anethole
	Soup seasoning	3-Hydroxy-4,5-dimethyl-2(5H)-furanone(sotolone)
Vegetative	Grassy	(3Z)-Hex-3-enal
	Muscat-like, green	(Z)-3-hexen-1-ol
	Bell pepper	2-Isopropyl-3-methoxypyrazine
	Cucumber	(2E,6Z)-Nona-2,6-dienal
	Cooked potato	3-(Methylsulfanyl)-propanal
Nutty	Almond, roasted	3-Methyl-2-butene-1-thiol
Caramelized	Honey	Phenylacetaldehyde
	Honey	Phenylacetic acid
	Sweet, honey	trans-Cinnamaldehyde
	Sweet	3-Hydroxy-2-methyl-4-pyrone
Woody	Balsamic	α -Humulene
	Vanilla	Vanillin
Earthy	Mushroom	Oct-1-en-3-one
	Mushroom, balsamic	Germacrene
Chemical	Cabbage	Dimethyltrisulfane
	Catty, thiol-like	3-Mercaptohexan-1-ol
	Rancid, cheesy	Butanoic acid
	Rancid, sweaty	(Z)-3-Hexenoic acid
Microbiological	Cheesy	3-Methylbutanoic acid
	Cheesy	Pentanoic acid
	Fatty	(2E,4E)-Nona-2,4-dienal

Source: Various studies conducted at Weißenstephan in Germany and the Kyoto University in Japan.
See WEIßENSTEPHAN.

Annexe VII : Protocole de préparation des milieux de culture et de dénombrement des bactéries lactiques

I. Préparation du Tryptone Sel

a. Matériel

Tryptone : 1 g

Chlorure de sodium : 8.5 g

Eau distillée : 1000 ml

b. Mode opératoire

Mélanger le tryptone, le chlorure de sodium et l'eau distillée dans un bécher de 1000 ml. Bien agiter jusqu'à dissolution. Distribuer en tubes ou en flacons puis autoclaver 20 minutes à 121 °C (Baron, 2016).

II. Procédure de dénombrement par culture

a. Principe

Le dénombrement par culture est basé sur le fait que les micro-organismes vivants sont capables de se multiplier en milieu nutritif et conditions d'incubation appropriées. La multiplication des cellules est caractérisée par la formation de colonies sur un milieu solidifié par de la gélose, ou un trouble dans un milieu liquide. Sur milieu gélosé, les colonies sont comptées et les résultats sont exprimés en UFC. Si le nombre de cellules dans un échantillon est censé être élevé, des dilutions décimales en série sont réalisées afin d'obtenir un nombre de colonie compris entre 10 et 300 par boîte (norme ISO 7218 octobre 2007).

b. Matériel

Verrerie :

8 boîtes de pétri stériles

8 tubes contenant 9 ml de tryptone sel

16 pipettes stériles en plastique de 1 ml

Equipement :

- 1 autoclave
- 1 bac contenant de l'eau de javel
- 1 bec bunsen
- 1 vortex
- 500 ml de milieux de culture MRS en surfusion

d. Mode opératoire

Dilutions :

Identifier chaque tube pour la dilution avec l'indication correspondant à la dilution.

Homogénéiser la suspension microbienne à prélever à l'aide d'un vortex pendant 3 secondes environ.

Ouvrir le flacon à proximité de la flamme et prélever 1 ml de suspension à l'aide de la pipette plastique stérile.

Ouvrir le tube de 9 ml de tryptone sel et y introduire le volume prélevé.

Refermer le tube et jeter la pipette souillée dans le bac à eau de javel.

La dilution suivante s'effectue comme la dilution décrite ci-dessus mais en partant du tube de la dilution précédente. Continuer ainsi la préparation des dilutions successives au 1/10ème de la suspension de bactérie jusqu'à la dilution 10^{-8} .

Ensemencement :

Identifier chaque boîte de pétri avec l'indication correspondant à la dilution.

Homogénéiser la dilution à prélever à l'aide d'un vortex pendant 3 secondes environ.

Ouvrir le tube à proximité de la flamme et prélever 1 ml de suspension à l'aide de la pipette plastique stérile.

Verser le volume prélevé dans la boîte de pétri puis refermer la boîte, refermer le tube et jeter la pipette souillée dans le bac à eau de javel.

Après s'être assuré de la bonne température du milieu MRS (maintenu en surfusion mais légèrement refroidie), le verser dans la boîte de pétri. Fermer la boîte et homogénéiser en maintenant la boîte à plat sur la paillasse et en effectuant des mouvements circulaires (en dessinant des 8).

Laisser refroidir la gélose sans la bouger.

Une fois refroidies, retourner les boîtes de pétri et les placer dans un bocal fermé hermétiquement avec un Anaerocult® A (Merck) pour créer un environnement anaérobie.

Placer le bocal dans une étuve à 35°C pendant 24 heures.

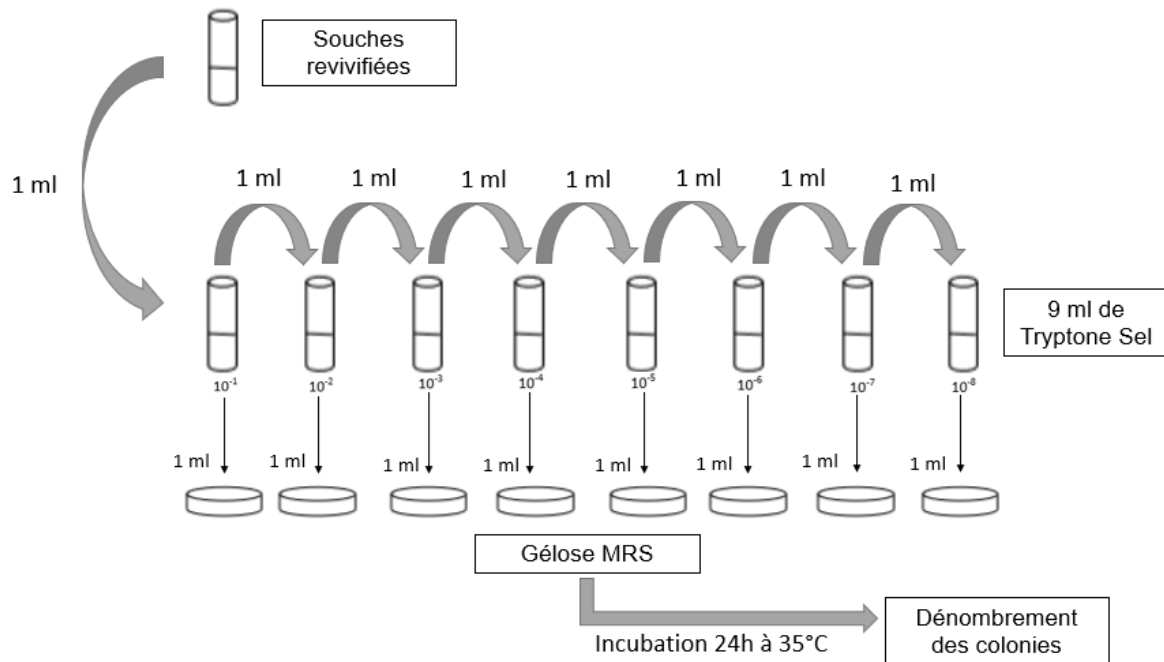


Figure 28 : Schématisation des différentes étapes de préparation pour le dénombrement de colonies (source auteurs).

e. Interprétation des résultats

Le résultat est arrondi à 2 chiffres, exprimé avec un nombre compris entre 1,0 et 9,9 multiplié par la puissance de 10 appropriée.

Annexe VIII : Programmes Prérequis

Programme Prérequis n°1 : Hygiène du personnel	
Mesures mises en place	Enregistrements
<p>Formation annuelle du personnel aux bonnes pratiques d'hygiène</p> <p>Laves main et lave semelles à l'entrée des zones de production et de conditionnement au niveau du sas hygiène</p> <p>Audit interne effectué par le service qualité en cours de production</p> <p>Affichage des consignes de nettoyage des mains</p> <p>Livret d'accueil personnel, prestataires et visiteurs édictant les règles d'hygiène fondamentales</p> <p>Port obligatoire de charlottes et chaussures de travail propre</p> <p>Tenues de travail spécifiques – Changement journalier au minimum</p> <p>Port de blouse, sur-chaussures et charlotte pour les visiteurs</p> <p>Entretien et nettoyage des tenues de travail par le prestataire Elis</p> <p>Suivi de l'état de santé du personnel</p>	<p>Evaluation du personnel après formation</p> <p>Rapport d'audit interne en cours de production</p> <p>Contrat prestataire d'entretien des tenues de travail + avis de passage pour la récolte de tenues sales et le dépôt de tenues propres</p> <p>Registre des visiteurs et prestataires</p> <p>Registre d'émargement pour attestation de réception du livret d'accueil par le personnel</p>

Programme Prérequis n°2 : Nettoyage et Désinfection	
Mesures mises en place	Enregistrements
<p>Plan de nettoyage et désinfection</p> <p>Audit interne réalisé par le service qualité en cours et hors production</p> <p>Vérification du pH de l'eau de rinçage résiduelle après nettoyage ☐ Assurer que le rinçage est suffisant</p> <p>Formation annuelle du personnel aux procédures de nettoyage et désinfection</p> <p>Contrôles de surface via bilames gélosées (flores totales/levures-moisissures)</p> <p>Produits de nettoyage et désinfection isolés sous clé</p>	<p>Rapport d'audit interne en cours de production et hors production</p> <p>Résultats d'évaluation à la formation</p> <p>Résultats contrôle de surface</p>

Programme Prérequis n°3 : Lutte contre les nuisibles	
Mesures mises en place	Enregistrements
<p>Portes de quai et d'entrée à l'usine étanches (pas de jours) ☑</p> <p>Suivi via les audit internes et les audits de maintenance du bâtiment.</p> <p>Affichage pour maintien des portes closes dans l'usine.</p> <p>Mise en place de pièges sur le site (rongeurs et insectes, DEIV)</p> <p>Suivi mensuel par le service qualité du nombre d'insectes sur les DEIV ☑ Pour identifier les périodes d'affluence.</p> <p>Suivi mensuel par la compagnie de dératisation</p>	<p>Contrat avec l'entreprise de gestion des nuisibles</p> <p>Rapport mensuel des consommations de rongicide et relevé des diverses trappes par l'entreprise de gestion des nuisibles</p> <p>Rapport d'audit interne</p> <p>Enregistrement du suivi du nombre d'insectes</p>

Programme Prérequis n°4 : Bonnes Pratiques de Fabrication et de conditionnement	
Mesures mises en place	Enregistrements
<p>Suivi en continu des températures des zones réfrigérées en continu avec alarme quand dépassement de la température de la consigne de plus de 2°C</p> <p>Etalonnage des sondes température (une fois en interne une fois en externe)</p> <p>Rotation des Stocks selon FIFO</p> <p>Procédure de Traçabilité pour les Matières Premières, les emballages et les Produits Finis</p> <p>Gestion des DLC/DLUO des produits</p> <p>Formation du personnel</p> <p>Gestion des déchets</p> <p>Produits stockés en hauteur ou sur une palette (jamais à même le sol). Ce principe s'applique aux matières premières, produits intermédiaires, produits finis, emballages et co-produits (drèches).</p> <p>Procédure de gestion des corps étrangers</p> <p>Procédure d'hygiène du personnel</p> <p>Formation spécifique des opérateurs en charge des CCPs</p>	<p>Fiches suiveuses de fabrication et conditionnement</p> <p>Journal des alarmes température quotidien des zones réfrigérés</p> <p>Rapports audits internes</p> <p>Résultats d'évaluations personnel</p>

Programme Prérequis n°5 : Gestion des corps étrangers	
Mesures mises en place	Enregistrements
Procédure de gestion des corps étrangers Audit verre-plastique dur mensuel Procédure d'hygiène du personnel (Port obligatoire de la charlotte, interdiction de porter des bijoux excepté l'alliance) Audits internes mensuels en cours de production et hors production	Résultats des rapports d'audit verre-plastique dur et suivi des actions correctives éventuelles Rapports audits internes mensuels et suivi des actions correctives

Programme Prérequis n°6 : Gestion des allergènes	
Mesures mises en place	Enregistrements
Procédure de gestion des allergènes (manipulation et stockage) Identification des produits allergènes Plan de Nettoyage et Désinfection du matériel Matériel dédié à la manipulation d'allergènes Formation du personnel Audits internes mensuels en cours de production et hors production Etiquetage – Allergène mis en évidence	Rapports audits internes mensuels et suivi des actions correctives Résultats d'évaluation formation personnel

Programme Prérequis n°7 : Locaux, équipements et fluides	
Mesures mises en place	Enregistrements
Maintenance préventive des équipements Plan de contrôle d'analyse de l'eau Inspection annuelle infrastructures et matériel Audit verre – plastique dur	Rapports d'inspection et d'audit internes Rapports de maintenance préventive

Programme Prérequis n°8 : Achats et Fournisseurs	
Mesures mises en place	Enregistrements
Référencement et évaluation des fournisseurs Contrôles des matières premières à réception	Fiche technique Matière Première Cahier des Charges fournisseurs Certificat d'aptitude au contact avec les aliments des matériaux d'emballages (bouteilles, capsules) Résultats d'évaluation fournisseurs Enregistrements divers

Programme Prérequis n°9 : Logistique	
Mesures mises en place	Enregistrements
Contrôles des Produits Finis avant chargement Respect du FIFO pour l'expédition	Bons de livraison

Annexe IX : Protocole de mesure de l'acidité titrable et du pH (Faucher, J.L. et al., 1983)

I. Mesure du degré Dornic

a. Principe

L'acidité titrable des échantillons de moût est mesurée par titrage alcalimétrique par la soude N/9 en présence de phénolphthaléine, utilisé comme indicateur coloré. Les résultats sont exprimés en degrés Dornic (°D), ou en quantité d'acide lactique par litre de moût. C'est le nombre de 1/10èmes de ml de soude N/9 utilisés pour titre 10 ml de lait (Faucher et al., 1983).

L'acidité Dornic est résultante de l'acidité naturelle du moût (malt utilisé) à laquelle vient s'ajouter l'acidité développée par les souches de bactéries lactiques introduites. Le résultat s'exprime donc en quantité d'acide lactique bien qu'il ne soit pas directement dosé (Faucher et al., 1983).

b. Matériel

Equipement :

- 1 bécher de 5 ml
- 1 pipette de 10 ml et un pipeteur
- Dispositif de Mohr (burette + flacon)
- Réactifs :
- 300 ml de Soude 1/9 N (1/9 mol.L⁻¹)
- 10 ml d'échantillon à titrer

c. Mode opératoire

Agiter le flacon contenant l'échantillon.

Prélever exactement 10 ml d'échantillon à tirer (à l'aide d'une pipette à usage unique) et l'introduire dans le bécher de 50 ml.

Attention : Réaliser le prélèvement auprès du bec bunsen allumé (flamme bleue) pour ne pas contaminer tout le flacon !

Ajouter 1 à 2 gouttes de phénolphthaléine.

Remplir la burette de solution d'hydroxyde de sodium de concentration molaire 1/9 N et ajuster le niveau du liquide au niveau zéro de la burette.

Agiter le bécher pour homogénéiser le mélange échantillon + phénolphthaléine.

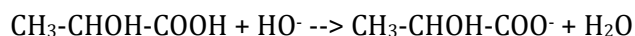
Verser goutte à goutte l'hydroxyde de sodium jusqu'au virage, soit l'apparition de la couleur rose de l'indicateur coloré (coloration persistante au moins 10 secondes).

Pour notre échantillon, le virage est atteint quand on remarque une **couleur orange foncé** persistante.

Noter le volume d'hydroxyde de sodium versé.

d. Interprétation des résultats

Pour l'acide lactique, l'équation-bilan de la réaction est la suivante :



L'équivalence d'un titrage est définie par le changement de réactif limitant. À l'équivalence, le réactif titré et le réactif titrant ont été introduits dans les proportions stœchiométriques de l'équation de titrage : il n'en reste donc plus.

On peut donc écrire :

$$n_{\text{acide lactique titré}} / 1 = n_{\text{HO}^- \text{ versé}} / 1$$

Soit :

$$C_a \cdot V_{\text{titré}} = C_b \cdot V_{\text{eq}}$$

$$C_a = (C_b \cdot V_{\text{eq}}) / V_{\text{titré}}$$

Avec :

C_a : concentration molaire de l'acide lactique

C_b : concentration molaire de soude

$V_{\text{titré}}$: volume de solution de moût à titre

V_{eq} : volume de soude versé pour atteindre l'équivalence

Or la concentration massique (ρ) et la concentration molaire sont liées par la relation :

$$\rho = C_a \cdot M_a$$

Donc :

$$\rho = ((C_b \cdot V_{\text{eq}}) / V_{\text{titré}}) \cdot M_a$$

Avec la masse molaire de l'acide lactique : $M_{\text{acide lactique}} = 90 \text{ g.mol}^{-1}$

Un degré Dornic (1°D) correspond à 0,1 g d'acide lactique par litre de moût.

II. Protocole mesure du pH

a. Principe

La mesure de pH correspond à la détermination de la concentration des ions d'hydrogène libres (H^+) dans une solution d'après la relation : $\text{pH} = -\log[\text{H}^+]$

L'échelle pH va de 1 jusqu'à 14 et la pH de l'eau pure est de 7.

b. Matériel

Equipement :

- pH mètre
- Pissette d'eau distillée
- Papier absorbant
- Bécher de 100 ml
- Bécher de 50 ml

Réactifs :

- 15 ml de l'échantillon à mesurer

c. Mode opératoire

Agiter le flacon contenant l'échantillon.

Prélever environ 15 ml d'échantillon à tirer (à l'aide d'une pipette à usage unique) et l'introduire dans le bécher de 50 ml.

Attention : Réaliser le prélèvement auprès du bec bunsen allumé (flamme bleue) pour ne pas contaminer tout le flacon !

Enlever le bouchon protecteur de la sonde de pH.

Rincer la sonde avec de l'eau distillée et sécher délicatement avec du papier absorbant.

Si il ne l'est pas, étalonner l'appareil avec les deux solutions : pH 4 et pH 7.

Plonger la sonde dans la solution à analyser et noter la valeur de pH affichée.

Rincer la sonde et remettre le protecteur.

Annexe X : Fiche de dégustation de l'analyse sensorielle

Nom :

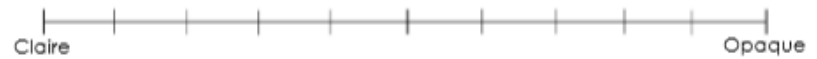
FICHE DE DÉGUSTATION

Code :

Couleur



Transparence



Ténacité de la mousse



Odeur

Intensité de l'odeur



Odeur houblonnée



Odeur fruitée



Commentaires.....

Goût



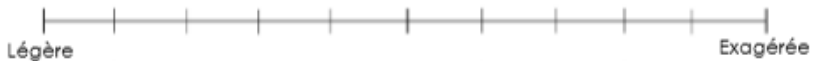
Intensité du goût



Longueur en bouche



Carbonatation



Taille des bulles



Texture en bouche



Goût houblonné



Goût fruité



Goût amer



Goût sucré



Goût acide

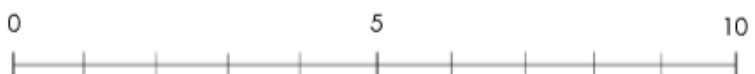


Astringence



Commentaires.....

Appréciation personnelle



Commentaires.....

Annexe XI : Compte-rendu de l'analyse sensorielle

Analyse sensorielle Bière acide – Compte rendu

Contexte de l'étude

Dans une démarche de développement de produit, douze prototypes de bière acide ont été mis au point. Une première dégustation a permis d'éliminer six premiers essais. Une seconde dégustation a été organisée afin de sélectionner le produit final, de le caractériser et de comprendre la note hédonique à partir des descripteurs sensoriels. Les prototypes partaient d'une base céréalière et d'un procédé de fabrication identique et variaient par le houblon et la souche de bactérie lactique utilisée pour l'acidification.

Conditions de l'étude

Les six prototypes de bière acide ont été dégustés à l'aveugle par neuf juges. Un septième produit, une bière issue du commerce (Sour & Muet de la brasserie La Musse), a été servi en fin de séance afin de voir si l'un des prototypes obtenait une note hédonique moyenne supérieure à ce produit de référence et comment le produit en développement s'en différenciait. Ce produit n'a pas été inclus au reste de l'analyse afin de caractériser uniquement les essais les uns en fonction des autres. Les juges n'étaient pas des experts mais avaient déjà dégusté ce type de produit à plusieurs reprises. Ils n'avaient pas le droit de communiquer durant la dégustation. Les sept bières ont été servies dans le même contenant et à la même température. Deux séances ont été organisées, chaque juge n'a réalisé qu'une séance de dégustation. L'ordre de dégustation des bières pour une même séance était identique mais changeait d'une séance à l'autre. Seul le rang de la bière commerciale n'a pas été modifié.

Codification des essais

Les essais ont été codifiés pour la conduite de l'analyse des résultats en fonction de la souche de lactobacille et de la variété de houblon utilisées.

Les codes pour les variétés de houblons sont les suivants :

- H1 : houblon Cascade ;
- H2 : houblon Citra ;
- H3 : houblon Mandarina Bavaria.

Les codes pour les souches de lactobacilles sont les suivants :

- S1 : *Lactobacillus plantarum* BIA 653 ;
- S2 : *Lactobacillus delbrueckii* BIA 227.

Descripteurs

Les juges ont noté sur une échelle de 0 à 10 les 16 descripteurs suivants : transparence, ténacité de la mousse, intensité de l'odeur, odeur houblonnée, odeur fruitée, intensité du goût, longueur en bouche, carbonatation, taille bulles, texture en bouche, goût houblonné, goût fruité, goût amer, goût sucré, goût acide et astringence. Ils ont aussi attribué une note hédonique de 0 à 10.

Analyse des données

Existe-t-il des différences significatives entre les produits pour certains descripteurs ?

Dans notre modèle d'analyse de variance ont été pris en compte l'effet Produit, l'effet Juge et l'effet Ordre. L'effet Séance n'a pas pu être testé car il n'y a pas de répétition de la dégustation pour un même juge. De ce fait, l'interaction Produit-Juge n'a pas non plus pu être testée.

Les analyses de variance pour tester la différence entre les produits sont tout d'abord réalisées en incluant la bière commerciale.

➤ Comparaison entre les essais et la bière commerciale

Le descripteur le plus discriminant pour cet ensemble de produit est la ténacité de la mousse, suivi de la carbonatation, de la transparence, de l'amertume, de la taille des bulles, de la couleur, de l'intensité de l'odeur, de l'odeur houblonnée, de l'odeur fruitée, de l'acidité, de la texture et du goût houblonné.

La bière commerciale a des notes significativement supérieures à la moyenne pour des descripteurs relatifs à l'odeur (odeur houblonnée, intensité de l'odeur, odeur fruitée), à la mousse et au gazeux (carbonatation, ténacité de la mousse, taille des bulles). Elle est aussi significativement différente des autres par son aspect (moins colorée, plus transparente).

Enfin, la note hédonique attribuée à la bière commerciale n'est pas significativement supérieure à la moyenne.

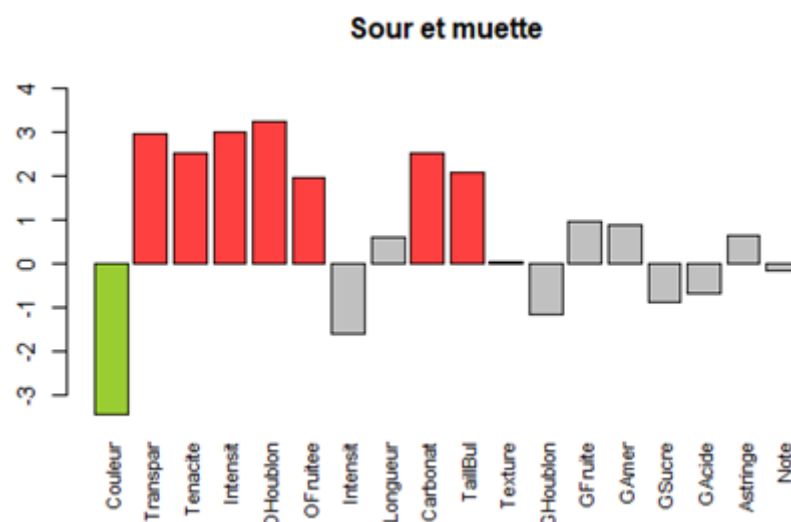


Figure 29 : Profil sensoriel de la Sour & Muette en comparaison avec les essais et note hédonique

En vert, les descripteurs qui caractérisent en négatif le produit et en rouge, les descripteurs le caractérisant en positif.

La bière commerciale est ensuite retirée de l'analyse car elle explique une part très importante de la significativité de l'effet produit sur les descripteurs et que nous souhaitons caractériser et différencier les essais entre eux.

➤ Comparaison entre les essais

Après le retrait de la bière commerciale, les descripteurs les plus discriminants entre nos essais sont l'odeur houblonnée, la couleur et la carbonatation.

Il n'y a pas de descripteur caractérisant tous les essais d'une même souche de lactobacilles ou d'une même variété de houblon.

En vert, les descripteurs qui caractérisent en négatif le produit et en rouge, les descripteurs le caractérisant en positif.

Tableau 15 : Moyennes ajustées des notes par descripteur et par produit

	Astringe	Texture	Couleur	TailBul	Carbonat	Intensit	OFruitee	Intensit	G'Acide	GSucre	G'Amer	O'Houblon	Note	O'Houblon	GFruite	Transpar	Longueur	OFruitee	Intensit	Odeur
S1H3	4.006	3.222	1.696	1.378	2.644	5.883	1.189	6.822	2.594	1.472	2.078	4.222	0.9778	4.356	2.15	4.528	2.744	2.356		
S1H2	3.618	3.597	1.88	1.278	3.819	6.648	1.889	7.222	3.882	1.91	3.028	5.347	2.153	4.931	3.062	4.965	3.444	3.556		
S1H1	3.226	2.384	1.724	1.692	3.426	5.791	2.145	7.147	3.194	0.684	2.612	7.38	4.067	5.156	3.114	5.262	4.846	4.882		
S2H3	3.908	3.087	0.6816	0.8403	2.424	7.333	0.8958	7.715	3.125	3.208	4.375	5.417	3.444	4.91	2.757	5.611	4.194	5		
S2H2	3.167	2.65	1.34	1.128	2.661	6.033	0.8833	6.628	3.6	3.333	3.6	5.767	2.344	5.472	3.394	5.211	4.944	4.9		
S2H1	2.738	1.962	1.124	1.129	2.69	5.591	1.72	6.91	2.994	2.559	3.474	6.367	6.18	5.231	4.189	5.812	5.271	6.307		

Un premier produit à se démarquer est S1H3. C'est un produit significativement moins odorant que les autres. Il a d'ailleurs été décrit comme ayant peu de caractère dans les commentaires. C'est aussi un produit significativement moins bien noté pour le critère hédonique.

L'autre produit à se démarque pour la note hédonique est S1H1 mais cette fois en positif. C'est un produit significativement moins amer. Il est décrit en commentaires comme fleuri, équilibré et avec une odeur de miel.

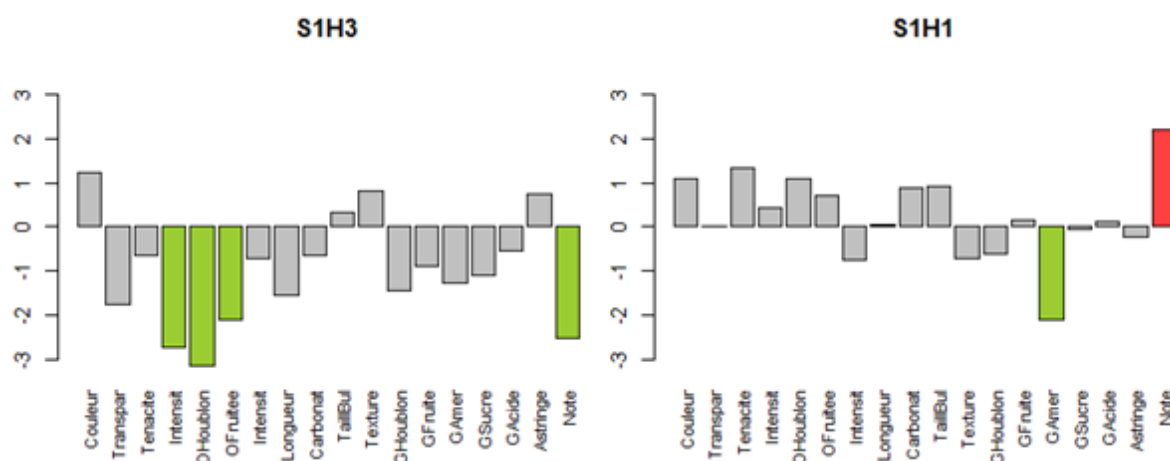


Figure 30 : Profils sensoriels de S1H3 et S1H1 en comparaison avec les autres essais et notes hédoniques

➤ Construction de l'espace produit

Peut-on caractériser les produits par des groupes de descripteurs ?

Le plan obtenu par l'analyse en composantes principales récupère un peu plus des trois quarts de l'information. Les variables sont pour la plupart bien projetées.

Le premier axe récupère 45,87 % de l'information, ce sont les variables liées à l'odeur de la bière qui y sont corrélées positivement. Le deuxième axe récupère 30,67 % de l'information, la note hédonique y est corrélée positivement.

Si pour certains descripteurs, tels que la couleur ou l'odeur houblonnée, il y a un bon consensus en les juges, il y a un fort effet juge sur d'autres descripteurs tels que l'acidité ou la note hédonique. Ceci se voit par la dispersion des nuages de point correspondant aux juges réels et à des juges simulés à partir des données. D'autres dégustateurs noteraient différemment les produits. Cela peut s'expliquer de la manière suivante : la perception de l'acidité varie selon les habitudes alimentaires individuelles quant à l'appréciation d'un produit, c'est aussi une variable subjective.

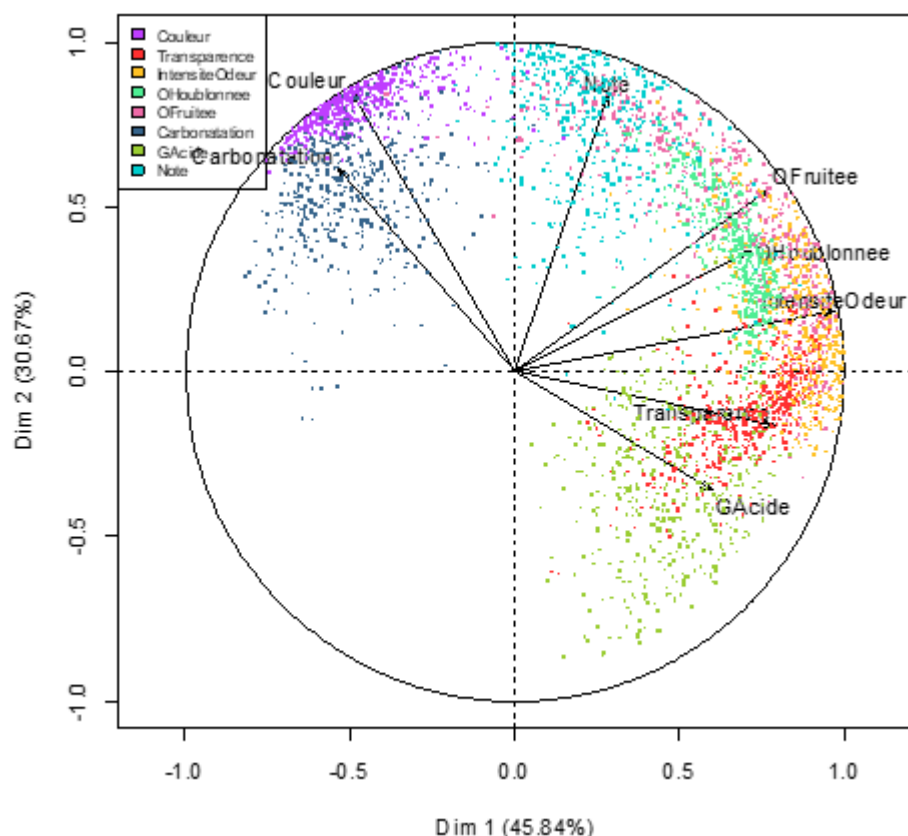


Figure 31 : Carte des descripteurs sensoriels et de la note hédonique

On s'intéresse maintenant à la position des différents essais sur ce plan.

L'essai S1H3 est très différent des autres essais, il n'y a quasiment pas de chevauchement de son ellipse de confiance avec celles des autres produits.

➤ Similitudes entre les produits avec une même souche

On retrouve aussi une segmentation entre les essais produit avec l'une ou l'autre souche de part et d'autre de l'axe lié à l'odeur de la bière. Il n'y a pas de différence significative entre les positions des produits avec la souche *Lactobacillus delbrueckii* sur ce plan, ni de différence significative pour les produits avec la souche *Lactobacillus plantarum* hormis pour S1H3. Les descripteurs liés à l'odeur de la bière sont donc liés à la souche de bactérie.

➤ Similitude entre les produits avec une même variété de houblon.

Les essais contenant le houblon Mandarina Bavaria ont tendance à être corrélés négativement à la note hédonique tandis que les essais contenant le houblon Cascade ont tendance à y être corrélés positivement. Les essais contenant le houblon Citra sont proches de ceux contenant le houblon Cascade du point de vue hédonique, les ellipses de confiances se chevauchent.

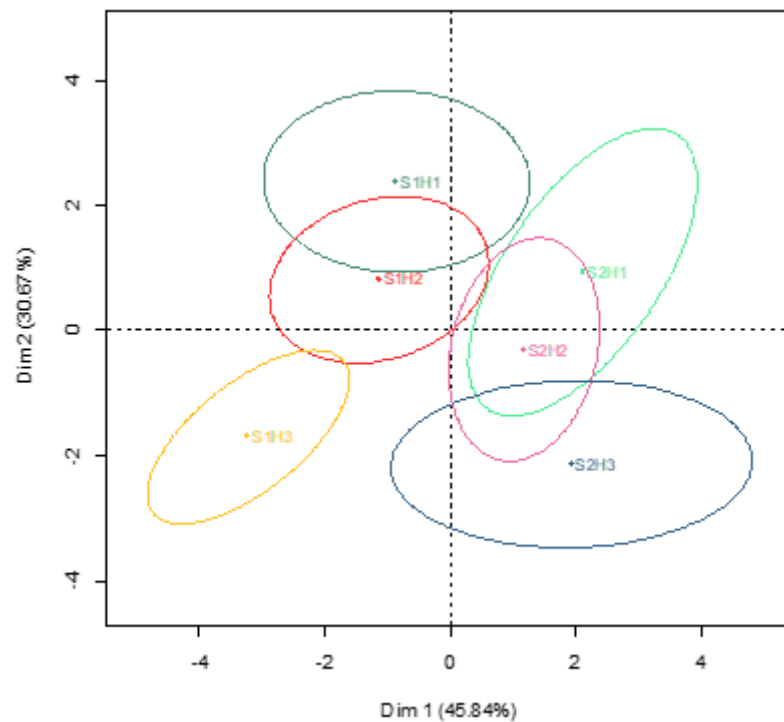


Figure 32 : Produits et leur ellipse de confiance sur le plan

➤ Analyse des préférences

Quelles sont les variables associées aux préférences des dégustateurs ?

Afin de comprendre les préférences des juges, la note hédonique a été retirée de l'analyse en composante principale et projetée sur le nouveau plan.

Il y a deux clusters de juges en termes de préférence. Le premier cluster a attribué une note hédonique plus élevée pour les produits plus acides, sucrés et colorés. Le second cluster a attribué une note hédonique plus élevée aux produits plus aromatique (goût fruité, intensité du goût, goût houblonné) avec une longueur en bouche plus grande.

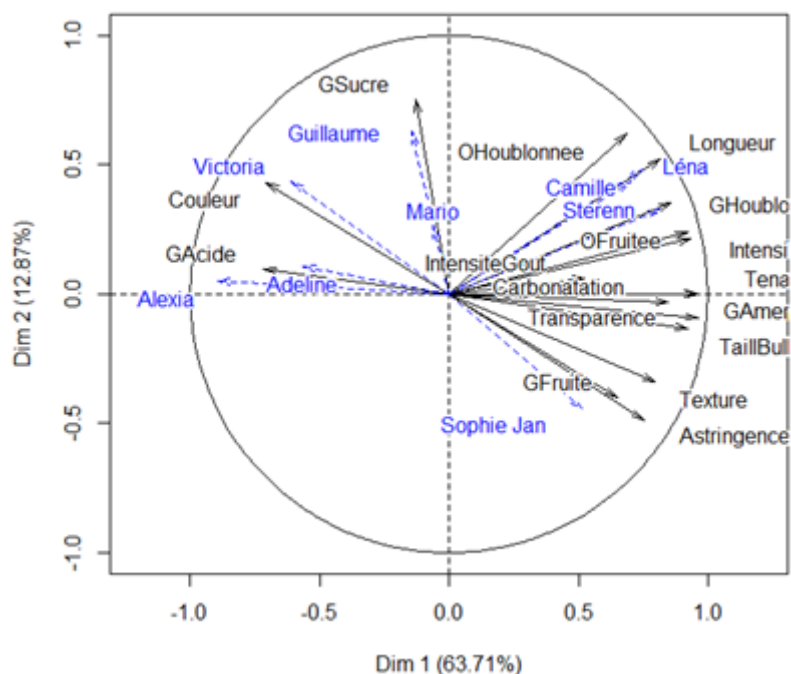


Figure 33 : Carte des descripteurs et projection de l'appréciation des juges

➤ Croisement des résultats de l'analyse sensorielle avec les résultats du test de concept

Un ou des produits répondent-ils aux attentes des consommateurs ?

Lors d'un test concept sans dégustation, 282 sondés ont été interrogés sur leurs attentes en termes d'acidité, d'amertume et de goût fruité dans une bière acide.

Tous les essais sont conformes aux attentes des sondés pour l'acidité à l'exception de S2H3. L'acidité est en moyenne légèrement plus élevée que l'attente moyenne.

L'amertume et le goût fruité sont moins élevés que l'attente moyenne des sondés.

Il n'y a pas de produit répondant plus particulièrement aux attentes des sondés qu'un autre.

Cette comparaison reste à prendre avec précaution car une grande partie des sondés n'a jamais goûté ce type de produit.

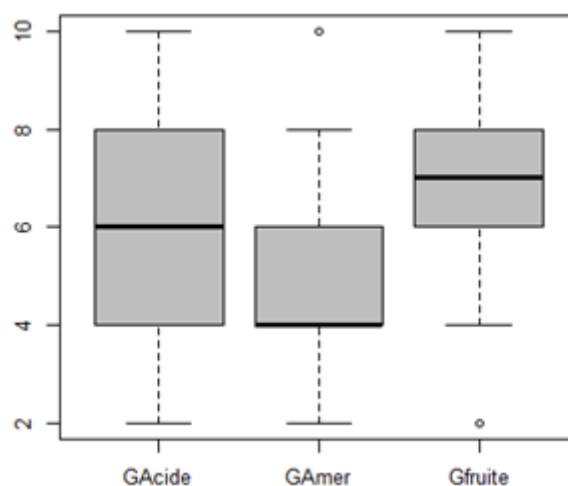


Figure 34 : Distribution des attentes des sondés pour l'acidité, l'amertume et le fruité d'une bière acide

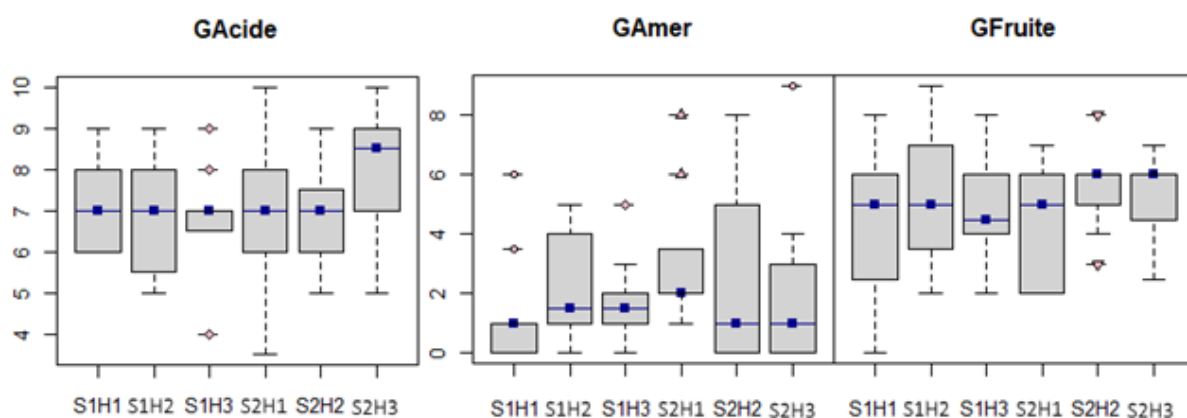


Figure 35 : Distribution des notes attribuées par les juges pour les descripteur de l'acidité, de l'amertume et du goût fruité

Conclusion sur les résultats de l'analyse sensorielle

Les essais sont très différents de la bière commerciale prise pour référence. Ils s'en démarquent par leur aspect, leur carbonatation plus faible et leur odeur moins marquée.

Un des essais est particulièrement plus apprécié que les autres mais aussi que la bière commerciale, l'essai contenant la souche *Lactobacillus plantarum* et le houblon Cascade. C'est un produit caractérisé par une amertume faible et des notes plus florales que fruitées.

La souche de lactobacilles utilisée a une influence sur l'odeur de la bière, plus marquée avec *Lactobacillus plantarum* qu'avec *Lactobacillus delbruekii*.

La variété de houblon a une influence sur l'appréciation de la bière, les produits les moins appréciés étant ceux contenant du Mandarina Bavaria et les plus appréciés ceux contenant du Cascade.

Les préférences des juges sont liées à l'acidité, à l'intensité du goût globale, fruité et houblonnée mais aussi à la longueur en bouche.

Les essais apparaissent tous conformes aux attentes des consommateurs en termes d'acidité à l'exception de l'essai contenant la souche *Lactobacillus plantarum* et le houblon Mandarina Bavaria. Ils apparaissent cependant moins amers et moins fruités. Aucun essai n'est plus fidèle que les autres à ces attentes.

Annexe XII : Calcul du coût de revient pour la production de 100 L de bière acide

Libellé	Prix unitaire (€)	Quantité pour 100 L	Prix pour 100 L (€)
Matières premières (hors emballage)			42,17
Malt Pilsner (kg)	0,72	19,17	13,80
Malt Caramunich (kg)	0,88	1,11	0,98
Malt de blé (kg)	0,75	2,08	1,56
Malt acide (kg)	2,12	3,06	6,48
Houblon Cascade (g)	0,03	166,70	5,77
Sucre (kg)	0,81	0,60	0,49
Levure US-05 (g)	0,22	61,00	13,24
Lactobacilles (bactéries/L)	3,3.10 ¹⁰	-	-
Eau (L)	0,00	163,90	0,34
Consommables			-
Electricité (kW)	0,16	-	-
Gaz (kW)	0,63	-	-
Produits de nettoyage	-	-	-
Eau de nettoyage (L)	0,00	-	-
Emballage			180,00
Bouteilles (unité)	0,40	400,00	160,00
Capsules (unité)	0,02	400,00	8,00
Etiquettes (unité)	0,03	400,00	12,00
Rémunération			272,31
Amortissement du matériel			18,14
Frais de fonctionnement			248,75
Loyer			225,00
Assurances			18,75
Communication (site internet, flyers)			5,00
Droits d'accise et cotisation à la Sécurité Sociale			23,63
Total (€)			784,99