

UNIVERSITE DE NGAOUNDERE
ECOLE NATIONALE SUPERIEURE DES
SCIENCES AGRO-INDUSTRIELLES

THE UNIVERSITY OF NGAOUNDERE
NATIONAL ADVANCED SCHOOL OF
AGRO-INDUSTRIAL SCIENCES



DEPARTEMENT DE GENIE DES PROCÉDES ET INGENIERIE
DEPARTMENT OF PROCESS ENGINEERING

UNITE DE FORMATION DOCTORALE GENIE DES PROCÉDES

**Modélisation de l'action des hydrolases sur quelques
caractéristiques physico-chimiques des moûts de deux
cultivars de sorgho.**

THESE

Présentée et soutenue en vue de l'obtention du diplôme de **DOCTORAT/Ph.D.**
Parcours/spécialité : Génie des Procédés

Par :

DESOBGO ZANGUE Steve Carly

DEA en Génie des Procédés

Matricule : 98D005EN

Jury :

MBOFUNG Carl M.F	Professeur	Université de Ngaoundéré	Président
FON ABI Charles	Maitre de Conférences	Université de Yaoundé I	Examineur
ESSIA NGANG J.J	Maitre de Conférences	Université de Yaoundé I	Rapporteur
NDJOUENKEU Robert	Professeur	Université de Ngaoundéré	Rapporteur
TENIN DZUDIE	Professeur	Université de Ngaoundéré	Co-Directeur
KAYEM Joseph	Maitre de Conférences	Université de Ngaoundéré	Co-Directeur
NSO Emmanuel JONG	Maitre de Conférences	Université de Ngaoundéré	Co-Directeur
ZO'OBO J.P.	Chef retraité du Laboratoire Central	Brasseries du Cameroun	Invité
ZONTSOP Etienne	Directeur Usine de Garoua	Brasseries du Cameroun	Invité

Année 2012

PAGE DE SIGNATURES

Nous acceptons que la thèse intitulée «**Modélisation de l'action des hydrolases sur quelques caractéristiques physico-chimiques des moûts de deux cultivars de sorgho.**», soit soutenue par Monsieur **DESOBGO ZANGUE Steve Carly** à l'École Nationale Supérieure des Sciences Agro-Industrielles pour l'obtention du diplôme de Doctorat/Ph.D en Génie des Procédés de l'Université de Ngaoundéré.

Le Responsable de l'Unité de Formation Doctorale – Génie des Procédés

Le Chef de Département de Génie des Procédés et d'Ingénierie

Le Directeur de l'ENSAI

CERTIFICATION

Nous soussignons, Professeurs **KAYEM Joseph** et **NSO Emmanuel JONG**, attestons que la présente thèse intitulée : «**Modélisation de l'action des hydrolases sur quelques caractéristiques physico-chimiques des moûts de deux cultivars de sorgho.**» est le fruit des travaux effectués dans les laboratoires spécialisés de l'Ecole Nationale Supérieure des Sciences Agro-Industrielles de l'Université de Ngaoundéré par Monsieur **DESOBGO ZANGUE Steve Carly** (Matricule : 98D005EN) en vue de l'obtention du titre de Docteur/Ph.D en Génie des Procédés de l'Université de Ngaoundéré.

Professeur **NSO Emmanuel JONG**

Professeur **KAYEM Joseph**

Directeurs de thèse

DEDICACE

A mes parents SOBGO Gabriel et GUEPI TEADJIO Emilienne Epouse SOBGO.

A mon épouse TASSIAMBA TEMFACK Arlette Christelle et mes enfants.

A tous mes frères : DESOBGO NGUEPI Yves Clyford, DESOBGO MATAGO Jean Maurice et DESOBGO TSOBGUIM Gervais Raoul.

REMERCIEMENTS

Ce travail de recherche a été rendu possible grâce à de nombreuses personnes qui ont eu la patience de me guider, de me soutenir et de m'aider tout au long de ces années.

C'est avec beaucoup de gratitude que je remercie le feu Professeur Tenin Dzudie pour m'avoir accepté en DEA et comme thésard. En plus de ses qualités de scientifique, j'ai découvert une personne profondément humaine qui s'est battue pour ses idées sans jamais renoncer. Je suis fier d'avoir été son étudiant.

Je remercie chaleureusement le Professeur Nso Emmanuel Jong sans qui ce travail n'aurait pu se faire. Il a eu la volonté de me guider depuis mon DEA, de travailler avec moi sur la modélisation, l'optimisation et l'analyse de données en thèse. Il m'a également trouvé les moyens pour réaliser ce travail. Je suis également fier d'avoir été son étudiant.

Je tiens à adresser des remerciements très chaleureux au Professeur Joseph Kayem qui a eu l'idée "géniale" de me conseiller et de me guider dès la fin de mon cycle ingénieur jusqu'à cette thèse de Doctorat/Ph.D.

Un grand merci aux Professeurs Tsamo Etienne et Kamga Richard pour leurs disponibilités, leurs conseils et, leurs coups de main psychologique lors de mes moments les plus sombres.

Merci au Professeur Tchatchueng Jean Bosco pour m'avoir fait aimer la planification expérimentale et la modélisation.

Merci aux Professeurs Tchiegang Clergé, Ndjouenkeu Robert et Mbofung Carl Moses pour leurs conseils et leur soutien scientifique.

Je salue et remercie le Professeur Ali Ahmed pour sa précieuse aide.

Je salue et remercie le Docteur Ndi Koungou Sylvère pour sa précieuse aide et sa disponibilité.

Je salue et remercie les Docteurs Bup Nde Divine, Ahmed Mohammed Mohagir pour leurs amitiés, disponibilités et conseils.

Je salue et remercie Messieurs Zomegni Gaston, Kofa Guillaume pour leur amitié et leurs conseils.

Je salue et remercie Messieurs ZONTSOP Etienne et KITIO Gaston de la Société Anonyme des Brasseries du Cameroun (SABC), pour le soutien logistique.

Je salue et remercie tous mes collègues enseignants de l'IUT et l'ENSAI pour leur patience et indulgence. Ceci m'a permis de boucler ce travail.

Je salue et remercie tous les autres membres de notre grande famille pour le soutien.

Je salue et remercie les membres de la famille Temfack pour le soutien moral dans les moments difficiles.

Je salue et remercie tous les thésards de l'ENSAI. En effet, ils m'ont permis de grandir sur le plan scientifique et social grâce à leurs questions et sollicitations.

Je remercie le Recteur de l'Université de Ngaoundéré pour le financement d'une partie de mon DEA dans le cadre des GPRU. Cela a permis de déblayer le terrain pour la thèse.

Je tiens particulièrement à remercier le GP3A et l'AUF pour avoir accepté de me faire participer à un colloque international à l'Université Catholique de Louvain (Belgique).

Je salue et remercie tous les membres du jury de soutenance de cette thèse.

Enfin, un grand merci à l'Université de Ngaoundéré et, par ricochet au Ministère de l'Enseignement Supérieur puis, à l'Etat du Cameroun pour la formation qui m'a été offerte.

TABLE DE MATIERES

PAGE DE SIGNATURES	i
CERTIFICATION	ii
DEDICACE	iii
REMERCIEMENTS	iv
LISTE DES TABLEAUX	x
LISTE DES FIGURES	xiii
LISTE DES ANNEXES	xix
NOMENCLATURE ET ABREVIATIONS	xx
RESUME	xxiv
ABSTRACT	xxv
CHAPITRE I : REVUE DE LA BIBLIOGRAPHIE	4
I-1) GÉNÉRALITÉS SUR LE SORGHO.	4
I-1-1) Morphologie et historique.	4
I-1-2) Description de la plante, écologie et statistiques de production du sorgho.	5
I-1-3) Structure et chimie du grain de sorgho.	8
I-1-4) Utilisations du sorgho.	10
I-2) MALTAGE ET BRASSAGE DU SORGHO.	11
I-3) LA MODÉLISATION MATHÉMATIQUE.	15
I-3-1) Théorie des surfaces de réponse.	15
<i>I-3-1-1) Terminologie.</i>	15
<i>I-3-1-2) Méthodologie des Surfaces de Réponse (MSR).</i>	17
I-3-2) Présentation des plans de Doehlert.	21
I-3-3) Types de modèles mathématiques dans le domaine brassicole.	23
<i>I-3-3-1) Modèle pour la formation des sucres fermentescibles issue de l'hydrolyse de l'amidon pendant un brassage à haute température.</i>	23
<i>I-3-3-2) Modèle pour la prédiction de l'activité de la β-glucanase et de la concentration en β-glucane au cours du brassage.</i>	24
<i>I-3-3-3) Modèles pour la prédiction de la concentration en sucres fermentescibles au cours du brassage.</i>	24
<i>I-3-3-4) Modèles cinétiques de l'hydrolyse enzymatique de l'amidon au cours du brassage.</i>	25
<i>I-3-3-5) Modèles de simulation de la multiplication des levures brassicoles.</i>	26

<i>I-3-3-6) Modèle pour prédire l'effet d'un programme de trempage sur la germination.</i>	26
CHAPITRE II : MODÉLISATION DE L'ACTION DES HYDROLASES SUR QUELQUES LES CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES MOÛTS DE <i>MADJERU</i> .	27
II-1) INTRODUCTION.	27
II-2) MATERIEL ET METHODES.	28
II-2-1) Matériel biologique	28
II-2-2) Méthodologie générale.	29
II-2-3) Détermination de la teneur en eau des grains, de la capacité germinative, de l'énergie germinative et du poids de 1000 grains.	29
<i>II-2-3-1) Détermination de la teneur en eau</i>	29
<i>II-2-3-2) Détermination de la capacité germinative</i>	30
<i>II-2-3-3) Détermination de l'énergie germinative (méthode BRF)</i>	30
<i>II-2-3-4) Détermination du poids de 1000 grains</i>	30
II-2-4) Procédure expérimentale de maltage du sorgho.	31
II-2-5) Détermination de la teneur en protéines, du pouvoir diastasique, de l'activité de la carboxypeptidase et de l'activité l' α -amylase.	32
<i>II-2-5-1) Détermination de la teneur en protéines</i>	32
<i>II-2-5-2) Détermination du pouvoir diastasique</i>	33
<i>II-2-5-3) Activité de la carboxypeptidase</i>	34
<i>II-2-5-4) Détermination de l'activité de l'α-amylase</i>	35
II-2-6) Modélisation.	36
<i>II-2-6-1) Etablissement des modèles mathématiques</i>	36
<i>II-2-6-2) Validation des modèles mathématiques.</i>	40
II-2-7) Procédure expérimentale du brassage.	42
II-2-8) Détermination de l'extrait ($^{\circ}P$), l'extrait à chaud, de la turbidité, de la teneur en sucres réducteurs et de la teneur en acides aminés libres des moûts.	46
<i>II-2-8-1) Détermination de l'extrait ($^{\circ}P$)</i>	46
<i>II-2-8-2) Détermination de l'extrait à chaud</i>	46
<i>II-2-8-3) Détermination de la turbidité des moûts</i>	46
<i>II-2-8-4) Détermination de la teneur en sucres réducteurs des moûts</i>	47
<i>II-2-8-5) Détermination de la teneur en acides aminés libres des moûts</i>	47
II-3) RESULTATS ET DISCUSSION.	49
II-3-1) Caractéristiques physico-chimiques des cultivars (<i>Madjeru</i>) non maltés et maltés.	49

II-3-2) Modélisation de l'action des enzymes brassicoles commerciales sur les caractéristiques physico-chimiques des moûts de <i>Madjeru</i> non malté et malté.	51
II-3-2-1) <i>L'extrait.</i>	53
II-3-2-2) <i>La turbidité.</i>	63
II-3-2-3) <i>La teneur en sucres réducteurs.</i>	74
II-3-2-4) <i>La teneur en acides aminés libres.</i>	84
II-4 CONCLUSION PARTIELLE.	93
CHAPITRE III : MODÉLISATION DE L'ACTION DES HYDROLASES SUR QUELQUES CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES MOÛTS DE <i>SAFRARI</i> .	95
III-1) INTRODUCTION.	95
III-2) MATERIEL ET METHODES.	96
III-2-1) Matériel biologique	96
III-2-2) Méthodologie générale.	96
III-2-3) Détermination de la teneur en eau, de la capacité germinative, de l'énergie germinative et du poids de 1000 grains.	96
III-2-4) Le maltage du sorgho.	96
III-2-5) Détermination de la teneur en protéines, du pouvoir diastasique, de l'activité de la carboxypeptidase et de l'activité de l' α -amylase.	97
III-2-6) Modélisation des caractéristiques physico-chimiques.	97
III-2-7) Le brassage.	97
III-2-8) Détermination de l'extrait, de l'extrait à chaud, de la turbidité, de la teneur en sucres réducteurs et de la teneur en acides aminés libres des moûts.	97
III-3) RESULTATS ET DISCUSSION.	98
III-3-1) Caractéristiques physico-chimiques de <i>Safrari</i> non malté et malté.	98
III-3-2) Modélisation de l'action des enzymes exogènes sur les caractéristiques physico-chimiques des moûts de <i>Safrari</i> non malté et malté.	100
III-3-2-1) <i>L'extrait.</i>	102
III-3-2-2) <i>La turbidité.</i>	112
III-3-2-3) <i>La teneur en sucres réducteurs.</i>	122
III-3-2-4) <i>La teneur en acides aminés libres.</i>	132
III-4) CONCLUSION PARTIELLE.	141
CHAPITRE IV : OPTIMISATION DE L'ACTION DES HYDROLASES SUR QUELQUES CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES MOÛTS DE <i>MADJERU</i> ET <i>SAFRARI</i> .	143

IV-1) INTRODUCTION.	143
IV-2) MATERIEL ET METHODES	144
IV-3) RESULTATS ET DISCUSSION.	145
IV-3-1) Optimisation des caractéristiques physico-chimiques des moûts des cultivars de sorgho maltés et non maltés.	145
<i>IV-3-1-1) Optimisation des caractéristiques physico-chimiques des moûts de Madjeru et Safrari maltés et non maltés.</i>	146
<i>IV-3-1-1-1) Optimisation de l'extrait (°P).</i>	146
<i>IV-3-1-1-2) Optimisation de la turbidité.</i>	149
<i>IV-3-1-1-3) Optimisation de la teneur en sucres réducteurs.</i>	152
<i>IV-3-1-1-4) Optimisation de la teneur en acides aminés libres.</i>	155
<i>IV-3-1-1-5) Optimisation de l'ensemble des caractéristiques physico-chimiques des moûts des cultivars Madjeru et Safrari.</i>	158
IV-3-2) Optimisation intra et inter cultivar des caractéristiques physico-chimiques des moûts des sorghos non maltés et maltés.	160
<i>IV-3-2-1) Optimisation des caractéristiques physico-chimiques de Madjeru (entre Madjeru non malté et Madjeru malté).</i>	160
<i>IV-3-2-2) Optimisation des caractéristiques physico-chimiques de Safrari (entre Safrari non malté et Safrari malté).</i>	161
<i>IV-3-2-3) Optimisation inter cultivar (entre Madjeru et Safrari non maltés).</i>	161
<i>IV-3-2-4) Optimisation inter cultivar (entre Madjeru et Safrari maltés).</i>	162
IV-4) CONCLUSION PARTIELLE.	162
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	163
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	164
ANNEXES	172

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1 : Production de sorgho par pays.....	7
Tableau 1.2 : Nombre de termes contenus dans une équation en fonction du degré et du nombre de facteurs.	18
Tableau 2.1 : Caractéristiques d'enzymes brassicoles commerciales utilisées.....	28
Tableau 2.2 : Récapitulatif des caractéristiques physico-chimiques de <i>Madjeru</i> non malté. ...	49
Tableau 2.3 : Récapitulatif des caractéristiques physico-chimiques des céréales maltées utilisées dans cette étude.....	50
Tableau 2.4 : Récapitulatif de quelques activités enzymatiques évaluées.....	51
Tableau 2.5 : Caractéristiques physico-chimiques des moûts de <i>Madjeru</i>	52
Tableau 2.6 : Caractéristiques des modèles mathématiques pour l'évolution de l'extrait des moûts du cultivar <i>Madjeru</i> (non malté et malté).....	53
Tableau 2.7 : Estimation des coefficients des modèles pour l'évolution de l'extrait des moûts de <i>Madjeru</i>	55
Tableau 2.8 : Analyse de Variance pour l'évolution de l'extrait du moût de <i>Madjeru</i>	56
Tableau 2.9 : Analyse de Variance pour comparaison entre les extraits des moûts de <i>Madjeru</i> (non malté et malté).....	63
Tableau 2.10 : Caractéristiques des modèles mathématiques pour l'évolution de la turbidité des moûts du cultivar <i>Madjeru</i> (non malté et malté).....	64
Tableau 2.11 : Estimation des coefficients des modèles pour l'évolution de la turbidité des moûts de <i>Madjeru</i>	65
Tableau 2.12 : Analyse de Variance pour l'évolution de la turbidité des moûts de <i>Madjeru</i> . .	66
Tableau 2.13 : Analyse de Variance pour comparaison entre les turbidités des moûts de <i>Madjeru</i> non malté et malté.	74
Tableau 2.14 : Caractéristiques des modèles mathématiques pour l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des moûts du cultivar <i>Madjeru</i> (non malté et malté).....	75
Tableau 2.15 : Estimation des coefficients des modèles pour l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des moûts de <i>Madjeru</i>	76
Tableau 2.16 : Analyse de Variance pour l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des moûts de <i>Madjeru</i>	77
Tableau 2.17 : Analyse de Variance pour comparaison entre les sucres réducteurs des moûts de <i>Madjeru</i> non malté et malté.....	84
Tableau 2.18 : Caractéristiques des modèles mathématiques pour l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts du cultivar <i>Madjeru</i> (non malté et malté).....	85

Tableau 2.19 : Estimation des coefficients des modèles pour l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts de <i>Madjeru</i> .	86
Tableau 2.20 : Analyse de Variance pour l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts de <i>Madjeru</i> .	87
Tableau 2.21 : Analyse de Variance pour comparaison entre les acides aminés libres des moûts de <i>Madjeru</i> non malté et malté.	93
Tableau 3.1 : Récapitulatif des caractéristiques physico-chimiques de <i>Safrari</i> non malté.	98
Tableau 3.2 : Récapitulatif des caractéristiques physico-chimiques des céréales maltées.	99
Tableau 3.3 : Récapitulatif de quelques activités enzymatiques évaluées.	100
Tableau 3.4 : Caractéristiques physico-chimiques des moûts de <i>Safrari</i> .	101
Tableau 3.5 : Caractéristiques des modèles mathématiques pour l'évolution de l'extrait des moûts du cultivar <i>Safrari</i> (non malté et malté).	102
Tableau 3.6 : Estimation des coefficients des modèles pour l'évolution de l'extrait des moûts de <i>Safrari</i> .	104
Tableau 3.7 : Analyse de Variance pour l'évolution de l'extrait du moût de <i>Safrari</i> .	105
Tableau 3.8 : Analyse de Variance pour comparaison entre les extraits des moûts de <i>Safrari</i> non malté et malté.	111
Tableau 3.9 : Caractéristiques des modèles mathématiques pour l'évolution de la turbidité des moûts du cultivar <i>Safrari</i> (non malté et malté).	112
Tableau 3.10 : Estimation des coefficients des modèles pour l'évolution de la turbidité des moûts de <i>Safrari</i> .	114
Tableau 3.11 : Analyse de Variance pour l'évolution de la turbidité des moûts de <i>Safrari</i> .	115
Tableau 3.12 : Analyse de Variance pour comparaison entre les turbidités des moûts de <i>Safrari</i> non malté et malté.	122
Tableau 3.13 : Caractéristiques des modèles mathématiques pour l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des moûts du cultivar <i>Safrari</i> (non malté et malté).	123
Tableau 3.14 : Estimation des coefficients de régression pour l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des moûts de <i>Safrari</i> .	124
Tableau 3.15 : Analyse de Variance pour l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des moûts de <i>Safrari</i> .	125
Tableau 3.16 : Analyse de Variance pour comparaison entre les sucres réducteurs des moûts de <i>Safrari</i> non malté et malté.	132
Tableau 3.17 : Caractéristiques des modèles mathématiques pour l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts du cultivar <i>Safrari</i> (non malté et malté).	133

Tableau 3.18 : Estimation des coefficients des modèles pour l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts de <i>Safrari</i>	134
Tableau 3.19 : Analyse de Variance pour l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts de <i>Safrari</i>	135
Tableau 3.20 : Analyse de Variance pour comparaison entre les acides aminés libres des moûts de <i>Safrari</i> non malté et malté.	141
Tableau 4.1 : Caractéristiques maximales pour l'extrait des moûts de <i>Madjeru</i> et <i>Safrari</i> non maltés.....	146
Tableau 4.2 : Caractéristiques maximales pour l'extrait des moûts de <i>Madjeru</i> et <i>Safrari</i> maltés.....	146
Tableau 4.3 : Caractéristiques minimales pour la turbidité des moûts de <i>Madjeru</i> et <i>Safrari</i> non maltés.....	149
Tableau 4.4 : Caractéristiques minimales pour la turbidité des moûts de <i>Madjeru</i> et <i>Safrari</i> maltés.....	149
Tableau 4.5 : Caractéristiques maximales pour la turbidité des moûts de <i>Madjeru</i> et <i>Safrari</i> non maltés.....	150
Tableau 4.6 : Caractéristiques maximales pour la turbidité des moûts de <i>Madjeru</i> et <i>Safrari</i> maltés.....	150
Tableau 4.7 : Caractéristiques maximales pour la teneur en sucres réducteurs des moûts de <i>Madjeru</i> et <i>Safrari</i> non maltés.....	152
Tableau 4.8 : Caractéristiques maximales pour la teneur en sucres réducteurs des moûts de <i>Madjeru</i> et <i>Safrari</i> maltés.....	153
Tableau 4.9 : Caractéristiques maximales pour la teneur en acides aminés libres des moûts de <i>Madjeru</i> et <i>Safrari</i> non maltés.....	156
Tableau 4.10 : Caractéristiques maximales pour la teneur en acides aminés libres des moûts de <i>Madjeru</i> et <i>Safrari</i> maltés.....	156

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 : Epis de sorgho dans un champ.	4
Figure 1.2 : Quelques cultivars de sorgho (A : <i>Madjeru</i> , B : <i>Safrari</i> , C : <i>S.35</i>).	5
Figure 1.3 : Plant de sorgho.	6
Figure 1.4 : Terres arables dédié au sorgho en Afrique.....	7
Figure 1.5 : Structure du grain de sorgho au microscope électronique à balayage.....	8
Figure 1.6 : Section schématique du grain de sorgho.....	9
Figure 1.7 : Structure de l'amylose (a) et de l'amylopectine (b) (Buleon, 2001).	13
Figure 1.8 : Représentation des termes significatifs.....	15
Figure 1.9 : Plan de Doehlert pour l'étude de deux facteurs. Les points sont régulièrement disposés sur un hexagone et il y a un point central.	21
Figure 1.10 : Autre disposition possible des points d'un plan de Doehlert pour l'étude de deux facteurs. Les points sont toujours régulièrement disposés dans l'espace expérimental. ...	22
Figure 1.11 : Extension d'un plan de Doehlert à deux facteurs. Trois points suffisent pour retrouver un nouveau plan de Doehlert.	22
Figure 2.1 : Grain du sorgho du cultivar <i>Madjeru</i>	28
Figure 2.2 : Schéma du processus de maltage des cultivars de sorgho.	32
Figure 2.3 : Schéma du processus de brassage de l'orge malté.	44
Figure 2.4 : Schéma du processus de brassage de <i>Madjeru</i>	45
Figure 2.5. (A) : Effet de Hitempase 2XL sur l'évolution de l'extrait (°P) des moûts du cultivar <i>Madjeru</i> . (B) : Effet de Hitempase 2XL sur l'évolution de l'extrait (°P) des moûts du cultivar <i>Madjeru</i> en présence de Bioglucanase (750 BGU) et Brewers Protease (60 mg).....	58
Figure 2.6. (A) : Contribution de chaque facteur sur le comportement général du modèle pour le suivi de l'extrait (°P) du moût de <i>Madjeru</i> non malté. (B) : Contribution de chaque facteur sur le comportement général du modèle pour le suivi de l'extrait (°P) du moût de <i>Madjeru</i> malté.	59
Figure 2.7. (A) : Effet de Bioglucanase (β -Glucanase) sur l'évolution de l'extrait (°P) des moûts de <i>Madjeru</i> . (B) : Effet de Bioglucanase (β -Glucanase) sur l'évolution de l'extrait (°P) des moûts du cultivar <i>Madjeru</i> en présence d'Hitempase (1875 U) et Brewers Protease (60 mg).....	60
Figure 2.8. (A) : Effet de Brewers Protease sur l'évolution de l'extrait (°P) des moûts de <i>Madjeru</i> . (B) : Effet de Brewers Protease sur l'évolution de l'extrait (°P) des moûts du cultivar <i>Madjeru</i> en en présence d'Hitempase (1875 U) et Bioglucanase (750 BGU).	62

Figure 2.9. (A) : Effet de l'Hitempase (α -Amylase) sur l'évolution de la turbidité (NTU) des moûts du cultivar <i>Madjeru</i> . (B) : Effet de l'Hitempase (α -Amylase) sur l'évolution de la turbidité (NTU) des moûts du cultivar <i>Madjeru</i> en présence de Bioglucanase (750 BGU) et Brewers Protease (60 mg).....	68
Figure 2.10. (A) : Contribution de chaque facteur sur le comportement général du modèle pour le suivi de la turbidité (NTU) du moût de <i>Madjeru</i> non malté. (B) : Contribution de chaque facteur sur le comportement général du modèle pour le suivi de la turbidité (NTU) du moût de <i>Madjeru</i> malté.	69
Figure 2.11. (A) : Effet de Bioglucanase (β -Glucanase) sur l'évolution de la turbidité (NTU) des moûts du cultivar <i>Madjeru</i> . (B) : Effet de Bioglucanase (β -Glucanase) sur l'évolution de la turbidité (NTU) des moûts du cultivar <i>Madjeru</i> en présence de Hitempase (1875 U) et Brewers Protease (60 mg).....	71
Figure 2.12. (A) : Effet de Brewers Protease sur l'évolution de la turbidité (NTU) des moûts du <i>Madjeru</i> . (B) : Effet de la Brewers Protease sur l'évolution de la turbidité (NTU) des moûts du cultivar <i>Madjeru</i> en présence de Hitempase (1875 U) et Bioglucanase (750 BGU).	73
Figure 2.13. (A) : Effet de l'Hitempase 2XL (α -Amylase) sur l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des moûts du cultivar <i>Madjeru</i> . (B) : Effet de l'Hitempase 2XL (α -Amylase) sur l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des moûts du cultivar <i>Madjeru</i> en présence de Bioglucanase (750 BGU) et Brewers Protease (60 mg).	79
Figure 2.14. (A) : Contribution de chaque facteur sur le comportement général du modèle pour le suivi de la teneur en sucres réducteurs des moûts de <i>Madjeru</i> non malté. (B) : Contribution de chaque facteur sur le comportement général du modèle pour le suivi de la teneur en sucres réducteurs des moûts de <i>Madjeru</i> malté.	79
Figure 2.15. (A) : Effet de la Bioglucanase (β -Glucanase) sur l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des moûts du cultivar <i>Madjeru</i> . (B) : Effet de la Bioglucanase (β -Glucanase) sur l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des moûts du cultivar <i>Madjeru</i> en présence d'Hitempase (1875 U) et Brewers Protease (60 mg).	81
Figure 2.16. (A) : Effet de la Protéase sur l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des moûts de <i>Madjeru</i> . (B) : Effet de la Protéase sur l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des moûts de <i>Madjeru</i> en présence d'Hitempase (1875 U) et Bioglucanase (750 BGU).	82
Figure 2.17. (A) : Effet de l'Hitempase (α -Amylase) sur l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts du cultivar <i>Madjeru</i> . (B) : Effet de l'Hitempase (α -Amylase) sur	

l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts du cultivar <i>Madjeru</i> en présence de Bioglucanase (750 BGU) Brewers Protease (60 mg).....	89
Figure 2.18. (A) : Contribution de chaque facteur sur le comportement général du modèle pour le suivi de la teneur en acides aminés libres des moûts de <i>Madjeru</i> non malté. (B) : Contribution de chaque facteur sur le comportement général du modèle pour le suivi de la teneur en acides aminés libres des moûts de <i>Madjeru</i> malté.	89
Figure 2.19. (A) : Effet de la Bioglucanase (β -Glucanase) sur l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts du cultivar <i>Madjeru</i> . (B) : Effet de la Bioglucanase (β -Glucanase) sur l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts du cultivar <i>Madjeru</i> en présence d'Hitempase (1875 U) et Brewers Protease (60 mg).	90
Figure 2.20. (A) : Effet de la Protéase sur l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts du cultivar <i>Madjeru</i> . (B) : Effet de la Protéase sur l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts du cultivar <i>Madjeru</i> en présence d'Hitempase (1875 U) et Bioglucanase (750 BGU).....	92
Figure 3.1 : Cultivar <i>Safrari</i>	96
Figure 3.2. (A) : Effet de Hitempase 2XL (α -Amylase) sur l'évolution de l'extrait ($^{\circ}$ P) des moûts du cultivar <i>Safrari</i> . (B) : Effet de Hitempase 2XL sur l'évolution de l'extrait ($^{\circ}$ P) des moûts du cultivar <i>Safrari</i> en présence de Bioglucanase (400BGU) et Brewers Protease (60 mg).....	107
Figure 3.3. (A) : Contribution de chaque facteur sur le comportement général du modèle pour le suivi de l'extrait ($^{\circ}$ P) du moût de <i>Safrari</i> non malté. (B) : Contribution de chaque facteur sur le comportement général du modèle pour le suivi de l'extrait ($^{\circ}$ P) du moût de <i>Safrari</i> malté.	107
Figure 3.4 (A) : Effet de Bioglucanase TX (β -Glucanase) sur l'évolution de l'extrait ($^{\circ}$ P) des moûts de <i>Safrari</i> . (B) : Effet de Bioglucanase TX sur l'évolution de l'extrait ($^{\circ}$ P) des moûts du cultivar <i>Safrari</i> en présence de Hitempase (2000 U) et de Brewers Protease (60 mg).....	108
Figure 3.5. (A) : Effet de Brewers Protease sur l'évolution de l'extrait ($^{\circ}$ P) des moûts de <i>Safrari</i> . (B) : Effet de Brewers Protease sur l'évolution de l'extrait ($^{\circ}$ P) des moûts du cultivar <i>Safrari</i> en présence de Hitempase (2000 U) et de Bioglucanase (400 BGU)....	110
Figure 3.6. (A) : Effet de Hitempase 2XL sur l'évolution de la turbidité (NTU) des moûts de <i>Safrari</i> . (B) : Effet de Hitempase 2XL sur l'évolution de la turbidité (NTU) des moûts du cultivar <i>Safrari</i> en présence de Bioglucanase TX (400BGU) et de Brewers Protease (60 mg).....	117

Figure 3.7. (A) : Contribution de chaque facteur sur le comportement général du modèle pour le suivi de la turbidité (NTU) du moût de <i>Safrari</i> non malté. (B) : Contribution de chaque facteur sur le comportement général du modèle pour le suivi de la turbidité (NTU) du moût de <i>Safrari</i> malté.....	117
Figure 3.8. (A) : Effet de Bioglucanase TX sur l'évolution de la turbidité (NTU) des moûts de <i>Safrari</i> . (B) : Effet de Bioglucanase TX sur l'évolution de la turbidité (NTU) des moûts du cultivar <i>Safrari</i> en présence de Hitempase (2000 U) et de Brewers Protease (60 mg).	118
Figure 3.9. (A) : Effet de Brewers Protease sur l'évolution de la turbidité (NTU) des moûts de <i>Safrari</i> . (B) : Effet de Brewers Protease sur l'évolution de la turbidité (NTU) des moûts du cultivar <i>Safrari</i> en présence de Hitempase (2000 U) et de Bioglucanase (400 BGU).	120
Figure 3.10. (A) : Effet de Hitempase sur l'évolution de la teneur en sucres réducteurs (g/L) des moûts de <i>Safrari</i> . (B) : Effet de Hitempase sur l'évolution de la teneur en sucres réducteurs (g/L) des moûts de <i>Safrari</i> en présence de Bioglucanase (400BGU) et de Brewers Protease (60 mg).....	127
Figure 3.11. (A) : Contribution de chaque facteur sur le comportement général du modèle pour le suivi de la teneur en sucres réducteurs des moûts de <i>Safrari</i> non malté. (B) : Contribution de chaque facteur sur le comportement général du modèle pour le suivi de la teneur en sucres réducteurs des moûts de <i>Safrari</i> malté.....	127
Figure 3.12. (A) : Effet de Bioglucanase TX sur l'évolution de la teneur en sucres réducteurs (g/L) des moûts de <i>Safrari</i> . (B) : Effet de Bioglucanase sur l'évolution de la teneur en sucres réducteurs (g/L) des moûts de <i>Safrari</i> en présence de Hitempase 2XL (2000 U) et de Brewers Protease (60 mg).	129
Figure 3.13. (A) : Effet de Brewers Protease sur l'évolution de la teneur en sucres réducteurs (g/L) des moûts de <i>Safrari</i> . (B) : Effet de Brewers Protease sur l'évolution de la teneur en sucres réducteurs (g/L) des moûts de <i>Safrari</i> en présence de Hitempase (2000 U) et de Bioglucanase (400 BGU).....	130
Figure 3.14. (A) : Effet de l'Hitempase (α -Amylase) sur l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts du cultivar <i>Safrari</i> . (B) : Effet de Hitempase sur l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts du cultivar <i>Safrari</i> en présence de Bioglucanase (400 BGU) et de Brewers Protease (60 mg).	137
Figure 3.15. (A) : Contribution de chaque facteur sur le comportement général du modèle pour le suivi de la teneur en acides aminés libres des moûts de <i>Safrari</i> non malté. (B) :	

Contribution de chaque facteur sur le comportement général du modèle pour le suivi de la teneur en acides aminés libres des moûts de <i>Safrari</i> malté.	137
Figure 3.16. (A) : Effet de la Bioglucanase (β -Glucanase) sur l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts du cultivar <i>Safrari</i> . (B) : Effet de la Bioglucanase sur l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts du cultivar <i>Safrari</i> en présence de Hitempase (2000 U) et de Brewers Protease (60 mg).	139
Figure 3.17. (A) : Effet de Brewers Protease sur l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts du cultivar <i>Safrari</i> . (B) : Effet de Brewers Protease sur l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts du cultivar <i>Safrari</i> en présence de Hitempase (2000 U) et de Bioglucanase (400 BGU).	140
Figure 4.1 : Aire de combinaisons enzymatiques induisant une teneur optimale en extrait ($^{\circ}$ P) des moûts du cultivar <i>Madjeru</i>	148
Figure 4.2 : Aire de combinaisons enzymatiques induisant une teneur optimale en extrait ($^{\circ}$ P) des moûts du cultivar <i>Safrari</i>	148
Figure 4.3 : Aire de combinaisons enzymatiques induisant une turbidité (NTU) optimale des moûts du cultivar <i>Madjeru</i>	151
Figure 4.4 : Aire de combinaisons enzymatiques induisant une turbidité (NTU) optimale des moûts du cultivar <i>Safrari</i>	152
Figure 4.5 : Aire de combinaisons enzymatiques induisant une teneur optimale en sucres réducteurs des moûts du cultivar <i>Madjeru</i>	154
Figure 4.6 : Aire de combinaisons enzymatiques induisant une teneur optimale en sucres réducteurs des moûts du cultivar <i>Safrari</i>	154
Figure 4.7 : Aire de combinaisons enzymatiques induisant une teneur optimale en sucres réducteurs des moûts du cultivar <i>Safrari</i>	155
Figure 4.8 : Aire de combinaisons enzymatiques induisant une teneur optimale en acides aminés libres des moûts du cultivar <i>Madjeru</i>	157
Figure 4.9 : Aire de combinaisons enzymatiques induisant une teneur optimale en acides aminés libres des moûts du cultivar <i>Safrari</i>	157
Figure 4.10 : Aire de combinaisons enzymatiques induisant des caractéristiques physico-chimiques fixées pour les moûts du cultivar <i>Madjeru</i> non malté.	158
Figure 4.11 : Aire de combinaisons enzymatiques induisant des caractéristiques physico-chimiques fixées pour les moûts du cultivar <i>Madjeru</i> malté.	159
Figure 4.12 : Aire de combinaisons enzymatiques induisant des caractéristiques physico-chimiques optimales des moûts du cultivar <i>Safrari</i> non malté.	159

Figure 4.13 : Aire de combinaisons enzymatiques induisant des caractéristiques physico-chimiques optimales des moûts du cultivar <i>Safrari</i> malté.....	160
Figure 4.14 : Aire de combinaisons enzymatiques induisant des caractéristiques physico-chimiques optimales des moûts de <i>Madjeru</i> non malté et <i>Madjeru</i> malté.	161
Figure 4.15 : Aire de combinaisons enzymatiques induisant indifféremment des caractéristiques physico-chimiques optimales des moûts des cultivars <i>Safrari</i> et <i>Madjeru</i> non maltés.	162

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Impact des interactions sur l'extrait des moûts de <i>Madjeru</i> (A : Interaction X_1X_2 ; B : Interaction X_1X_3 ; C : Interaction X_2X_3).....	173
Annexe 2 : Impact des interactions sur la turbidité des moûts de <i>Madjeru</i> (A : Interaction X_1X_2 ; B : Interaction X_1X_3 ; C : Interaction X_2X_3).....	174
Annexe 3 : Impact des interactions sur les sucres réducteurs des moûts de <i>Madjeru</i> (A : Interaction X_1X_2 ; B : Interaction X_1X_3 ; C : Interaction X_2X_3).	175
Annexe 4 : Impact des interactions sur les acides aminés libres des moûts de <i>Madjeru</i> (A : Interaction X_1X_2 ; B : Interaction X_1X_3 ; C : Interaction X_2X_3).	176
Annexe 5 : Impact des interactions sur l'extrait des moûts de <i>Safrari</i> (A : Interaction X_1X_2 ; B : Interaction X_1X_3 ; C : Interaction X_2X_3).....	177
Annexe 6 : Impact des interactions sur la turbidité des moûts de <i>Safrari</i> (A : Interaction X_1X_2 ; B : Interaction X_1X_3 ; C : Interaction X_2X_3).....	178
Annexe 7 : Impact des interactions sur les sucres réducteurs des moûts de <i>Safrari</i> (A : Interaction X_1X_2 ; B : Interaction X_1X_3 ; C : Interaction X_2X_3).	179
Annexe 8 : Impact des interactions sur les acides aminés libres des moûts de <i>Safrari</i> (A : Interaction X_1X_2 ; B : Interaction X_1X_3 ; C : Interaction X_2X_3).	180

NOMENCLATURE ET ABREVIATIONS

A_1 : Absorbance de la solution test à 570 nm.

A_2 : Absorbance moyenne des solutions standard.

AAD : Average Absolute Deviation.

AADM : Analyse absolue de déviation moyenne.

AAL : Acides aminés libres (mg/L).

A_{fl} : Facteur polarisé d'exactitude

A_{dex}^g : Constante cinétique de production des dextrans à partir de l'amidon non gélatinisé et gélatinisé.

A_{mlt}^g : Constante cinétique de production de maltotrioses à partir de l'amidon gélatinisé.

a_w : Constante cinétique de la dégradation des β -glucanes.

B_f : Facteur polarisé

$b_g(t)$: Activité de la β -glucanase dans le malt humide.

B_{gl} , B_{mal} , B_{mlt} , B_{ldex} : Constantes cinétiques de la production du glucose, maltose, maltotriose et limite dextrine respectivement.

$b_w(t)$: Activité de la β -glucanase dans la phase liquide.

C : Matrice carrée.

CG : Capacité germinative (%).

d : Facteur de dilution.

D, gl, mal, mlt : Concentration en dextrine, glucose, maltose et maltotrioses respectivement.

Ddl : Degré de liberté.

D_m = Densité du moût.

DP_1 = Pouvoir diastasique (WKU) sur l'échantillon.

DP_2 = Pouvoir diastasique (WKU) sur le malt.

E : Concentration en éthanol.

EG : Energie germinative (%).

F = Facteur de correction pour obtenir un résultat par 100 g. $F_{10g} = 68,4$.

f_{temp} : Coefficient de dépendance à la température.

G : Excès de densité (matière sèche).

$g_g(t)$: Concentration des β -glucanes dans le malt humide.

$g_w(t)$: Concentration de β -glucanes dans la phase liquide.

H : Teneur en eau % (m/m).

H_b : Coefficient de dissolution de la β -glucanase.

HWE : Extrait à chaud exprimé en degré litre par Kilogramme.

IRAD : Institut de recherche agricole pour le développement.

k_m : Constante de Michaelis.

k_w : Facteur de dénaturation de la β -glucanase.

$k_\alpha(t)$, $k_\beta(t)$: Constantes cinétiques de dénaturation de l' α et la β -amylase respectivement.

L_t : Fonction sigmoïdale.

M : Masse (g).

M_0 : Masse avant passage à l'étuve.

M_1 : Masse après passage à l'étuve.

M_{AAL} : Masse (mg) d'acides aminés libres obtenue.

m_e = Masse (g) d'eau contenue dans le pycnomètre.

M_e = Masse (g) du pycnomètre rempli d'eau.

M_m = Masse (g) de malt.

m_m = Masse (g) de moût contenu dans le pycnomètre.

MMC : Méthode des moindres carrés.

M_p : Masse (g) du pycnomètre rempli de moût.

MT : Millions de tonnes.

M_v = Masse (g) du pycnomètre à vide.

N : Concentration en azote.

N_{ng} : Nombre de grains qui n'ont pas germés.

n : Nombre d'expériences.

N_g : Nombre de grains comptés dans le lot.

N_T = Teneur en azote total % (m/m).

NTU : Nephelometric Turbidity Unit.

P : Teneur en protéines (%).

P_m : Poids (g) de 1000 grains secs.

$q_{O_2,e,lim}$: Vitesse de consommation limite de l'oxygène.

$q_{O_2,e,max}$: Vitesse de consommation maximale de l'oxygène.

q_s : Vitesse de consommation du substrat.

$q_{s,max}$, K_s , $K_{i,eth}$, K_N , K_O , $K_{i,eth,O}$: Paramètres cinétiques.

R^2 : Coefficient de détermination.

r_{gl} , r_{mal} , r_{mlt} , r_{dex} , r'_{gl} , r'_{mal} , r'_{mlt} : Vitesses de réactions pour la production des sucres.

S : Concentration en substrat.

s_g : Concentration de β -glucanes insolubles dans le malt humide.

S_G : Densité spécifique corrigée à 20°C.

S_s : Concentration en amidon non gélatinisé.

SSE : Somme des erreurs au carré.

t : Temps (min) de la réaction.

T : Transposée

$T(t)$: Température au temps t .

T_g : Température la plus basse.

T_u : Température la plus élevée.

U_j : Valeur de la variable naturelle j .

U_j^0 : Valeur de la variable naturelle j au centre du domaine.

V = Volume (ml).

V_B = Volume (ml) obtenu lors de la titration de l'iode qui n'a pas réagi sur le blanc.

V_e : Volume (μL) d'enzyme (Brewers Protease).

V_g : Volume déplacé par le malt humide dans la maïsche.

V_T = Volume (ml) obtenu lors de la titration de l'iode qui n'a pas réagi sur le test.

V_w : Volume de la phase liquide dans la maïsche.

W : Matrice d'expérience de Doehlert.

WK : Windisch-Kolbach units.

W_r : Matrice d'expérimentale.

x_1 : Concentration de l'amidon dans la maïsche.

X_1 : Hitempase 2XL (α -amylase).

X_2 : Bioglucanase TX (β -glucanase).

x_2 : Concentration des dextrines dans la maïsche.

X_3 : Brewers Protease (Protéase).

x_j : Valeur de la variable codée j .

y : Modèle mathématique

\hat{y}_i : Valeur adaptée pour la $i^{\text{ème}}$ observation

$y_{i,\text{cal}}$: Réponses calculées.

$y_{i,\text{exp}}$: Réponses expérimentales.

Y_{MadAAL} : Modèle mathématique pour le cultivar *Madjeru* non malté dont la réponse est la teneur en acides aminés libres (AAL).

Y_{MadEX} : Modèle mathématique pour *Madjeru* non malté dont la réponse est l'extrait.

Y_{MadMAAL} : Modèle mathématique pour le cultivar *Madjeru* malté dont la réponse est la teneur en acides aminés libres (AAL).

Y_{MadMEX} : Modèle mathématique pour *Madjeru* malté dont la réponse est l'extrait.

Y_{MadMSRed} : Modèle mathématique pour le cultivar *Madjeru* malté dont la réponse est la teneur en sucres réducteurs.

Y_{MadMTU} : Modèle mathématique pour le *Madjeru* malté dont la réponse est la turbidité.

Y_{MadSRed} : Modèle mathématique pour le cultivar *Madjeru* non malté dont la réponse est la teneur en sucres réducteurs.

Y_{MadTU} : Modèle mathématique pour le *Madjeru* non malté dont la réponse est la turbidité.

Y_{SafAAL} : Modèle mathématique pour le cultivar *Safrari* non malté dont la réponse est la teneur en acides aminés libres (AAL).

Y_{SafEX} : Modèle mathématique pour le cultivar *Safrari* non malté dont la réponse est l'extrait.

Y_{SafMAAL} : Modèle mathématique pour le cultivar *Safrari* malté dont la réponse est la teneur en acides aminés libres (AAL).

Y_{SafMEX} : Modèle mathématique du cultivar *Safrari* malté dont la réponse est l'extrait.

Y_{SafMSRed} : Modèle mathématique pour le cultivar *Safrari* malté dont la réponse est la teneur en sucres réducteurs.

Y_{SafMTU} : Modèle mathématique pour le cultivar *Safrari* malté dont la réponse est la turbidité.

Y_{SafSRed} : Modèle mathématique pour le cultivar *Safrari* non malté dont la réponse est la teneur en sucres réducteurs.

Y_{SafTU} : Modèle mathématique pour le cultivar *Safrari* non malté dont la réponse est la turbidité.

$\partial/\partial\beta$: Différentiel par rapport à β

$^{\circ}\text{P}$: Degré Plato.

$\alpha(t)$, $\beta(t)$: Activités de l' α et la β -amylase respectivement.

$\alpha_g(t)$, $\beta_g(t)$: Activités de l' α et la β -amylase dans le malt humide respectivement.

β : Vecteur des coefficients du modèle.

ΔU_j : « pas » de variation.

ε : Résidu.

ε_i : Résidu correspondant à la $i^{\text{ème}}$ observation

\bar{y} : Moyenne des réponses expérimentales

RESUME

En utilisant des cultivars de sorgho non malté et malté (*Madjeru* et *Safrari*), une modélisation et une optimisation de l'action des enzymes (Hitempase 2XL, Brewers Protease et Bioglucanase TX) sont étudiées. Les caractéristiques physico-chimiques que sont l'extrait, la turbidité, les sucres réducteurs et les acides aminés libres de moûts ont été choisies. La Méthodologie des Surfaces de Réponse (MSR) a donné pour ces caractéristiques, des modèles polynomiaux multi variables, tous du second degré avec interactions. Ils ont été validés grâce aux coefficients de détermination (R^2) compris entre 0,912 et 0,995, aux analyses absolues de déviations moyennes (AADM) comprises entre de 0,006 à 0,101, aux facteurs de biais (compris entre 0,8 et 1,05) et aux facteurs d'exactitude (compris entre 1,01 et 1,28). Suite à l'analyse de l'action de ces enzymes autour de ces caractéristiques, l'effet le plus ressenti est celui de l'Hitempase, suit celui de Brewers Protease. La Bioglucanase quant à elle ne s'est pas montrée indispensable. Globalement, les contributions individuelles de ces enzymes présentent un impact significatif ($P < 0,05$), tandis que les interactions de leurs actions prises globalement présentent un impact non significatif ($P > 0,05$). Pour les mêmes doses en enzymes, les moûts de *Madjeru* et de *Safrari* maltés présentent des caractéristiques supérieures ($P < 0,05$) à celles des mêmes cultivars non maltés. Enfin, les plages des combinaisons enzymatiques permettant d'obtenir des moûts de caractéristiques précises: Extrait ≥ 12 °P ; turbidité ≤ 15 NTU ; sucres réducteurs ≥ 90 g/L et acides aminés libres ≥ 80 mg/L pour chaque cultivar de sorgho non malté ou malté sont établies.

Mots clés : Sorgho, enzymes brassicoles, moûts, modélisation, optimisation.

ABSTRACT

Mathematical modeling and optimization of the action of the mashing enzymes: Hitempase 2XL, Brewers Protease and Bioglucanase TX on the characteristics: extract, turbidity, reducing sugar and free amino nitrogen of the worts of the unmalted and malted sorghum cultivars *Madjeru* and *Safrari*, is carried out using the Response Surface Methodology (RSM). The RSM gives polynomial multi variable models, all of second degree with interactions, for the characteristics. These models are validated with the coefficients of determination (R^2) comprised between 0.912 and 0.995, absolute average deviation (AAD) comprised between 0.006 and 0.101, the bias factor (comprised between 0.8 and 1.05) and with the accuracy factor (comprised between 1.01 and 1.28). Following the analysis of the effect of the mashing enzymes, the effect of Hitempase is most pronounced followed by that of Brewers Protease. The use of Bioglucanase seems indispensable. In general, the individual contributions of these enzymes are significant ($P < 0.05$), while those of their interactions are not significant ($P > 0.05$). For same amounts of enzymes, the worts of malted *Madjeru* and *Safrari* present superior characteristics ($P < 0.05$) compared to those of the unmalted cultivars. Finally, the ranges of enzymatic combinations which permit obtaining worts of precise characteristics: extract ≥ 12 °P, turbidity ≤ 15 NTU, reducing sugars ≥ 90 g/L, free amino-nitrogen ≥ 80 mg/L) for each unmalted or malted sorghum cultivar, are established.

Key words: sorghum, mashing enzymes, worts, modeling, optimization.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Le sorgho (*Sorghum bicolor*. (L.) Moench) est une céréale tropicale des régions semi-arides où il sert de source importante de nourriture (Taylor, 2004). C'est la source d'énergie la plus importante dans la partie septentrionale du Cameroun. Avec 500000 tonnes de production annuelle (FAO, 2010), cette production est importante. Dans la condition de concurrence des entreprises multinationales, le sorgho est la meilleure alternative à l'orge pour le brassage de bière blonde (Aisien, 1988, Ilori *et al.*, 1991). En effet, le sorgho est utilisé dans la production des bières opaques traditionnelles et des boissons sans alcool dans les pays en voie de développement et jusque récemment, dans la production de la bière industrielle (Palmer, 1989, Taylor and Dewar, 2001). Dans les années 1970, on recensait 700 femmes brassant de la bière (*Bili-Bili*) à Maroua (Seignobos, 1976). En 2001 ce chiffre était largement dépassé avec une production moyenne supérieure à 100 litres de bière par cycle de production pour une mise de 40 kg de sorgho (Lopez and Muchnik, 2001). La bière de sorgho est largement consommée par les pauvres et contribue significativement à l'alimentation des populations. La production de *Bili-Bili* revêt un caractère socio-économique remarquable (Seignobos and Tourneux, 2002) puisqu'il est abondamment utilisé au cours des cérémonies traditionnelles. Par cette production croissante de *Bili-Bili*, les populations féminines de cette partie septentrionale du Cameroun, directement concernées par la production de cette boisson, augmentent ainsi leur pouvoir d'achat. En effet, la bière de sorgho (*Bili-Bili*) participe à l'autonomie financière de ces femmes (Koulandi, 1999). La femme qui traite régulièrement entre 100 et 150 tasses de sorgho, deux fois par semaine, peut disposer de revenus de 120000 FCFA par mois (Seignobos and Tourneux, 2002).

Le malt de sorgho est inférieur à l'orge dans le développement des enzymes hydrolytiques potentielles et pour les principaux extraits (EtokAkpan, 1992). Mais, du fait de son rôle important pour le développement économique en Afrique, il est donc indispensable que les recherches fondamentales et appliquées se focalisent sur ses capacités afin de faire de cette céréale l'outil de la sécurité alimentaire en Afrique. Sa faible quantité en enzymes dues à leur développement insuffisant pendant le maltage a souvent imposé l'utilisation des enzymes brassicoles commerciales en tant que suppléments pour obtenir les meilleures caractéristiques de goûts pour le brassage de bière (Aisien, 1982, Taylor, 1983, Arri, 1989, Aniche and Palmer, 1990, EtokAkpan and Palmer, 1990, Evans and Taylor, 1990a, Evans and Taylor, 1990b, Taylor, 1991, Dufour *et al.*, 1992, Adejemilua, 1995, Agu *et al.*, 1995, Agu and Palmer, 1998a, Agu and Palmer, 1998b, Nso *et al.*, 2003, Nso *et al.*, 2006). En effet, les

différences ont été rapportées sur la composition et la qualité brassicole des cultivars de sorghos maltés (Ezeogu and Okolo, 1994, Ezeogu and Okolo, 1995, Okolo and Ezeogu, 1996, Ezeogu and Okolo, 1999). Ceci a pu cependant être attribué à la variété de sorgho utilisé pour le maltage. Ce constat s'observe également dès la filtration des maïsches liée à la qualité de malt de sorgho (Declan *et al.*, 2002, Nso *et al.*, 2003). Le rôle des enzymes industrielles dans la facilitation des procédés brassicoles s'appuie sur le fait qu'elles ont un grand pouvoir catalytique, même utilisées en très faible quantité (traces). De plus, elles sont hautement spécifiques des réactions qu'elles catalysent et réduisent la consommation des produits chimiques et de l'énergie au cours du brassage. Ces observations, bien qu'elles montrent des différences dans le comportement entre les cultivars de sorgho au cours du maltage, font entrevoir également les possibilités de modéliser et d'optimiser l'exécution du brassage de sorgho. Le processus de brassage quant à lui a fait l'objet de nombreuses recherches dans le domaine brassicole. Une amélioration et une maîtrise du procédé de fabrication de la bière a conduit tout d'abord à la modélisation au niveau de l'étape de base qui est le maltage. Un intérêt particulier a été porté sur les β -glucanes qui posent d'énormes problèmes au niveau de la filtration de la maïsche. La modélisation de l'action de la β -glucanase sur la dégradation des β -glucanes au cours de la germination (Kuusela *et al.*, 2004) en est l'illustration. Par la suite, il y a eu une simulation de la modélisation de l'activité des enzymes issues de la germination au cours du touraillage (Hämäläinen and Reinikainen, 2007). Des travaux ont également porté sur le suivi de la quantité de sucres fermentescibles (Robert, 2000); ceci en utilisant une modélisation complexe. La modélisation a également fait l'objet du suivi de l'activité de la β -glucanase au cours du brassage (Kettunen *et al.*, 1996). On peut en outre noter l'utilisation de la modélisation dans la cinétique de l'hydrolyse enzymatique de l'amidon au cours du brassage (Brandam *et al.*, 2003). Un autre aspect de la recherche a porté sur la simulation de la propagation des levures brassicoles (Kurz *et al.*, 2002), la modélisation non linéaire des fermentations brassicoles industrielles (Speers *et al.*, 2003). La méthodologie des surfaces de réponse (MSR) a par contre été utilisée pour étudier l'effectivité de l'impact des enzymes industrielles sur le malt de sarrasin pour un but brassicole (Phiarais *et al.*, 2006). Les modèles observés dans la littérature sont complexes et difficiles à mettre en œuvre, et ils concernent presque exclusivement l'orge et pas le sorgho.

Un certain nombre de contraintes freinent le développement de ce secteur d'activité. D'une part, la production reste strictement artisanale, et donne un produit qui ne se conserve que 24 heures. D'autre part, le faible rendement de la production et les caractéristiques organoleptiques de cette bière la rendent de loin moins agréable que les bières industrielles

très appréciées dans les villes africaines. Les exigences de qualité de plus en plus strictes notamment au niveau des populations urbaines nécessitent la mise au point d'une bière africaine standardisée bien conditionnée et de bonne qualité organoleptique et sanitaire, aussi compétitive que la bière de malt d'orge. Ainsi, des essais d'amélioration de la qualité et de conditionnement des bières locales africaines ont été réalisés notamment au Nigeria et en Afrique du sud (Odunfa, 1985). Très peu d'études à notre connaissance ont porté sur l'optimisation des caractéristiques physicochimiques des moûts de sorgho.

Cette étude vise donc à améliorer les caractéristiques physicochimiques des moûts de sorgho (*Madjeru* et *Safrari*) en utilisant Hiteмпase 2XL, Bioglucanase TX et Brewers Protease. Des modèles mathématiques simples sont mis en œuvre via la MSR, qui est utilisée en vue d'expliquer et de quantifier l'influence de ces enzymes industrielles. Une optimisation est faite afin d'avoir un meilleur compromis pour ces caractéristiques physico-chimiques.

Objectif général :

Valoriser la filière de la bière industrielle de sorgho (*Madjeru* et *Safrari*) par le biais d'une amélioration des caractéristiques physicochimiques des moûts via la MSR.

Objectifs spécifiques :

- Développer des modèles mathématiques qui permettraient de prédire le profil de quelques caractéristiques physico-chimiques des moûts de sorghos non maltés et maltés.
- Déterminer à travers l'outil mathématique les concentrations optimales en enzymes nécessaires à l'obtention des moûts de sorgho de qualité.

Hypothèses

- L'apport en enzymes brassicoles est-il indispensable pour le brassage du sorgho ?
- La modélisation de l'apport en enzymes brassicoles permet-elle d'obtenir des moûts de sorghos non maltés et maltés comparables ?
- Existerait-il des compromis en concentrations enzymatiques brassicoles optimales permettant d'obtenir des moûts de sorgho de qualité ?

CHAPITRE I : REVUE DE LA BIBLIOGRAPHIE

I-1) GÉNÉRALITÉS SUR LE SORGHO.

I-1-1) Morphologie et historique.

Le Sorgho (Figure 1.1) est une plante monocotylédone qui appartient à la tribu *Andropogoneae*, sous tribu des *Sorghastrae* et famille des *gramineae* (Purseglove, 1988). La section *Sorghum* contient la totalité des taxons d'origine africaine impliqués dans le processus de domestication et de culture.



Figure 1.1 : Epis de sorgho dans un champ.

La morphologie des plantes de sorgho cultivées est si variable parmi les différents types, formes et variétés reconnus. Ils ont été classés en 23 espèces différentes. Tous ces types et formes qui sont cultivés pour leurs fruits et leurs parties végétatives ont été regroupés sous deux espèces très rapprochées, *Sorghum sudanense* et *Sorghum bicolor* (Wet and Harlan, 1971). Une espèce vivace de pâturage, *S. sudanense* de morphologie très variable, est originaire des régions tropicales humides d'Afrique. Les plantes de ce taxon sont prostrées, se propagent végétativement par rhizomes et produisent des panicules relâchées et peu denses. Ce taxon, parfois nommé sous le synonyme *S. halepense*, est considéré comme le taxon ancestral du complexe à partir duquel les sorghos à graines ont évolué lors du processus de domestication humaine. Les variétés de *S. bicolor* sont regroupées sous quatre races biologiques (Wet and Harlan, 1971) comme faisant partie d'un même complexe. Ces races ont évolué et ont été cultivées dans différentes régions de l'Afrique centrale et de l'Est couvrant de vastes territoires. A cause des croisements naturels et ceux provoqués par l'homme, de nombreuses variétés intermédiaires entre ces races ont été produites et il est parfois difficile d'assigner certaines variétés à une race particulière. Il y a peu de preuves archéologiques

fiables qui permettent de préciser une date et une région géographique précises en ce qui concerne les premières étapes de la domestication du sorgho.



Figure 1.2 : Quelques cultivars de sorgho (A : *Madjeru*, B : *Safrari*, C : *S.35*).

Le sorgho (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) est une graminée d'origine africaine. Elle a une morphologie et une physiologie très variables et il existe encore de nombreuses conjectures quant à son origine et son évolution. Cette espèce est cultivée principalement pour ses grains, utilisés pour l'alimentation humaine directe. Par contre, les autres parties de la plante sont aussi utilisées pour l'alimentation du bétail. Le sorgho est une composante importante de la diète alimentaire des habitants les plus démunis des régions semi-désertiques et des steppes tropicales et subtropicales de l'Afrique et de l'Asie. Elle est aussi cultivée comme plante d'ensilage destinée à l'alimentation du bétail aux États-Unis, et dans certains autres pays d'Amérique et d'Asie (Taylor, 2004).

I-1-2) Description de la plante, écologie et statistiques de production du sorgho.

Le sorgho est une plante de taille comprise entre 0,5 et 6 m, souvent annuelle et avec une seule tige (Purseglove, 1988). Les plantes de sorgho dans leurs stades de croissance végétative ressemblent aux plantes de maïs. Elles produisent des chaumes robustes et sont soutenues par un système racinaire profond et ramifié. Une seule racine est produite par la semence, suivie par des racines secondaires fibreuses. La croissance est déterminée et les fleurs sont regroupées sur des panicules terminales fortement ramifiées. Les épillets, un sessile et un pédicellé, regroupés par deux à chaque nœud des axes des rachis secondaires et tertiaires produisent deux types de fleurs. L'épillet sessile produit une fleur hermaphrodite possédant un ovaire uniovulé, un pistil bifide plumeux et trois étamines : la structure florale

caractéristique des céréales. L'épillet pédicellé produira, soit une fleur hermaphrodite avortée, soit une fleur mâle fonctionnelle (figure 1.3).



Figure 1.3 : Plant de sorgho.

La production mondiale de sorgho est de 58762435 Tonnes (FAO, 2010). Cette production provient de 100 pays. Les plus représentatifs sont présentés dans le Tableau 1.1. On a assisté à un recul progressif de la surface cultivée et amélioration des techniques culturales faisant passer le rendement de 8,68 hg/ha à 12 hg/ha (FAO, 2010). Le pourcentage par pays de terres arables dédiées au sorgho en Afrique est présenté à la Figure 1.4.

Tableau 1.1 : Production de sorgho par pays.

Pays	Production (T)
Argentine	2 936 840
Burkina Faso	1 875 046
Cameroun	500 000
Chine	2 502 532
États-Unis d'Amérique	11 998 040
Éthiopie	2 316 041
Inde	7 925 900
Mali	1 027 202
Niger	1 311 100
Nigéria	9 318 000
Ouganda	477 000
République-Unie de Tanzanie	900 000
Soudan	3 869 000
Tchad	685 430

Source : FAO, 2010

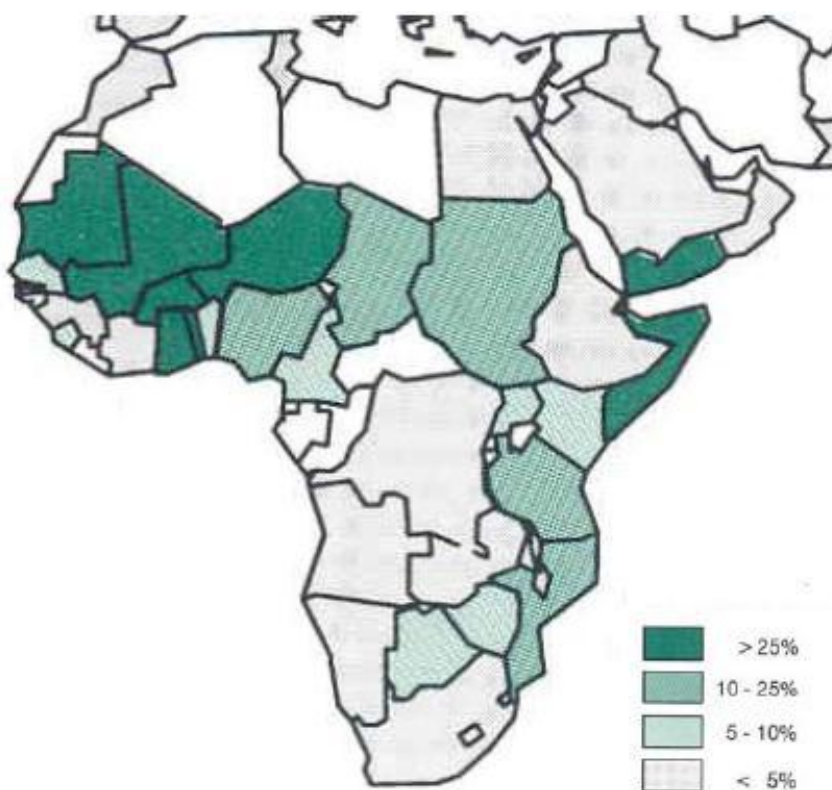


Figure 1.4 : Terres arables dédiées au sorgho en Afrique.

I-1-3) Structure et chimie du grain de sorgho.

L'observation au microscope électronique à balayage d'une large base génétique de sorgho a permis de définir une structure (figure 1.5). L'endosperme mou ou opaque est caractérisé par les espaces inter granulaires relativement grands. L'amidon est essentiellement rond et couvert de mince film de protéine. A l'intérieur de ce film, on trouve des corps protéiques sphériques relativement grands. La partie dure ou translucide de l'endosperme est caractérisée par une structure compacte sans espaces. Les granules d'amidon sont polygonaux et couverts de matrice mince de protéine. L'endosperme dur est le résultat de l'adhérence forte entre la protéine et l'amidon. Quand l'endosperme dur est rompu, beaucoup de granules d'amidon sont cassés plutôt que l'interface amidon-protéine (Hoseney *et al.*, 1974). L'absence d'une paille dans le grain de sorgho a été jusque récemment considérée comme un problème important en ce qui concerne l'emploi du sorgho pour brasser les bières claires et bières blondes. C'est parce qu'en brassant avec le malt d'orge, la paille forme une couche filtrante, une technologie traditionnellement utilisée pour séparer le moût (bière non fermentée) du grain épuisé.

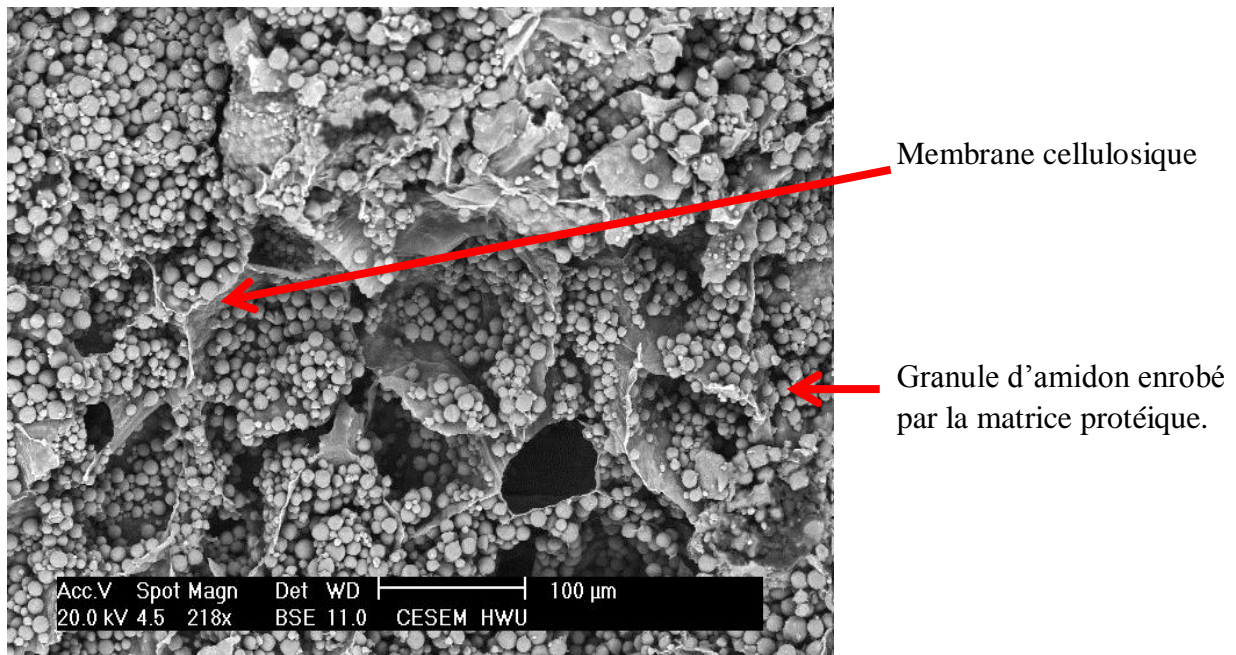


Figure 1.5 : Structure du grain de sorgho (*Safrari*) au microscope électronique à balayage (Curtery Nso and Palmer).

Le sorgho est assez unique parmi les céréales principales du fait que, quelques (une minorité) de variétés contiennent les tannins condensés (Serna-Saldivar and Rooney, 1995). Les tannins condensés, autrement connus comme pro anthocyanidines, sont situés dans le testa et le péricarpe du grain (Figure 1.6). Les tannins confèrent des avantages agronomiques

considérables au sorgho, l'attaque des oiseaux qui est un problème important dans les régions de l'Afrique Australe est réduite car, les tannins sont amers. De plus, les tannins protègent le sorgho contre les insectes et l'attaque fongique. Cependant, l'inconvénient des tannins de sorgho est qu'ils peuvent se lier aux protéines (Emmambux and Taylor, 2003) et aux enzymes digestives et ainsi réduire la valeur nutritive du grain.

Le sorgho, comme toutes les autres céréales, contient une plus ou moins grande quantité de composés polyphénoliques. En effet, beaucoup de variétés de sorgho sont pigmentées par un certain nombre de ces composés : les anthocyanines, anthocyanidines et d'autres flavonoïdes (Serna-Saldivar and Rooney, 1995). Les colorants sont concentrés dans le péricarpe et dans les glumes, mais peuvent avancer à l'endosperme. Ces colorants peuvent colorer des produits alimentaires de sorgho. Néanmoins, récemment, l'attention a été portée sur les propriétés " fonctionnelles " et antioxydantes salutaires sur le plan de la santé humaine de tels composés polyphénoliques (Armad *et al.*, 1998).

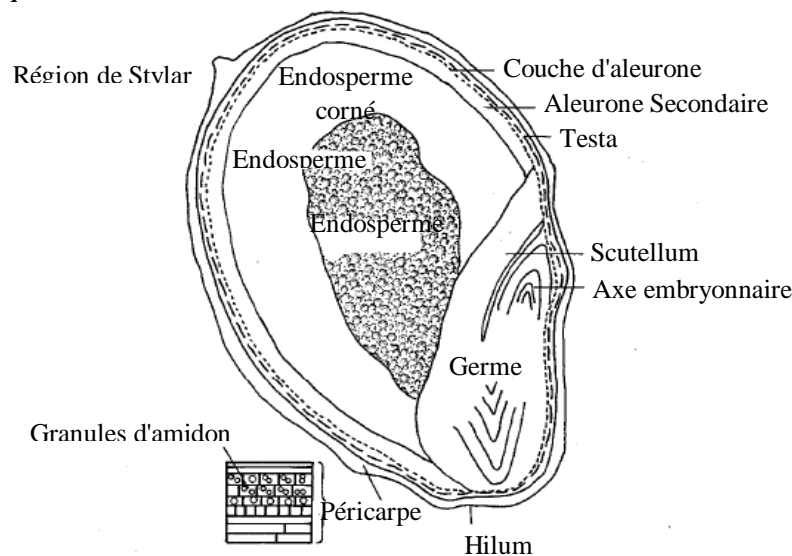


Figure 1.6 : Section schématisique du grain de sorgho.

L'endosperme du sorgho est riche en glucuronoarabinoxylanes insolubles dans l'eau contrairement à l'endosperme de l'orge, qui est principalement du type « hydrosoluble ».

Le sorgho est une céréale avec une variabilité génétique remarquable et, il est un principal compétiteur pour la substitution d'orge dans la production de bière, en particulier dans les pays tropicaux où la culture d'orge n'a pas réussi. L'utilisation du sorgho pour le maltage est ainsi une option potentiellement envisageable pour réduire le coût aussi bien que réduire les importations de l'orge (David *et al.*, 2004). En outre, c'est une céréale largement admise en service où le malt d'orge n'est pas aisément accessible (Eneje *et al.*, 2001). Cependant, l'amidon de sorgho présente beaucoup de variation avec d'autres amidons

conventionnels. Une telle variabilité pourrait être due aux pourcentages variables en amylopectine de l'amidon et aux forces de liaison variables dans les granules, forces responsables d'une résistance plus élevée au gonflement et à la rupture (Dufour *et al.*, 1992). Un autre point d'intérêt par rapport à l'amidon de sorgho est sa distribution dans le grain ou le caryopse.

Les techniques de coloration d'iode indiquent la présence du matériel féculent dans l'endosperme et le mésocarpe du péricarpe dans quelques cultivars de sorgho. Les cultivars de sorgho avec un niveau élevé d'amidon dans le mésocarpe se comportent toujours mal pendant le brassage. L'absence de l'amidon dans le mésocarpe est souhaitable et souvent incluse entre d'autres caractéristiques pour choisir des cultivars de sorgho pour brasser (Dufour *et al.*, 1992). Parmi les différentes variétés de sorgho, il y a ceux avec l'endosperme cireux qui contiennent 95% d'amylopectine environ et une matrice relativement faible de protéine. Ces sorghos sont plus susceptibles à l'hydrolyse par les enzymes amylolytiques et protéolytiques. Ces caractéristiques en plus de la tendance à gélatiniser plus rapidement, rendent les sorghos cireux plus attrayants en tant que sources potentielles de matériel industriel de brassage (David *et al.*, 2004).

I-1-4) Utilisations du sorgho.

Traditionnellement, le sorgho est utilisé pour ses graines dans les régions subtropicales chaudes où la pluviométrie est de 300 à 1100 mm par an. Il est principalement utilisé pour faire de la farine servant à l'alimentation animale ou humaine. Le jus sucré de sa tige peut servir à produire de l'alcool (éthanol). Dans les préparations culinaires les plus simples, on fait cuire le grain entier à l'eau (pour produire un aliment qui ressemble au riz), puis on le fait griller (en général au stade pâteux), ou on le fait éclater (comme le maïs). Mais le plus souvent, on moule le grain ou on le pile pour le réduire en farine, en général après décorticage. La farine de sorgho sert aussi à faire des bouillies épaisses ou liquides, des crêpes, des boulettes ou du couscous, des bières opaques ou troubles et des boissons fermentées sans alcool (Murty and Kumar, 1995, Rooney and Waniska, 2000, Taylor and Dewar, 2001).

En Afrique australe, le maltage du sorgho pour le brassage de la bière opaque s'est développé en une industrie commerciale à grande échelle avec environ 150 000 tonnes de sorgho commercialement malté annuellement. Ce chiffre inclut un peu de sorgho malté pour la production d'une céréale de petit déjeuner de malt de sorgho "Maltabela". Le sorgho est également malté commercialement sur une grande échelle au Nigéria en Afrique de l'Ouest pour la production de la bière blonde et de la bière de malt et pour les boissons sans alcool.

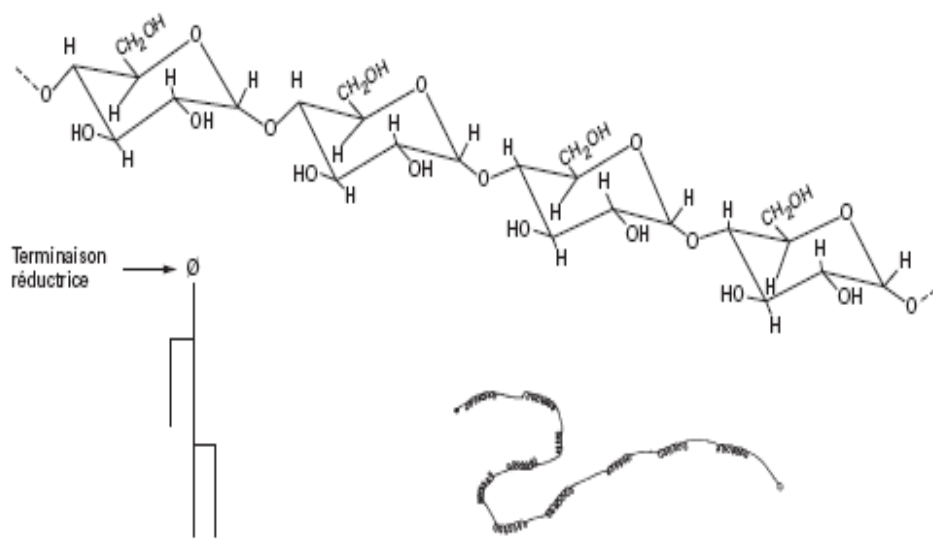
Dans les pays de l'Afrique où le sorgho est malté commercialement, les départements agricoles respectifs et les sélectionneurs commerciaux multiplient des cultivars de sorgho ayant la bonne qualité de maltage pour le brassage. Le critère de qualité primaire est leur potentiel à produire le malt avec le pouvoir diastasique élevé (action d'amylase).

I-2) MALTAGE ET BRASSAGE DU SORGHO.

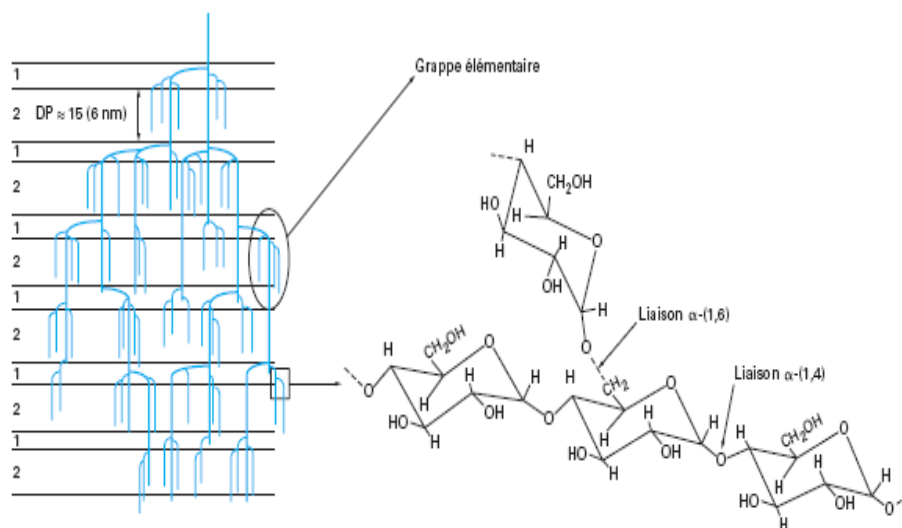
Le maltage consiste à nettoyer le grain et à favoriser, par la trempe et la germination, le développement des enzymes et la transformation de l'amidon en sucres fermentescibles. L'activité embryonnaire et enzymatique est ensuite stoppée par séchage (touraillage) pour donner le malt, produit de bonne conservation devenu inerte (Taylor and Dewar, 2001). Une partie significative du travail de recherche et développement pour l'usage du sorgho pour le maltage et le brassage industriels des bières claires (bières blondes allemandes et bières de malt) en Afrique a commencé dans la seconde moitié des années 80 (Dufour *et al.*, 1992, Owuama, 1999, Taylor *et al.*, 2006). Le sorgho est riche en amidon avec approximativement un rapport d'amylopectine/amylose (Figure 1.7) de 75:25 et devrait donc constituer un grist préférentiel dans le brassage industriel de bière blonde. Ces qualités de brassage sont encore avancées par l'absence de gluten dans les protéines du sorgho (Taylor *et al.*, 2006). Cependant, l'utilisation du sorgho non malté dans le brassage de bière est liée aux problèmes de la saccharification inachevée, de la faible filtrabilité de moût et de l'insuffisance d'acides aminés libres (Taylor *et al.*, 2006). La saccharification inachevée de l'amidon de sorgho et, par conséquent, de son bas taux d'extraits fermentescibles a été attribuée à la basse digestibilité de son amidon. Au commencement la basse digestibilité d'amidon avait été attribuée seulement à la température élevée de gélatinisation de l'amidon de sorgho (67 - 81°C (ou 7 - 30°C plus haut que celle de l'amidon d'orge (51 - 60°C)) (Dufour *et al.*, 1992, Okolo *et al.*, 1997). Des études plus récentes qui montrent que la digestibilité d'amidon de sorgho est demeurée basse, même après la cuisson à jusqu'à 98 - 100°C (Chandrashekar and Kirleis, 1988, Zhang and Hamaker, 1998, Ezeogu *et al.*, 2005) ont prouvé que d'autres facteurs, en particulier la tendance par le polymère complexe bisulfure-kaffir (Duodu *et al.*, 2003) de limiter l'accès de l'amylase aux granules d'amidon et, ont contribué de manière significative à la digestibilité réduite de l' α -amylase sur l'amidon de sorgho. Il s'avère que l'utilisation des cultivars cireux peut drastiquement réduire les problèmes de la basse digestibilité d'amidon dans le brassage du grist de sorgho. Un certain succès significatif a été atteint avec des études pour améliorer l'action de la β -amylase du malt de sorgho, bien que la plupart ait été concernées par les effets des conditions de maltage et aient impliqué seulement la plupart du

temps celles développées au Nigéria, en Inde et en Afrique du Sud (Ezeogu and Okolo, 1994, Dewar *et al.*, 1997a, Dewar *et al.*, 1997b, Okungbowa *et al.*, 2002). Dans une étude récente du Botswana, il a été observé que la β -amylase a constitué jusqu'à 80% du pouvoir diastasique dans au moins quatre des variétés étudiées (Letsididi *et al.*, 2008). Ceci conteste des vues de longue date que l' α -amylase est la source principale du pouvoir diastasique du malt de sorgho (Dufour *et al.*, 1992, Taylor and Robbins, 1993, Okungbowa *et al.*, 2002). Les sorghos cireux sont susceptibles à l'amylolyse, et donnent des temps plus courts de conversion et une filtrabilité très élevée des moûts. Ils ont de faibles quantités de glucose et de fructose dans les moûts et leurs bières sont plus proches de celles obtenues à partir de l'orge (Barredo Moguel *et al.*, 2001, Del Pozo-Insfran *et al.*, 2004). La cuisson des farines de sorgho pourrait nettement améliorer la digestibilité de l'amidon de sorgho par l'amylase (Ortega-Villicana and Serna Saldivar, 2004, Ezeogu *et al.*, 2005). La microscopie focale tridimensionnelle a prouvé que ceci a pu avoir été réalisé par la rupture probablement puissante de la matrice protéique du sorgho (Ezeogu *et al.*, 2005). L'humidité et la température sont entre autres les principaux paramètres déterminants dans le maltage des céréales. La prise en eau (humidité) lors de 72 h de trempage des grains a été démontrée comme critère primordial de la qualité des malts (bonne modification). Ainsi, il a été reporté que, des valeurs d'humidité au-delà de 50 % sont très bonnes, 47,5 à 50 % bonnes et 45 à 47,5 % suffisantes pour l'orge (Narziss and Friedrich, 1970). De même, pour le sorgho, il a été reporté que les températures de germination conduisant à une activité diastasique optimale sont : 30 °C pendant 4-5 jours, 28 °C (6 jours) et 25°C (7 jours) (Briggs, 1998). En effet, pour une germination faite entre une température comprise entre 24 et 30 °C, 24 °C est la température qui donne l'activité β -amylasique la plus élevée et, une corrélation significative existe entre l'activité β -amylasique et la puissance diastasique du sorgho malté (Taylor and Robbins, 1993). D'autres travaux réalisés sur le maltage du sorgho avec un trempage et une germination entre 20 °C et 30 °C ont donné, comme conclusion que, la qualité optimale (synthèse importante d'enzymes) du sorgho malté, est obtenue pendant une germination à 30 °C (Agu and Palmer, 1997). La germination des grains est arrêtée par le touraillage. Ceci se fait de manière à éviter une destruction importante des enzymes requises lors du brassage. Cette destruction est étroitement liée à l'humidité du grain ainsi qu'à la température de touraillage. Généralement, plus basse est l'humidité du grain lors du touraillage, plus efficace est l'effet de la température (c'est-à-dire une augmentation progressive de celle-ci). Ainsi, des études faites pour le sorgho avec des températures de 35, 40 et 45°C de touraillage, montrent une réduction de 7,7 ; 8,7 et 12,4 % de l'activité diastasique et également, une réduction de 4,1 ; 7,3 et 12,6 % respectivement de

l'activité cellulasique (Agu *et al.*, 1995). Les protéases du malt de sorgho jouent des rôles importants dans la modification de structure de la graine pendant la germination et la génération des acides aminés libres pendant le brassage de la bière blonde. La protéinase et le carboxypeptidase du malt de sorgho dépendent nettement de la variété de grain et de l'état du maltage (Evans and Taylor, 1990a, Ezeogu and Okolo, 1995). Au-delà de ces derniers, aucune tentative n'a été faite pour étudier les fonctions des protéases de sorgho pendant le maltage ou la germination.



(a) *Amylose*



(b) *Amylopectine*

Figure 1.7 : Structure de l'amylose (a) et de l'amylopectine (b) (Buleon, 2001).

Le brassage avec le malt de sorgho est associé à quelques points faibles comprenant sa basse activité de β -amylase, ses activités insuffisantes en β -glucanase et en enzymes

protéolytiques (Palmer, 1989) aussi bien que des problèmes d'obtention médiocre d'extrait pendant le brassage et la teneur relativement élevée en glucose et la fermentescibilité réduite de ses moûts. L'activité basse de β -amylase a comme conséquence une faible maltogenèse et, les niveaux insuffisants d'extraits fermentescibles au cours du brassage. Des efforts ont été faits pour améliorer l'activité de la β -amylase du sorgho par le choix et le développement des cultivars ayant une action β -amylasique accrue et, par l'optimisation des conditions de maltage aussi bien que par l'adoption du procédé de brassage par décantation. Ici, la maïsche enzymatique est d'abord séparée de l'amidon puis réunie à elle après que ce dernier ait été gélatinisé (Palmer, 1989). La technique qui consiste en un brassage de 1 h à 45 °C et ensuite 3 h à 70 °C, donne les extraits de l'ordre de 82 à 88 % pour les malts de 4 à 5 jours de germination (Pathirana *et al.*, 1983). D'autres travaux ont permis de dire que, la gélatinisation de l'amidon de sorgho (100 °C pendant 30-40 min) est un pré requis pour une activité α -amylasique maximale, elle procure de meilleurs résultats (Olatunji *et al.*, 1993). La procédure optimale est, de procéder à la soumission de l'amidon à 100 °C pendant 40 min, ceci en présence d' α -amylase thermostable et des ions Ca^{2+} (200 ppm). Ensuite on procède à une programmation de température : 55, 65 et 72 °C pendant 15, 30 et 20 min respectivement (Bajomo and Young, 1992). Quand le brassage est effectué avec du sorgho malté et, avec le sorgho comme grains crus, on a un extrait très important, mais une faible teneur en sucres fermentescibles ; ceci lorsque le brassage se fait à température constante (75 °C). En effet, la température de gélatinisation du sorgho est assez haute, et il devient alors assez difficile d'avoir de l'amidon de sorgho gélatinisé à 75 °C ; la conséquence immédiate est une attaque difficile et lente de cet amidon par les enzymes endogènes. Les meilleurs résultats sont obtenus avec la méthode de triple décoction qui facilite la gélatinisation et la saccharification de l'amidon ainsi que la formation des sucres fermentescibles (Taylor and Robbins, 1993).

La filtration est un point très important dans le procédé de fabrication de la bière. La considération qui est faite est que, la sédimentation n'est pas considérée comme un phénomène important. Par contre, la production d'un gâteau massif est due à l'élimination d'un certain volume de matières en suspensions et à l'écoulement d'un certain volume de filtrat de telle sorte que les problèmes de filtration ne sont pas seulement liés à des concentrations élevées de β -glucanes non dégradés, mais aussi aux pentosanes, xylanes, certaines protéines riches en cystéine qui peuvent former un gel, à de l'amidon non dégradé (Larreta-Garde, 1997). L'addition d'enzymes microbiennes hydrolysant les β -glucanes et autres hémicelluloses comme les xylanes et pentosanes durant le brassage, permettrait d'améliorer la vitesse de filtration de la maïsche et de la bière, particulièrement avec des malts

peu désagrégés où lors de l'utilisation de l'orge comme grain cru (Letters, 1985). En cas de problèmes de filtration dus à une mauvaise dégradation de l'amidon, les α -amylases de *Bacillus subtilis* ou d'*Aspergillus oryzae* qui ont une température optimum de 50-55°C peuvent être utilisées (Larreta-Garde, 1997). Les préparations commerciales d'enzymes contiennent des activités β -glucanasiques seules ou associées à des activités pentosanases, xylanases, arabinases secondaires. Les activités secondaires permettent d'hydrolyser les autres constituants des parois de l'endosperme (pentosane et cellulose). De plus les pentosanes sont connus pour leur pouvoir de rétention d'eau très important, plus de 10 fois leur poids (McCleary, 1986). Ils vont donc freiner l'écoulement du moût et donner des drêches plus humides.

I-3) LA MODÉLISATION MATHÉMATIQUE.

Un modèle mathématique est une équation ou un ensemble d'équations décrivant le mieux possible le phénomène qu'il représente. Ce modèle servira ensuite pour décrire tout phénomène comparable dans son ensemble et permettra aussi de faire des prédictions (interpolation, extrapolation). On doit d'abord observer un phénomène, créer un modèle qui le reproduit le plus fidèlement possible, déterminer les limites de ce modèle et finalement le valider (en météorologie, par exemple). Cette démarche de modélisation mathématique correspond bien aux étapes de la démarche scientifique du programme de sciences et technologies à savoir : Observation, analyse, hypothèse, validation (Gervais, 2007).

I-3-1) Théorie des surfaces de réponse.

I-3-1-1) Terminologie.

La plupart des termes spécifiques utilisés en Méthodologie de la Recherche Expérimentale (Mathieu *et al.*, 1977) sont classiques, mais il peut arriver que dans certains domaines statistiques, ils aient des significations un peu différentes. Pour mieux saisir le sens de ce qui est dit, il s'avère nécessaire de rappeler les significations de quelques termes importants (Figure 1.8).

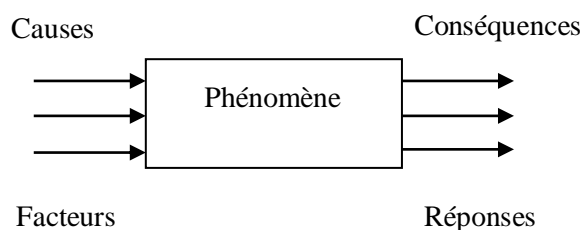


Figure 1.8 : Représentation des termes significatifs.

Domaine des facteurs

Le domaine des facteurs est l'espace dans lequel peuvent varier les facteurs. Il est soit infini, soit fini.

L'expérimentateur se limite en un domaine fini appelé domaine expérimental possible du fait des contraintes expérimentales, techniques ou économiques. Ce domaine lui-même est souvent réduit à un domaine d'intérêt qui peut évoluer au cours de la recherche et qui coïncide souvent avec le domaine expérimental possible. C'est à l'intérieur du domaine d'intérêt, dont le « centre » (appelé centre d'intérêt) est pris pour origine, que la réponse est étudiée.

Facteurs

Les facteurs sont les causes, supposées ou certaines qui provoquent le phénomène (Mathieu *et al.*, 1977). Tous les facteurs qui peuvent avoir une influence sur le phénomène doivent être pris en compte, faute de quoi les résultats pourraient être biaisés et ainsi inutilisables. Un facteur peut être qualitatif ou quantitatif, continu ou discontinu, contrôlable ou non et peut être caractérisé par une ou plusieurs variables naturelles. Dans la majorité des cas, les facteurs sont caractérisés par une variable naturelle.

Réponses

Une réponse expérimentale (parfois appelée variable dépendante) est une manifestation mesurable que l'on observe lorsque l'on fait varier les facteurs étudiés (Mathieu *et al.*, 1977). Elle peut être le résultat expérimental d'une expérience, mais aussi le résultat d'une simulation électrique. Un phénomène peut éventuellement se décrire par plusieurs réponses expérimentales et, toutes les réponses sont envisageables.

Expériences

Une expérience (ou point expérimental) est définie par un ensemble de conditions opératoires. Les facteurs pouvant avoir une influence sur le phénomène dont la variation n'est pas étudiée, doivent être fixés à une valeur constante durant toute l'expérimentation.

Matrice d'expériences

Une matrice d'expériences est un objet mathématique qui représente sous forme codée ou normée, l'ensemble des expériences à réaliser (Mathieu *et al.*, 1977). C'est un tableau constitué de N lignes correspondant aux N expériences et de k colonnes correspondantes aux k variables étudiées. L'élément x_{ij} de la matrice ainsi formée correspond au niveau que prend la j -ième variable (codée ou normée) à la i -ième expérience.

Plan d'expérimentation

Un plan d'expérimentation est la traduction d'une matrice d'expériences exprimée en fonction des facteurs (Mathieu *et al.*, 1977). Il s'agit donc d'un tableau, contenant des

données, directement utilisable par l'expérimentateur. Ce tableau est, comme la matrice d'expériences, constitué de N lignes et de k colonnes. Chacun des U_{ij} correspond au niveau que prend le j-ème facteur à la i-ème expérience.

I-3-1-2) Méthodologie des Surfaces de Réponse (MSR).

La MSR a plusieurs avantages comparés aux méthodes classiques expérimentales ou d'optimisation. Elle offre un grand nombre d'informations avec un nombre restreint d'expériences. En effet, les méthodes classiques sont longues et un grand nombre d'expériences sont nécessaires pour expliquer le comportement d'un système. Ensuite, dans la MSR, il est possible d'observer l'effet d'interaction des paramètres indépendants sur la réponse. Particulièrement dans des processus biochimiques, l'effet d'interaction des paramètres serait plus critique comme le synergisme, l'antagonisme et l'addition. L'équation modèle clarifie facilement ces effets pour la combinaison binaire des paramètres indépendants. En outre, le modèle empirique qui a rapporté la réponse aux variables indépendantes est employé pour obtenir des informations sur le processus. En ce qui concerne ces derniers, nous pouvons dire que la MSR est un outil utile pour l'optimisation du processus chimique et biochimique.

Cependant, il se peut que ce modèle statistique soit trop simple au regard de la complexité de la réponse du simulateur. Dans de nombreux cas, il est nécessaire de faire appel à des modèles statistiques plus sophistiqués. De plus, les points des plans classiques sont positionnés sur les bords du domaine expérimental. Ils ne sont donc pas adaptés pour détecter les irrégularités à l'intérieur du domaine, ni d'ailleurs pour ajuster un modèle statistique autre que polynomial. D'autres types de plans sont alors envisagés.

Il est rare que la forme mathématique d'un modèle soit connue. Faute de possibilité d'étude du modèle théorique, l'expérimentateur, qui est ignorant de la forme de dépendance entre les facteurs et les réponses, se contentera de postuler un modèle empirique.

Le choix de ce modèle est délicat et repose sur deux principales hypothèses :

- Le phénomène n'est pas discontinu dans le domaine étudié ;
- La surface de réponse n'est pas compliquée (à cause de la présence de nombreux maximums ou minimums locaux) ;

Une fonction infiniment dérivable peut être développée en série de Taylor au voisinage du centre d'intérêt X_0 :

$$f(x) = f(x_0) + \nabla^1 f(x_0)(x - x_0) + \frac{1}{2}(x - x_0)\nabla^2 f(x_0)(x - x_0) + \dots \quad [1.1]$$

$$\nabla^1 f(x_0) = \left[\frac{\partial f(x_0)}{\partial x_1}, \dots, \frac{\partial f(x_0)}{\partial x_k} \right] \quad [1.2]$$

$$\nabla^2 f(x_0) = \begin{bmatrix} \frac{\partial^2 f(x_0)}{\partial x_1^2} & \dots & \frac{\partial^2 f(x_0)}{\partial x_1 \partial x_k} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial^2 f(x_0)}{\partial x_k \partial x_1} & \dots & \frac{\partial^2 f(x_0)}{\partial x_k^2} \end{bmatrix} \quad [1.3]$$

Pour $k = 2$ nous obtenons la représentation polynomiale suivante :

$$f(x) = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_{11} x_1^2 + \beta_{22} x_2^2 + \beta_{12} x_1 x_2 + \dots \quad [1.4]$$

Les modèles empiriques étudiés par la méthode de surfaces de réponse sont pour la plupart des modèles polynomiaux comme l'équation 1.4. Un polynôme sera toujours un bon modèle empirique à condition que le degré soit suffisamment élevé ou/et le voisinage petit. Tout le problème réside dans le choix du domaine expérimental. En effet, plus le degré du polynôme augmente, plus le nombre de coefficients à estimer devient grand, et le nombre d'expériences nécessaires pour les estimer s'avère vite prohibitif. Le Tableau 1.2 indique le nombre de termes contenus dans les équations de degré 1, 2, ... quand le nombre de facteurs augmente.

Tableau 1.2 : Nombre de termes contenus dans une équation en fonction du degré et du nombre de facteurs.

Nombre de facteur k	d = degré du polynôme			
	1	2	3	4
2	3	6	10	15
3	4	10	20	35
4	5	15	35	70
5	6	21	56	126
k	k+1	$\frac{(k+2)!}{2(k)!}$	$\frac{(k+3)!}{6(k)!}$	$\frac{(k+4)!}{24(k)!}$

Le choix d'un domaine trop grand risque de ne pas traduire la présence des extremums locaux avec un modèle simple. Inversement, un domaine très petit, s'il permet l'utilisation d'un modèle simple, ne permet pas l'extrapolation sauf dans le très proche voisinage. La simplicité du modèle polynomial est un avantage, car son approximation est aisée. Il faut toujours garder à l'esprit que : la représentation polynomiale de la fonction de réponse n'est

valable que dans le domaine expérimental et, ne peut représenter la véritable fonction de réponse en dehors de ce domaine.

Généralement, les modèles étudiés se limitent au degré 2 et on trouve très rarement dans la littérature une utilisation de degré supérieur à 2. En fait, si le modèle de degré 2 n'est pas satisfaisant, il est à craindre qu'un modèle de degré supérieur ne soit nécessaire et dans ce cas il y a lieu de prévoir une stratégie de rechange, à savoir modifier le domaine expérimental rechercher si aucun facteur n'a été oublié ou négligé, ...

L'objectif premier du modèle empirique est d'obtenir une prévision de meilleure qualité possible. Une des conséquences est la recherche d'extremums. A partir du modèle empirique, il est facile de déterminer de façon analytique les positions d'extremums ou tout au moins les directions privilégiées. L'expérimentateur quant à lui devra toujours garder à l'esprit qu'il ne s'agit que d'un modèle empirique et qu'il devra vérifier expérimentalement les conclusions obtenues par calcul.

Les problèmes d'optimisation sont des problèmes où l'on cherche à savoir à quelles conditions ou à quels moments un phénomène passera par un minimum ou un maximum.

Pour déterminer l'équation décrivant un phénomène basé sur l'optimisation, il faut :

- Identifier la quantité que l'on cherche à optimiser ;
- Déterminer la fonction traduisant cette quantité : cette quantité est généralement la variable dépendante et il faut choisir la variable indépendante parmi les variables inconnues ;
- Dériver cette fonction, identifier les valeurs de la variable indépendante qui annulent cette dérivée et, par le test de la dérivée seconde, identifier la nature des extremums.

Avant même de penser à la solution ou aux pistes de solutions, il faut bien observer les données du problème qui vous est proposé. Une bonne observation des données du problème inclut au moins les éléments suivants :

Énumérer les variables et dresser une figure.

Il faut d'abord esquisser une figure sur laquelle on identifie les données du problème ou un plan de la situation décrite. Il faut ensuite énumérer toutes les variables connues et inconnues, ainsi que les paramètres paraissant dans l'énoncé ou découlant de la figure. Les paramètres sont les quantités considérées constantes dans le cadre du problème. Pour cela, il est nécessaire de lire très attentivement l'énoncé du problème et de bien observer la figure. Il faut enfin, si cela s'applique au problème, indiquer les contraintes qui s'appliquent aux paramètres et aux variables. Ne pas oublier de vérifier la cohérence des unités utilisées.

Déterminer la problématique et poser une hypothèse sur la nature du problème.

Il faut d'abord préciser la question qui est posée, c'est-à-dire identifier la quantité qu'il va falloir calculer, puis identifier toutes les données qui sont connues. Il faut ensuite identifier la nature du problème pour pouvoir en déduire la stratégie de résolution. Il s'agit alors, pour terminer cette étape d'observation, de poser une hypothèse sur la nature du problème rencontré. À ce stade, nous pouvons rencontrer deux types majeurs de problèmes : les problèmes de taux de variation liés et les problèmes d'optimisation. Dans chacun de ces cas, il faudra alors utiliser la méthode correspondante, qui a été précisée à la section précédente.

Définir et mettre en forme des fonctions ou des équations.

Cette étape est cruciale. Il s'agit d'établir une ou plusieurs équations ou de définir une ou plusieurs fonctions décrivant le phénomène. Pour cela, la méthode à utiliser dépend de la nature du problème : taux de variation liés ou optimisation ? Les équations ou les fonctions peuvent d'abord s'écrire «en langage courant», puis se mettre sous forme mathématique en incluant les variables ou paramètres identifiés au début. Eventuellement, il faut choisir parmi les variables, une variable indépendante et vérifier si certaines variables sont liées entre elles. Quand plusieurs paramètres sont liés, il faut les exprimer en fonction d'un seul. L'étude d'une fonction à une variable implique que tous les paramètres correspondent à des valeurs données dans l'énoncé du problème. L'ensemble des équations ou fonctions ainsi obtenues forme le «modèle» lui-même. Les paramètres doivent, de préférence, paraître sous forme de valeurs algébriques. Ils seront remplacés par leurs valeurs numériques à l'étape de l'expérimentation ou des calculs.

Rédiger un protocole de laboratoire.

Les logiciels de calcul symbolique sont d'une grande utilité dans le processus de résolution de problèmes. Ils permettent d'abord d'effectuer les calculs nécessaires, puis de tracer les graphiques des fonctions représentant le phénomène étudié et surtout, d'explorer les solutions beaucoup plus en profondeur en «simulant» le modèle pour différentes valeurs des paramètres. Donc, il est nécessaire de rédiger un «protocole de laboratoire» qui indique ce que l'on compte faire avec un logiciel de calcul symbolique pour étudier le modèle : effectuer les calculs et déterminer des solutions, les représenter graphiquement, les analyser, simuler ce que seraient ces solutions pour différentes valeurs des paramètres et les interpréter en profondeur. Un protocole de laboratoire est une liste d'opérations à effectuer à l'aide d'un logiciel de calcul symbolique pour compléter l'étude du problème. À ce stade, il comprend au moins trois éléments :

1. *Les calculs* : il est bon d'effectuer ou de valider les calculs algébriques découlant du modèle et d'effectuer tous les calculs numériques nécessaires ;
2. *Les représentations graphiques* : les logiciels de calcul symbolique sont particulièrement aptes à effectuer ce genre de travail ;
3. *La simulation* : il est intéressant de reprendre la fonction décrivant le phénomène pour des valeurs différentes de paramètres inclus dans cette fonction.

I-3-2) Présentation des plans de Doehlert.

Les points d'expériences des plans proposés par David H. Doehlert en 1970 remplissent de manière uniforme l'espace expérimental. Pour deux facteurs les points expérimentaux sont situés aux sommets d'un hexagone régulier et il y a un point au centre (Figure 1.9). Ayant sept points expérimentaux, ce plan permet de calculer au moins sept inconnues, donc sept coefficients. Comme les points expérimentaux sont régulièrement répartis dans l'espace expérimental, il sera facile d'étendre le plan vers n'importe quelle direction de l'espace en ajoutant des points qui seront, eux aussi, régulièrement répartis.

Ces plans permettent également l'introduction facile de nouveaux facteurs. Les nouvelles expériences viendront compléter les premières et aucune expérience ne sera perdue. La seule précaution à prendre est de maintenir les facteurs non étudiés à une valeur constante (niveau 0) pendant l'étude des facteurs actifs. La disposition des points selon la figure 1.9 conduit à cinq niveaux pour le facteur 1 et trois niveaux pour le facteur 2. Avant d'attribuer les numéros aux facteurs, on vérifie qu'ils sont compatibles avec ces nombres de niveaux.

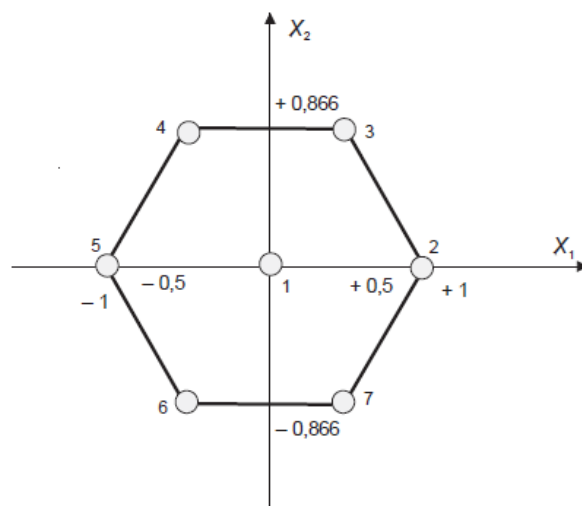


Figure 1.9 : Plan de Doehlert pour l'étude de deux facteurs. Les points sont régulièrement disposés sur un hexagone et il y a un point central.

Si l'on éprouve quelques difficultés, on peut toujours adopter un autre plan de Doehlert en faisant tourner l'hexagone. La figure 1.10 illustre une autre disposition du même plan après une rotation de 90° . C'est maintenant le facteur 1 qui a 3 niveaux et le facteur 2 qui en a 5.

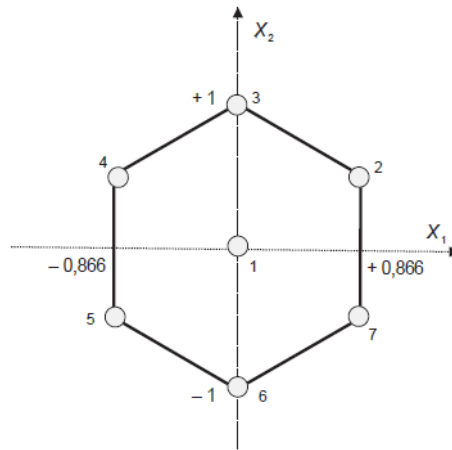


Figure 1.10 : Autre disposition possible des points d'un plan de Doehlert pour l'étude de deux facteurs. Les points sont toujours régulièrement disposés dans l'espace expérimental.

Tous les points du plan de Doehlert sont sur un cercle de rayon unité (en grandeurs centrées réduites). Le domaine défini par les plans de Doehlert est un domaine sphérique, un cercle dans un espace à deux dimensions, une sphère dans un espace à trois dimensions, une hypersphère dans un espace à plus de trois dimensions (Goupy and Creighton, 2006).

Si les résultats recherchés ne sont pas dans le domaine d'étude, on peut étendre ce domaine dans la direction où l'on a le plus de chances de trouver la solution souhaitée. Il suffit d'ajouter trois points d'expériences et l'on retrouve un nouveau plan de Doehlert (Figure 1.11). En effet, les points n° 2, 1, 7, 8, 9, 10 et 3 forment un nouvel hexagone. On peut étendre le plan d'expériences dans les autres directions.

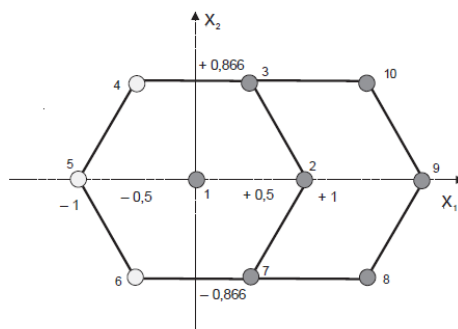


Figure 1.11 : Extension d'un plan de Doehlert à deux facteurs. Trois points suffisent pour retrouver un nouveau plan de Doehlert.

Les réseaux uniformes de Doehlert sont générés à partir d'un simplexe. Le simplexe régulier est un hyper polyèdre régulier de dimension k à k+1 sommets. Chaque simplexe est déductible du simplexe de dimension immédiatement inférieure (k-1) par addition du point de coordonnées. Pour les k points précédents, la colonne k de la nouvelle variable introduite sera remplie de zéros. Pour obtenir les réseaux, il faut soustraire successivement les coordonnées de chaque point à tous les autres. Le modèle postulé doit posséder certaines qualités à savoir :

Il doit être simple ;

Il doit permettre une démarche séquentielle ;

Il doit bien représenter la réponse expérimentale étudiée dans le domaine expérimental d'intérêt ;

Et, seulement dans le cas où la propriété précédente serait respectée, il doit permettre d'obtenir une estimation de la valeur de la réponse étudiée de qualité acceptable.

La validation du modèle quant à elle, est effectuée lorsque celui-ci permet de faire des prévisions sur n'importe quel point du domaine expérimental.

I-3-3) Types de modèles mathématiques dans le domaine brassicole.

Plusieurs essais ont été menés pour comprendre les processus qui se passent au cours de la mise sur pied d'une boisson à base de céréales. Des techniques plus ou moins complexes et variées ont permis d'avoir une idée sur les différentes étapes de fabrication.

I-3-3-1) Modèle pour la formation des sucres fermentescibles issue de l'hydrolyse de l'amidon pendant un brassage à haute température.

Pendant le process de brassage, l'activité amylasique diminue à cause des hautes températures nécessaires à la gélatinisation de l'amidon. Parce que chaque enzyme produit un sucre spécifique, on peut utiliser la température pour modifier la fermentescibilité du moût. Il a été développé un modèle mathématique pour quantifier la formation des sucres fermentescibles issus de l'hydrolyse de l'amidon pendant un brassage à haute température. Ainsi, l'expression : $Activité = ae^{bt} - ce^{dt}$ (a, b, c et d sont des constantes positives ; t est la température en °C) traduit une description simple, mais utile de l'activité enzymatique (Muller, 2000). Les insuffisances du modèle sont :

Qu'il ne s'adapte qu'à la production des bières à faible teneur en alcool ;

Il ne s'applique pas également au brassage avec température standard (douce) car, il ne peut pas dans ce cas permettre de prévoir la fermentescibilité du moût.

I-3-3-2) Modèle pour la prédiction de l'activité de la β -glucanase et de la concentration en β -glucane au cours du brassage.

Les β -glucanes sont des polymères de glucose liés en β -1,3 et β -1,4. Leur hydrolyse débute au cours du maltage. Le fait qu'ils rendent difficile le brassage a imposé de développer un modèle mathématique qui permet de suivre la quantité de β -glucanes restants et ceci, grâce à l'action de la β -glucanase. Ainsi les expressions mathématiques permettant de suivre le processus sont :

Dissolution et dénaturation de la β -glucanase (Kettunen *et al.*, 1996) :

$$\frac{db_g}{dt} = -H_b \frac{M}{V_g} (b_g - b_w) \quad [1.5]$$

$$\frac{db_w}{dt} = H_b \frac{M}{V_w} (b_g - b_w) - k_w(T) b_w \quad [1.6]$$

Dissolution et hydrolyse des β -glucanes (Kettunen *et al.*, 1996) :

$$\frac{dg_g}{dt} = -H_g \frac{M}{V_g} (g_g - s_g(T)) \quad [1.7]$$

$$\frac{dg_w}{dt} = H_g \frac{M}{V_w} (g_g - s_g(T)) - a_w(T) b_w g_w \quad [1.8]$$

Bien que ces modèles mathématiques permettent de suivre les β -glucanes dans la phase liquide de la maïsche, ils présentent néanmoins de nombreux problèmes dans la mesure où, ils sont difficiles à mettre en œuvre et, il faut procéder à plusieurs approximations pour les appliquer.

I-3-3-3) Modèles pour la prédiction de la concentration en sucres fermentescibles au cours du brassage.

Le brassage à partir du malt est un process important pour la fabrication des breuvages tels que les bières et les whiskys. Il a donc fallu mettre en place un modèle mathématique qui va permettre de prédire la concentration en sucres fermentescibles au cours du brassage. Ainsi, quinze relations mathématiques ont été établies pour suivre le phénomène (Koljonen *et al.*, 1995) à savoir :

Concentration des enzymes α et β actives :

$$\dot{\alpha}_g = -H_\alpha \frac{M}{V_g} (\alpha_g - \alpha) \quad [1.9]$$

$$\dot{\alpha} = H_\alpha \frac{M}{V} (\alpha_g - \alpha) - k_\alpha(T) \alpha \quad [1.10]$$

$$\dot{\beta}_g = -H_\beta \frac{M}{V_g} (\beta_g - \beta) \quad [1.11]$$

$$\dot{\beta} = H_\beta \frac{M}{V} (\beta_g - \beta) - k_\beta(T)\beta \quad [1.12]$$

Equations de masse de l'hydrolyse de l'amidon par les enzymes

$$\dot{x}_1 = -\alpha[x_1 - u(T)] \times [0,964A_{mtr}^g(T) + A_{dex}^g(T)] \quad [1.13]$$

$$\dot{x}_2 = -\alpha[x_1 - u(T)]A_{dex}^g(T) - \beta x_2 \left[0,9B_{gl}(T) + 0,947 \frac{B_{mal}(T)}{k_m + x_2} + B_{dex}(T) \right] \quad [1.14]$$

$$\dot{x}_3 = B_{gl}(T)\beta x_2 \quad [1.15]$$

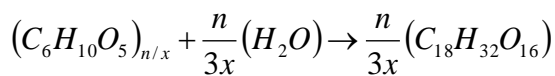
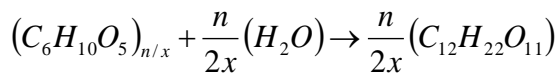
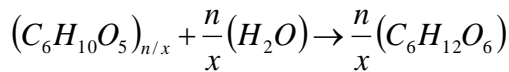
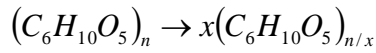
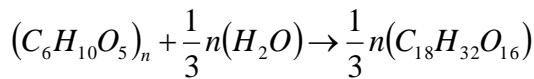
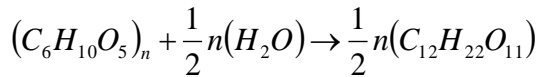
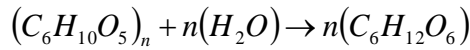
$$\dot{x}_4 = \frac{B_{mal}(T)\beta x_2}{k_m + x_2} \quad [1.16]$$

La quantité d'amidon non gélatinisé

$$u(T) = \begin{cases} x_1(0); T < T_u \\ \left(\frac{T}{T_u - T_g} + \frac{T_g}{T_g - T_u} \right) x_1(0); T_u \leq T \leq T_g \\ 0; T > T_g \end{cases} \quad [1.17]$$

I-3-3-4) Modèles cinétiques de l'hydrolyse enzymatique de l'amidon au cours du brassage.

Ces modèles cinétiques sont basés sur les réactions de dégradation de l'amidon et des dextrines, en glucose, maltose et maltotrioses. Par conséquent, il faut maîtriser les conditions initiales liées au malt (Brandam *et al.*, 2003). Les modèles sont :



Où x et n n'influencent la simulation que quand le système est traité avec la concentration massique. Les valeurs physiques cohérentes pour ces modèles donnent 12000 pour n et 1000 pour x.

Les équations proprement dites sont des équations différentielles et se présentent comme suit :

$$\frac{d[S_s]}{dt} = r_g \quad [1.18]$$

$$\frac{d[S_s]}{dt} = r_g - r_{gl} - r_{mal} - r_{mlt} - r_{dex} \quad [1.19]$$

$$\frac{d[D]}{dt} = r_{dex} - r'_{gl} - r'_{mal} - r'_{mlt} \quad [1.20]$$

$$\frac{d[gl]}{dt} = r_{gl} + r'_{gl} \quad [1.21]$$

$$\frac{d[mal]}{dt} = r_{mal} + r'_{mal} \quad [1.22]$$

$$\frac{d[mlt]}{dt} = r_{mlt} + r'_{mlt} \quad [1.23]$$

Bien que ces modèles décrivent le phénomène, il est assez compliqué à déterminer les paramètres qui sont nombreux.

I-3-3-5) Modèles de simulation de la multiplication des levures brassicoles.

La fermentation est un processus critique pour la fabrication de la bière. Ainsi, une nouvelle approche de modélisation sur le plan métabolique a été élaborée (Kurz *et al.*, 2002) :

$$\text{Consommation du substrat : } q_S = q_{S,\max} \frac{S}{S + K_S} \frac{K_{i,eth}}{K_{i,eth} + E} \frac{N}{N + K_N} f_{temp} L_t \quad [1.24]$$

Consommation d'oxygène :

$$q_{O_2,e,\lim} = q_{O_2,e,\max} \frac{O}{O + K_O} \frac{E}{K_E + E} \frac{N}{N + K_N} \frac{K_{i,eth,O}}{K_{i,eth,O} + E} \frac{K_S}{K_S + S} \quad [1.25]$$

I-3-3-6) Modèle pour prédire l'effet d'un programme de trempage sur la germination.

Il s'agit d'un modèle basé sur les données de laboratoire tenant compte de plusieurs programmes de trempage. Ce modèle dispose que l'intensité de germination est exponentielle (Holmberg *et al.*, 2002) :

$$\gamma^a(x, T, \omega) = e^{(a + a_x x + a_T T + a_\omega \omega + a_{x\omega} x \omega)} \quad [1.26]$$

CHAPITRE II : MODÉLISATION DE L'ACTION DES HYDROLASES SUR QUELQUES CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES MOÛTS DE *MADJERU*.

II-1) INTRODUCTION.

Le brassage de la bière consiste à macérer le malt moulu (habituellement un mélange de malts), les grains crus, parfois les sels appropriés et les enzymes supplémentaires, dans une quantité d'eau et à une température appropriée. Quelque fois, la maïsche peut être faite avec principalement, ou entièrement, des céréales non maltées mélangées aux enzymes brassicoles commerciales. Les réactions catalysées par les enzymes qui se produisent pendant le brassage sont plus complexes que celles normalement étudiées *in vitro* (Briggs *et al.*, 2004). C'est ainsi que, lors du brassage, un très grand nombre d'enzymes agissent simultanément sur les composants de la maïsche. Ainsi, les enzymes commerciales les plus intéressantes pour le brassage sont celles qui catalysent l'hydrolyse de l'amidon, des protéines et celles qui dégradent les hémicelluloses et les gommes (β -glucanes et pentosanes) (Briggs *et al.*, 2004). Les travaux antérieurs sur le cultivar *Madjeru* ont établi qu'il était le plus riche en amidon, mais présentait des insuffisances de synthèses enzymatiques. Cela se traduisait par une difficulté de filtration des maïsches (Nso *et al.*, 2003, Nso *et al.*, 2006). Ces problèmes ont été résolus par la complémentation en enzymes exogènes lors du brassage des cultivars *Madjeru*, *Safrari* et *S35* non maltés et, l'établissement des modèles mathématiques explicitant les phénomènes biochimiques liés, améliorant ainsi la filtrabilité des maïsches. En effet, l'utilisation de ces enzymes exogènes a permis d'obtenir des volumes de moûts comparables pour les trois cultivars (Desobgo *et al.*, 2010). Il ressort de cela que dans la littérature, seul l'aspect quantitatif du moût lors du brassage du cultivar *Madjeru* a fait l'objet d'une modélisation. La qualité d'une bière reposant plus sur la qualité que sur la quantité du moût, il est dès lors impératif de modéliser l'impact des enzymes brassicoles commerciales (aussi bien sur le cultivar *Madjeru* non malté que sur le cultivar *Madjeru* malté) sur les caractéristiques physicochimiques de ce cultivar.

Dans ce travail, les enzymes brassicoles commerciales retenues sont : une α -amylase (Hitempase 2XL), une β -glucanase (Bioglucanase TX) et une protéase (Brewers Protease). Ainsi, le pouvoir diastasique et les activités enzymatiques seront déterminés. Les caractéristiques brassicoles mesurées sont : l'extrait exprimé en degré Plato ($^{\circ}$ P) et en degré litre par kilogramme ($^{\circ}$ L/Kg), l'extrait à chaud (HWE), la teneur en sucres réducteurs (g/L), la

turbidité (NTU) et la teneur en acides aminés libres (mg/L). Celles qui ont fait l'objet d'une modélisation sont : l'extrait (°P), la teneur en sucres réducteurs (g/L), la turbidité (NTU) et la teneur en acides aminés libres (mg/L).

Dans cette partie du travail, on va vérifier si l'apport en enzymes commerciales brassicoles est indispensable et si une modélisation de cet apport permet d'obtenir des caractéristiques physico-chimiques des moûts de *Madjeru* non malté et malté comparables.

II-2) MATERIEL ET METHODES.

II-2-1) Matériel biologique

Le matériel végétal obtenu à l'IRAD (Institut de Recherche Agricole pour le Développement) centre de Maroua est constitué des grains du cultivar *Madjeru*, et de l'orge malté provenant de la Société Anonyme des Brasseries du Cameroun (SABC)



Figure 2.1 : Grain du sorgho du cultivar *Madjeru* et d'orge malté.

L'orge maltée a été fournie gracieusement par la Société Anonyme des Brasseries du Cameroun. Les caractéristiques des enzymes brassicoles commerciales utilisées sont consignées dans le Tableau 2.1.

Tableau 2.1 : Caractéristiques d'enzymes brassicoles commerciales utilisées.

Désignation	Origine	Activité	Description	Température optimale	pH optimal	Quantités recommandées	Forme
Hitempase 2XL	<i>Bacillus licheniformis</i>	4416,29 ± 19,34 U/ml	α-amylase	60-95 °C	4-8	60 U/g	Sol.
Bioglucanase TX	<i>Trichoderma reesei</i>	750 BGU/ml	β-glucanase	60 °C	4,5-6,5	0,01 et 0,025 % (v/m)	Sol.
Brewers Protease	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	1842,20 ± 1,8 mg AAL/min/ml	Protéase	40-50 °C (dénaturé à 85 °C)	6,5-7,5	0,4-2 g/Kg	Sol.

Sol. : Solution

Hitempase 2XL et Bioglucanase TX sont obtenues de Kerry Bioscience; Kilnagleary, Carrigaline, Co. Cork, Ireland. Tandis que, Brewers Protease est obtenue de DSM Food Specialities, Cedex France.

II-2-2) Méthodologie générale.

Le cultivar (*Madjeru*) provenant de l'IRAD de Maroua a été trié pour obtenir des échantillons homogènes et exempts de salissures visibles. Les grains issus de ce triage ont été soumis à des tests de viabilité que sont la capacité germinative, l'énergie germinative et la teneur en eau. D'autres tests importants tels que le poids de 1000 grains (qui prédit la potentialité en extrait), la teneur en protéines de ces grains ont été effectués également. Une partie des échantillons a subi un maltage. Quelques caractéristiques importantes de l'orge (céréale de référence) et des sorghos maltés ont été vérifiées, à savoir : la teneur en eau, le potentiel enzymatique (l'activité de l' α -amylase et de la carboxypeptidase), le pouvoir diastasique, la teneur en protéines, le poids de 1000 grains ainsi que l'extrait ($^{\circ}$ P et $^{\circ}$ L/Kg). Ensuite, ces cultivars maltés et non maltés ont été brassés en ajoutant des enzymes exogènes (Hitempase 2XL, Bioglucanase TX et Brewers Protease) suivant un plan d'expérience de Doehlert ($k = 3$). Les moûts issus de ces brassages ont subi des analyses physico-chimiques. Les caractéristiques telles que l'extrait ($^{\circ}$ P), la turbidité (NTU), les sucres réducteurs (g/L) et les acides aminés libres (mg/L) ont fait l'objet d'une modélisation et d'une optimisation.

II-2-3) Détermination de la teneur en eau des grains, de la capacité germinative, de l'énergie germinative et du poids de 1000 grains.

II-2-3-1) Détermination de la teneur en eau

La détermination de la teneur en eau des céréales est obtenue par perte de masse au cours du séchage sous conditions standards (Analytica-EBC, 1998).

Les échantillons (sorghos non maltés et maltés) ont été broyés à l'aide d'un broyeur à marteaux de marque Polymix PX-MFC 90D (VWR International S.A.S. Le Périgas 201, rue Carnot, 94126 Fontenay-sous-Bois cedex, France). Ensuite, 25 g de chaque farine ont été séchés à l'étuve de marque Heraeus D-63450 (Kendro laboratory product, Hanau, Germany) pendant 2 h entre 130 et 133 $^{\circ}$ C.

L'humidité résiduelle exprimée en pourcentage a été calculée selon la formule suivante :

$$H = \frac{M_0 - M_1}{M_0} \times 100 \quad [2.1]$$

H : teneur en eau % (m/m)

M₀ : masse avant passage à l'étuve.

M₁ : masse après passage à l'étuve.

II-2-3-2) Détermination de la capacité germinative

La détermination du pourcentage de grains viables dans un échantillon est obtenue en utilisant le peroxyde d'hydrogène comme catalyseur de croissance (Analytica-EBC, 1998).

Le trempage de deux lots de 200 grains a été effectué à température ambiante (22-25 °C), dans une solution de peroxyde d'hydrogène de concentration 7,5 g/L pendant 2 jours. Par la suite, la solution épuisée a été remplacée par une solution fraîche, puis le trempage a été effectué pendant deux jours supplémentaires. À la fin de ce trempage, la solution a été versée et on a procédé au décompte des grains qui ont germé.

La capacité germinative exprimée en pourcentage a été calculée suivant la formule :

$$CG = \frac{200 - N_{ng}}{2} \quad [2.2]$$

CG : Capacité germinative (%)

N_{ng} : Nombre de grains qui n'ont pas germé.

II-2-3-3) Détermination de l'énergie germinative (méthode BRF)

La détermination du pourcentage de grains susceptibles de totalement germer si, l'échantillon est normalement malté (Analytica-EBC, 1998).

Deux papiers filtre ont été placés chacun au fond de deux boîtes de pétri. Ensuite, 4 ml et 8 ml d'eau distillée ont été ajoutées respectivement dans chaque boîte. Deux lots de 100 grains chacun ont été placés dans chaque boîte de pétri. Celles-ci ont été couvertes et placées dans un emballage à l'abri de la lumière. Les grains ont été incubés pendant 24, 48 et 72 h. Les grains qui ont germé ont été par la suite comptés. L'énergie germinative a été calculée à l'aide de l'expression :

$$EG = 100 - N_{ng} \quad [2.3]$$

EG : Énergie germinative (%) ;

N_{ng} : Nombre de grains qui n'ont pas germé.

II-2-3-4) Détermination du poids de 1000 grains

La détermination de la masse moyenne d'un grain est prise comme paramètre qualitatif au cours du brassage (Analytica-EBC, 1998).

Deux lots de 40 g de sorgho chacun ont été pesés et débarrassés des poussières et matières étrangères. Puis, chaque lot de grains a été recompté et pesé. Le poids de 1000 grains a été évalué par l'expression :

$$P_m = \frac{1000M(100 - H)}{100N_g} \quad [2.4]$$

P_m : Poids (g) de 1000 grains secs.

M : Masse (g) du lot pesé après le décompte des grains

H : Teneur en eau des grains (%),

N_g : Nombre de grains comptés dans le lot.

II-2-4) Procédure expérimentale de maltage du sorgho.

Un kilogramme de grains du cultivar de sorgho a été lavé trois fois utilisant 3 litres d'eau distillée. Ceci, afin d'enlever les poussières et les corps étrangers. Les grains ont été également trempés dans 3 litres d'eau distillée pour 48 h à la température ambiante ($\approx 25^\circ\text{C}$) avec 3 changements d'eau à intervalles de 12 h. La germination a été effectuée pendant 4 jours à l'étuve de marque Heraeus D-63450 (Kendro laboratory product, Hanau, Germany) à une température de 25°C , avec arrosage des grains toutes les 6 h. Le malt a été alors séché à 40°C pendant 4 jours, en utilisant le séchoir CKA 2000 AUF. Le sorgho malté par la suite a été débarrassé des radicules puis conservé.

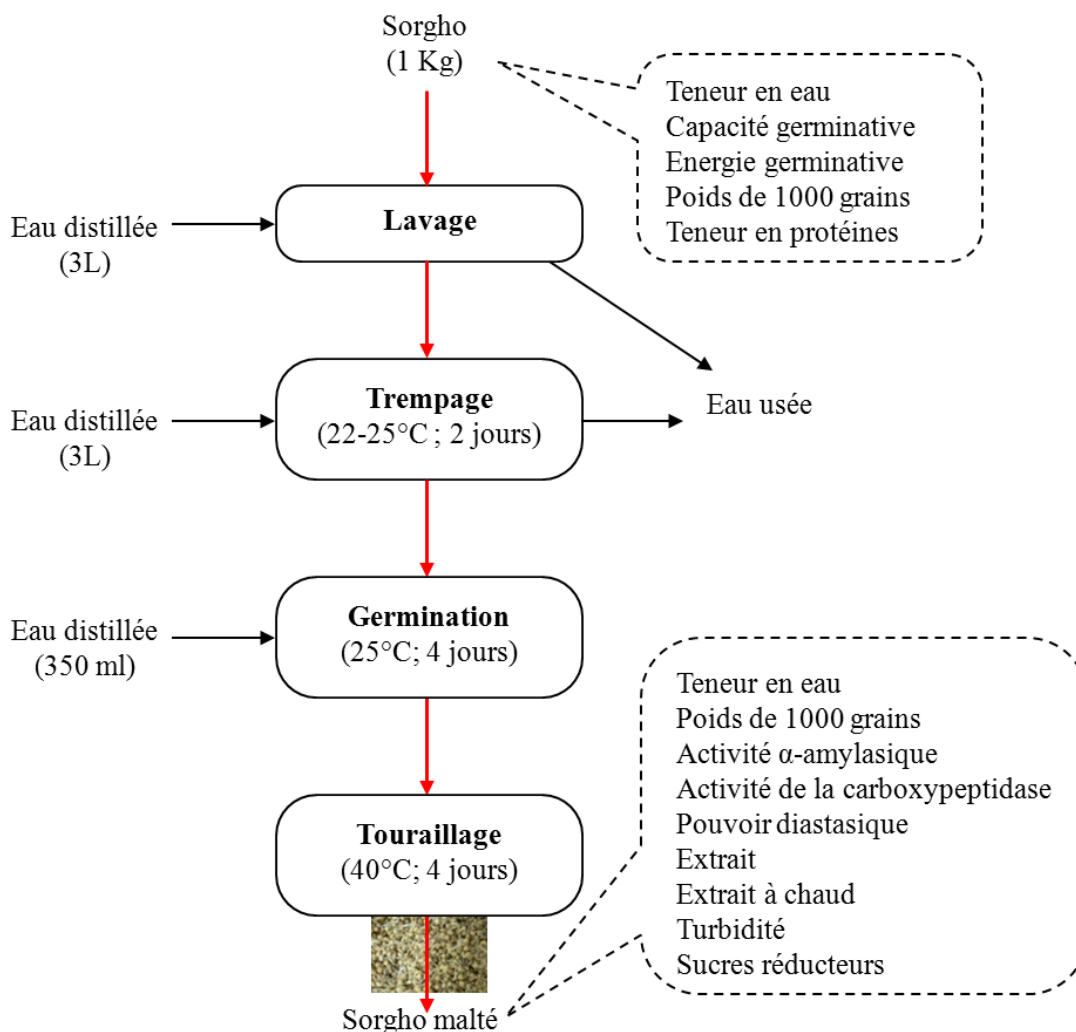


Figure 2.2 : Schéma du processus de maltage des cultivars de sorgho.

II-2-5) Détermination de la teneur en protéines, du pouvoir diastasique, de l'activité de la carboxypeptidase et de l'activité l' α -amylase.

II-2-5-1) Détermination de la teneur en protéines

Dans un produit biologique, l'azote peut se trouver sous forme minérale et/ou organique (protéines, phospho-amino-lipides...) ; pour le doser dans sa totalité, il faut détruire les composés organiques de manière à obtenir tout l'azote sous une même forme minérale. On effectue pour cela une minéralisation. L'azote est ensuite dosé par dosage acido-basique. La détermination de cette teneur en azote total est faite par la méthode Kjeldahl et selon une méthode normalisée (Analytica-EBC, 1998).

Les sorghos non maltés et maltés ont été moulus (passage au tamis, $\varnothing \leq 1$ mm) avec le broyeur Polymix PX-MFC 90D (VWR International S.A.S. Le Périgès 201, rue Carnot, 94126 Fontenay-sous-Bois cedex, France). Cette farine (1 g) a été placée dans un flacon

Kjeldahl puis, 1 g de catalyseur (sulfate de potassium, dioxyde de titane et sulfate de cuivre penta hydraté) a été ajouté et le tout mélangé. Par la suite, 20 ml d'acide sulfurique concentré (98 %) ont été ajoutés en remuant délicatement. La digestion a été menée jusqu'à ce que la couleur brune disparaisse complètement. La solution digérée a été diluée avec 250 ml d'eau distillée et la poudre de zinc a été ajoutée, suivie de soude (70 ml) avec soin jusqu'à formation de deux phases. Le condenseur a été adapté au ballon et, le tube placé de manière à ce que son orifice trempe dans l'acide borique. Le flacon Kjeldahl a été ensuite chauffé et l'ammoniac a été distillé dans un excès d'acide borique (20 ml d'une solution à 25 g/L) contenant 0,5 ml de phénolphthaléine. Le distillat (180 ml) a été prélevé et l'ammoniac a été titré à l'aide d'acide chlorhydrique 0,1 mol/L. Le blanc a été préparé en utilisant 1 g de saccharose à la place du substrat. La teneur en azote total des céréales a été évaluée au moyen de l'expression :

$$N_T = \frac{14V}{(100 - H)M} \quad [2.5]$$

N_T = Teneur en azote total %

V = Volume (ml) d'acide chlorhydrique nécessaire pour la neutralisation de l'ammoniac après soustraction de la valeur du blanc.

M = Masse (g) de l'échantillon

H = Teneur en eau de l'échantillon % (m/m)

La teneur en protéine exprimée en pourcentage a été calculée suivant la formule :

$$P = 6,25N_T \quad [2.6]$$

P = teneur en protéines exprimée en pourcentage

Le facteur conventionnel de 6,25 est utilisé car, l'azote des céréales représente environ 16% en masse de protéines. Soit : $\frac{100}{16} = 6,25$.

II-2-5-2) Détermination du pouvoir diastasique

Il s'agit de la détermination de l'activité combinée de α - et β -amylase des malts sous des conditions de réactions normalisées (Analytica-EBC, 1998).

Les malts d'orge et de sorghos ont été broyés (passage au tamis, $\emptyset \leq 1$ mm) à l'aide du broyeur Polymix PX-MFC 90D (VWR International S.A.S. Le Périgas 201, rue Carnot, 94126 Fontenay-sous-Bois cedex, France) pour obtenir des farines. L'enzyme a été extraite en mélangeant 10 g de chacune de ces farines à 480 ml d'eau distillée (40 °C) dans un bain-marie à 40 °C pendant 1 h. Le mélange a été ajusté à 510 g avec de l'eau distillée et ensuite filtré.

Cent millilitres d'une solution d'amidon (20 g/L) ont été versés dans un bécher en verre de 200 ml puis, 5 ml de tampon acétate ont été ajoutés et le tout a été porté à 25 °C pendant 20 min. Ensuite, 5 ml d'extrait enzymatique (provenant des différentes farines maltées) ont été mélangés à l'amidon et, placé à 25°C pendant 30 min. Après, 4 ml de soude (1 mol/L) ont été ajoutés pour inactiver les enzymes. Le mélange a été ensuite ajusté à 200 ml avec de l'eau distillée. Une solution de thymolphthaléine a été ajoutée au mélange pour l'obtention d'une couleur bleue.

Cent millilitres d'une solution d'amidon (20 g/L) ont été versés dans un bécher en verre de 200 ml puis 2,35 ml de soude (1 mol/L) ont été ajoutés ensuite, 5 ml d'extrait de malt ont été mélangés à l'amidon. Le tout a été ajusté à 200 ml et mixé. Une solution de thymolphthaléine a été ajoutée au mélange pour l'obtention d'une couleur bleue.

Cinquante millilitres d'extrait (Test et blanc) ont été prélevés et placés chacun dans un erlenmeyer de 150 ml. 25 ml d'une solution d'iode et 3 ml de soude ont été ajoutés dans chaque flacon erlenmeyer et le tout mélangé. Les flacons erlenmeyers ont été ensuite bouchés pour éviter les pertes en iode et laissés au repos pendant 15 min. Après ces 15 min, 4,5 ml d'acide sulfurique (0,5 mol/L) ont été ajoutés et, l'iode qui n'a pas réagi a été titré avec une solution de thiosulfate (0,1N) jusqu'à disparition de la couleur bleue.

Le pouvoir diastasique a été évalué au moyen de l'expression :

$$DP_1 = F(V_B - V_T) \quad [2.7]$$

$$DP_2 = \frac{100DP_1}{100 - H} \quad [2.8]$$

Avec :

DP_1 = Pouvoir diastasique (WKU) sur l'échantillon.

DP_2 = Pouvoir diastasique (WKU) sur le malt.

V_B = Volume (ml) obtenu lors de la titration de l'iode qui n'a pas réagi sur le blanc.

V_T = Volume (ml) obtenu lors de la titration de l'iode qui n'a pas réagi sur le test.

F = Facteur de correction pour obtenir un résultat par 100 g. $F_{10g} = 68,4$

H = Teneur en eau (% m/m) du malt.

II-2-5-3) Activité de la carboxypeptidase

Les enzymes ont été extraites (Evans and Taylor, 1990a) avec quelques modifications (Ezeogu and Okolo, 1995).

Après broyage des malts (sorgho et orge) avec le broyeur Polymix PX-MFC 90D (VWR International S.A.S. Le Périgas 201, rue Carnot, 94126 Fontenay-sous-Bois cedex, France), les carboxypeptidases de chaque malt ont été extraites séparément en introduisant 1 g

de farine dans 15 ml d'une solution tampon de citrate-phosphate 0,1 mol/L, pH 7, contenant 2 mmol/L de 2-mercaptoethanol ou de 0,2 % Cystéine-HCl (m/v), et agité pendant 2 h à 30 °C à l'aide d'un agitateur magnétique de marque Bibby HB502 (Bibby Sterilin LTD, Stone Staffordshire ST15 OSA, England). Ensuite, l'ensemble a été centrifugé à 4000 g pendant 30 min et le surnageant utilisé pour déterminer l'activité de la carboxypeptidase.

La BSA a été utilisée comme substrat, dont 5 mg a été mélangée avec 1 ml de chaque extrait d'enzymes et 2 ml de tampon pH 4,6 dans chacun des tubes tandis que 1 ml d'acide trichloracétique de 15 % (m/v) a été ajouté au tube témoin avant l'introduction des enzymes. Les échantillons ont été incubés dans un bain-marie à 50 °C pendant 3 h et, agités toutes les 15 min tandis que les échantillons témoins étaient placés dans un réfrigérateur pour la même période. À la fin de l'incubation de 3 h, 1 ml d'acide trichloracétique de 15 % (m/v) a été ajouté aux échantillons pour arrêter la réaction. Ensuite, les tubes ont été centrifugés à 4000 g pendant 30 min dans une centrifugeuse Biofuge primo R de marque Heraeus D-37520 (Heraeus, Osterode, Germany). Le surnageant obtenu a été analysé pour la teneur en acides aminés suivant une méthode normalisée (Analytica-EBC, 1998). L'activité de carboxypeptidase a été calculée comme la différence entre les teneurs en acides aminés libres des échantillons d'avec le témoin.

Les activités de la carboxypeptidase des malts [Activité (M)] et de la Brewers Protase [Activité (E)] ont été exprimées par les relations :

$$\text{Activité (M)} = \frac{M_{AAL}}{t \times M_m} \quad [2.9]$$

$$\text{Activité (E)} = \frac{M_{AAL}}{t \times V_e} \quad [2.10]$$

Avec :

M_{AAL} : Masse (mg) d'acides aminés libres obtenue.

t : Temps (min) de la réaction.

M_m : Masse (g) de malt.

V_e : Volume (μ L) d'enzyme (Brewers Protease).

Activité (M) : Activité ($\text{mg AAL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$) de la carboxypeptidase du malt.

Activité (E) : Activité ($\text{mg AAL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \mu\text{L}^{-1}$) de la carboxypeptidase de la protéase commerciale (produit liquide).

II-2-5-4) Détermination de l'activité de l' α -amylase

L'essai de l'activité α -amylasique a été effectué en utilisant la méthode à l'acide dinitrosalicylique (DNS) (Bernfeld, 1955), en utilisant 1 % d'amidon soluble (Merck, product

number 1257, Darmstadt, Germany) comme substrat. Dix microlitres d'enzyme ont été incubés pendant 30 min à 35 °C dans 500 µl de tampon universel et 40 µl d'amidon soluble. La réaction a été arrêtée par l'addition 100 µl de DNS et au chauffage dans l'eau bouillante pendant 10 min ceci, après 3 min de réaction. Après refroidissement, l'absorbance à 540 nm a été lue au spectrophotomètre Jenway 6405 UV/Visible (Jenway Ltd Felsted, Dunmow, Essex CM6 3LB, UK). Une unité d'activité α -amylasique a été définie comme la quantité d'enzyme exigée pour produire 1 mg de maltose en 1 min à 35 °C. Une courbe d'étalonnage de la quantité de maltose libérée a été établie pour permettre le calcul de la quantité de maltose libérée pendant les tests de l' α -amylase. Des dilutions périodiques du maltose (Merck, produit numéro 105911, M. 360.32 mg mol⁻¹) dans le tampon universel à pH 6,5 ont été faites pour donner après la gamme des concentrations de 2 ; 1 ; 0,5 ; 0,25 ; 0,125 mg/ml.

Un blanc sans substrat, mais avec l'extrait de l' α -amylase et un contrôle ne contenant aucun extrait de α -amylase mais avec le substrat ont été réalisés simultanément avec le mélange de la réaction. Les activités ont été évaluées à l'aide des expressions :

$$\text{Activité (malt)} = \frac{\text{Quantité de maltose } (\mu\text{mol})}{\text{temps (min)} \times \text{masse de malt (g)}} \quad [2.11]$$

$$\text{Activité (Hitempase)} = \frac{\text{Quantité de maltose } (\mu\text{mol})}{\text{temps (min)} \times \text{volume d' Hitempase (ml)}} \quad [2.12]$$

Les résultats ont été exprimés en U/g (pour les activités des sorghos maltés) et en U/ml (pour l'activité de Hitempase).

II-2-6) Modélisation.

II-2-6-1) Etablissement des modèles mathématiques

Les facteurs exploités ont été ceux qui ont facilité le processus de brassage et de filtration. Les facteurs retenus ont été les enzymes : Hitempase 2XL (X₁), Bioglucanase TX (X₂) et Brewers Protease (X₃). Le plan d'expérience de Doehlert à 3 facteurs a été utilisé pour l'exécution des manipulations. Les facteurs retenus ont conduit à la construction d'une matrice d'expérience (W). Ces facteurs ont été retenus à cause de leur importance sur le plan biochimique. En effet, Hitempase 2XL (α -amylase) a pour substrat spécifique l'amidon, et l'hydrolyse de celui-ci permettrait une liquéfaction de la maïsche. Bioglucanase TX (β -glucanase) permettrait par son action sur les β -glucanes, une baisse globale de la viscosité de la maïsche et par ricochet une filtration facilitée. La Brewers Protease (Protéase) permettrait par son action sur les protéines des grains, de libérer les granules d'amidon et, de produire les acides aminés qui, s'avèreraient importants au cours de la fermentation des moûts.

Les réponses qui ont été retenues après 90 min de filtration ont permis une comparaison avec le moût de référence (orge maltée). Ces réponses ont été : l'extrait (°P), la turbidité (NTU), la teneur en sucres réducteurs (g/L) et la teneur en acides aminés libres (mg/L).

Une opération de transformation des variables codées en variables réelles (matrice W_r) a été effectuée pour des besoins de manipulations. Cette opération a permis de rendre comparables les effets des variables réelles, qui ne sont pas forcement exprimés dans les mêmes unités. La transformation la plus utilisée (Mathieu *et al.*, 1977, Desobgo *et al.*, 2010) a été :

$$x_j = \frac{U_j - U_j^0}{\Delta U_j} \quad [2.13]$$

Avec :

x_j = valeur de la variable codée j

U_j = valeur de la variable naturelle j

U_j^0 = valeur de la variable naturelle j au centre du domaine.

ΔU_j est appelé « pas » de variation.

Et ;

$$U_j^0 = \frac{U_j^{\max} + U_j^{\min}}{2} \quad [2.14]$$

U_j^{\max} = valeur maximale de la variable naturelle j.

U_j^{\min} = valeur minimale de la variable naturelle j.

Après le choix de la conception du plan d'expérience (celui de Doehlert pour ce qui nous concerne), l'équation modèle a été définie et des coefficients de l'équation modèle ont été prévus. Le modèle utilisé dans la méthode des surfaces de réponses a été généralement une pleine équation quadratique ou la forme diminuée de cette équation. Le modèle du second degré a pu être écrit (Mathieu *et al.*, 1977, Giovanni, 1983) comme suit :

$$y = \beta_0 + \sum_{j=1}^k \beta_j x_j + \sum_{j=1}^k \beta_{jj} x_j^2 + \sum \sum_{i < j} \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \quad [2.15]$$

Avec β_0 : la constante, ε : l'erreur et les β_j , β_{jj} et β_{ij} ont été les coefficients du modèle.

L'expression matricielle du modèle a été donnée par l'équation :

$$y = W\beta + \varepsilon \quad [2.16]$$

Cela a été traduit par :

$$\begin{bmatrix} y_1 \\ y_2 \\ \vdots \\ y_n \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & x_{11} & x_{12} & \cdots & x_{1k} \\ 1 & x_{21} & x_{22} & \cdots & x_{2k} \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 1 & x_{n1} & x_{n2} & \cdots & x_{nk} \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} \beta_0 \\ \beta_1 \\ \vdots \\ \beta_k \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} \varepsilon_0 \\ \varepsilon_1 \\ \vdots \\ \varepsilon_k \end{bmatrix}$$

Le système d'équations donné ci-dessus a été résolu suivant la méthode des moindres carrés. La Méthode des Moindres Carrés (MMC) est une technique de régression multiple et cette méthode peut être récapitulée comme suit pour notre cas :

Dans la MMC, on a supposé que des erreurs aléatoires sont identiquement distribuées avec des zéros moyens et une variance inconnue commune et, elles sont indépendantes l'une de l'autre.

La différence entre la valeur obtenue et la valeur adaptée (\hat{y}) pour la $i^{\text{ème}}$ observation a été donnée par :

$$\varepsilon_i = y_i - \hat{y}_i \quad [2.17]$$

ε est le résidu (erreur) et a été une évaluation du ε_i correspondant. Ce résidu prend en compte dans un premier temps un manque d'ajustement qui traduit le décalage possible du modèle polynomial d'avec le modèle réel et, dans un second temps les erreurs expérimentales qui sont liées à la nature aléatoire de la réponse (Goupy and Creighton, 2006).

Le critère pour choisir les évaluations des β_j a été qu'elles devraient réduire au minimum la somme des résidus au carré, qui s'appelle souvent la somme des erreurs au carré et, a été notée SSE. Ainsi :

$$SSE = \sum_{i=1}^n \varepsilon_i^2 = \sum \left(y_i - \hat{y}_i \right)^2 \quad [2.18]$$

Les résidus ont été évalués suivant l'équation :

$$\varepsilon = y - W\beta \quad [2.19]$$

Et, SSE a eu pour expression :

$$SSE = \varepsilon^T \varepsilon = (y - W\beta)^T (y - W\beta) \quad [2.20]$$

Différenciant le SSE en fonction de β , on a obtenu un vecteur des dérivées partielles comme suit :

$$\frac{\partial}{\partial \beta} (SSE) = -2W^T (y - W\beta) \quad [2.21]$$

$$\text{En posant cette dérivée égale à 0, on a eu : } y = W\beta \quad [2.22]$$

Ce système d'équations a pu être résolu directement pour obtenir les coefficients de β par :

$$W^T W \beta = W^T y \quad [2.23]$$

La solution formelle de ces équations a été alors :

$$\beta = (W^T W)^{-1} W^T y = C M^T y \quad [2.24]$$

Avec :

$$C = (W^T W)^{-1} \quad [2.25]$$

Avec C, la matrice carrée.

Les équations [2.13] et [2.14] ont permis de déterminer pour chaque j, la valeur de la variable naturelle au centre du domaine. Ensuite, l'équation [2.13] a permis de déterminer pour chaque j, le pas de variation ΔU_j . Le plan de Doehlert permet un ajout de combinaison dans le domaine sans perturber les caractéristiques de la matrice d'expérience (Goupy and Creighton, 2006). Ainsi, il a été ajoutée une combinaison permettant de manipuler sans ajout d'enzymes industrielles, c'est-à-dire à la combinaison (-1 ; - 0,866 ; - 0,816).

Les matrices de variables réelles (W_r) ont été ainsi obtenues utilisant chaque x_j correspondant à la matrice de variables codées (W). Elles sont présentées comme suit :

$$W = \begin{bmatrix} +0,000 & +0,000 & +0,000 \\ +1,000 & +0,000 & +0,000 \\ +0,500 & +0,866 & +0,000 \\ -0,500 & -0,866 & +0,000 \\ +0,500 & -0,866 & +0,000 \\ -0,500 & +0,866 & +0,000 \\ +0,500 & +0,289 & +0,816 \\ -0,500 & -0,289 & -0,816 \\ +0,500 & -0,289 & -0,816 \\ +0,000 & +0,577 & -0,816 \\ -0,500 & +0,289 & +0,816 \\ +0,000 & -0,577 & +0,816 \\ +0,000 & +0,000 & +0,000 \\ -1,000 & +0,000 & +0,000 \\ -1,000 & -0,866 & -0,816 \\ +0,000 & +0,000 & +0,000 \\ +0,000 & +0,000 & +0,000 \end{bmatrix} \quad W_r = \begin{bmatrix} X_1 & X_2 & X_3 \\ (U) & (BGU) & (mg) \\ 1500 & 468,75 & 50 \\ 3000 & 468,75 & 50 \\ 2250 & 937,5 & 50 \\ 750 & 0 & 50 \\ 2250 & 0 & 50 \\ 750 & 937,5 & 50 \\ 2250 & 615,18 & 100 \\ 750 & 312,32 & 0 \\ 2250 & 312,32 & 0 \\ 1500 & 781,07 & 0 \\ 750 & 615,18 & 100 \\ 1500 & 156,43 & 100 \\ 1500 & 468,75 & 50 \\ 0 & 468,75 & 50 \\ 0 & 0 & 0 \\ 1500 & 468,75 & 50 \\ 1500 & 468,75 & 50 \end{bmatrix}$$

Les valeurs des coefficients ont donné la forme définitive de l'équation du modèle. Les opérations matricielles pour évaluer le vecteur β ont été effectuées grâce au logiciel

Systat[®] version 12 (Systat Software, Inc., San Jose, USA). Les graphes quant à eux ont été tracés grâce au logiciel Sigmaplot[®] version 11 build 11.0.0.77 (wpcubed, GmbH, Germany).

Le plan d'expérience de Doehlert à 3 facteurs qui a été utilisé pour les brassages des cultivars sorgho, a été constitué des facteurs qui ont été les enzymes suivantes : Hitempase 2XL [0-3000 U], et Bioglucanase TX [0-937,5 BGU] (BGU : unité β -glucanase) et Brewers Protéase [0-100 mg]. Concernant Hitempase, suite au brassage de 50 g de farine, le choix de [0-3000 U] a tenu compte des consignes qui fixent l'utilisation à 60 U/g de farine (Goode *et al.*, 2002). Pour la protéase, l'intervalle [0-100 mg] a été choisi en tenant compte de la littérature (Desobgo *et al.*, 2010). Pour la Bioglucanase, on a retenu l'intervalle [0-937,5 BGU] compte tenu de la faible teneur en β -glucanes du sorgho et, compte tenu de la dose recommandée qui est située entre 0,01 et 0,025 % (v/m). Son activité β -glucanasique est de 750 BGU/ml. Toutes les manipulations ont été répétées 3 fois. La matrice W de variables codées a été transformée en matrice W_r de variables réelles pour des besoins de plan d'expérimentation.

Il est à noter que, le choix du modèle définitif (maintien ou retrait des facteurs non significatifs) est laissé à l'appréciation de l'expérimentateur qui, lui, connaît les enjeux et les risques de l'étude (Goupy and Creighton, 2006).

II-2-6-2) Validation des modèles mathématiques.

La qualité de l'ajustement des équations du second degré a été exprimée par le coefficient de détermination R^2 . Les modèles ont été validés suivant deux méthodes. La première méthode était l'Analyse Absolue de Déviation Moyenne (AADM) (Baş and Boyac, 2007), alors que la deuxième méthode consistait en l'application du facteur polarisé et du facteur d'exactitude (Ross, 1996).

- Méthode 1 :

La représentativité du modèle est passée par une analyse statistique dont le but a été de donner une légitimité scientifique au modèle obtenu. Après que les coefficients de régression aient été obtenus, la réponse prévue a pu être facilement calculée en utilisant l'équation du modèle. Habituellement le comportement du système est inconnu ainsi, on a dû vérifier si les modèles s'ajustent bien aux données expérimentales. Pour la vérification de l'adéquation du modèle, plusieurs techniques sont effectuées. Certaines de ces techniques ont été l'analyse résiduelle mesurant des résidus, la somme d'erreur de prévision des résidus, et l'essai du manque d'ajustement. Les possibilités prédictives globales du modèle ont été généralement expliquées par le coefficient de détermination (R^2). D'une part, on n'a pas oublié que le coefficient de détermination (R^2), seul, n'est pas une mesure de l'exactitude du modèle. C'est

une mesure de la quantité réduction de la variabilité de réponse obtenue en employant les variables de régresseur dans le modèle. Cependant, une valeur élevée de R^2 n'a pas nécessairement impliqué que le modèle de régression est bon. Ajouter une variable supplémentaire au modèle augmentera toujours R^2 , indépendamment du fait que la variable additionnelle soit statistiquement significative ou pas. Ainsi, il est possible aux modèles qui ont de grandes valeurs de R^2 , d'apporter des prévisions médiocres à de nouvelles observations ou des évaluations de la réponse moyenne (Myers and Montgomery, 1995). Si on trace des résultats expérimentaux contre les résultats des modèles, on devrait obtenir une ligne droite passant l'origine avec l'angle de 45° . Mais dans certains cas on pourrait obtenir une telle ligne avec $[y = ax + b]$. On a pu éliminer ces types d'erreurs en employant l'analyse absolue de déviation moyenne (AADM), qui est une méthode directe pour décrire les déviations.

Le coefficient de détermination R^2 et L'AADM ont été calculés grâce aux équations suivantes :

$$R^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (y_{i,cal} - \bar{y})^2}{\sum_{i=1}^n (y_{i,exp} - \bar{y})^2} \quad [2.26]$$

$$AADM = \frac{\left[\sum_{i=1}^n \left(\frac{|y_{i,exp} - y_{i,cal}|}{y_{i,exp}} \right) \right]}{n} \quad [2.27]$$

Où $y_{i,exp}$ et $y_{i,cal}$ ont été respectivement les réponses expérimentales et calculées, n est le nombre d'expériences effectuées et \bar{y} a été la moyenne des réponses expérimentales.

L'évaluation de R^2 et des valeurs du AADM ensemble, devrait être meilleure pour vérifier l'exactitude du modèle. R^2 doit être proche de 1 et l'AADM entre les données prévues et observées doit être aussi petit que possible (Baş and Boyac, 2007). Les valeurs acceptables de R^2 et les valeurs l'AADM signifient que l'équation modèle définit le comportement vrai du système et elle peut être employée pour l'interpolation dans le domaine expérimental. On doit faire attention au sujet de l'extrapolation au-delà de la région contenant les observations originales. Il est tout à fait possible qu'un modèle qui s'adapte bien dans la région des données originales ne s'adapte plus à l'extérieur.

- Méthode 2 :

La validation du modèle a été mesurée en comparant les valeurs théoriques et observées. Les équations suivantes (Ross, 1996) ont été données pour le facteur polarisé, B_f , et le facteur polarisé d'exactitude, A_{f1} :

$$B_f = 10^{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \log \left(\frac{y_{i,cal}}{y_{i,exp}} \right)} \quad [2.28]$$

$$A_{f1} = 10^{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \left| \log \left(\frac{y_{i,cal}}{y_{i,exp}} \right) \right|} \quad [2.29]$$

Le modèle prédictif parfait conduit à : $A_{f1} = B_f = 1$.

Le modèle prédictif acceptable est défini tel que : $0,75 < B_f$ ou $A_{f1} < 1,25$ (Dalgaard and Jorgensen, 1998).

II-2-7) Procédure expérimentale du brassage.

L'hydrolyse notamment de l'amidon, des protéines et autres constituants est effectuée par le biais d'enzymes (endogènes et commerciales). La maïsche est filtrée pour recueillir le moût.

a) Brassage de l'orge malté (Figure 2.3).

L'orge malté a été moulu (passage au tamis, $\varnothing \leq 1$ mm) avec le broyeur Polymix PX-MFC 90D (VWR International S.A.S. Le Périgas 201, rue Carnot, 94126 Fontenay-sous-Bois cedex, France) et, 50 g de farine ont été pesés et placés dans un bécher en verre de 600 ml. On a ajouté 250 ml d'eau distillée à 45 °C et, le milieu a été agité pour éviter la formation des floccs. L'ensemble a été ensuite placé dans un bain Marie à 45 °C (bain-marie de marque Memmert). La température a été ainsi maintenue pendant 1 h. La maïsche a été portée à 65 °C et le brassage a été poursuivi à cette température pendant 1 h 30 min. La maïsche a été ensuite refroidie à 25 °C et la filtration opérée pendant 1 h 30 min l'aide du papier filtre Whatman n°42 (GE Healthcare Whatman, Fisher Scientific, France).

b) Brassage du sorgho non malté et malté (Figure 2.4).

Deux cent cinquante millilitres d'eau distillée ont été mis dans un bécher de 600 ml, et 50 g de farine (maltée ou non maltée) de sorgho (passage au tamis, $\varnothing \leq 1$ mm) ont été ajoutés avec homogénéisation continue jusqu'à ce qu'un mélange homogène ait été obtenu. Ce mélange a été incubé à 45 °C pendant 1 h sur un bain d'eau (bain-marie de marque Memmert) avec agitation intermittente à intervalles de 5 min. On a permis au mélange de décanter, et 50 ml du surnageant ont été retirés et gardés de côté. La maïsche a été alors portée à l'ébullition

afin de gélatiser l'amidon de sorgho pendant 40 min avec agitation intermittente à intervalles de 5 min avant le refroidissement à 65 °C. Les enzymes commerciales ont été ajoutées aux 50 ml de surnageant selon la conception de matrice de Doehlert de 3 facteurs. Ce mélange a été reversé dans la maïsche puis, le brassage a suivi pendant de 1 h 30 min à 65 °C avec agitation intermittente à intervalles de 10 min. La maïsche a été filtrée pendant 1 h 30 min après refroidissement à 25 °C, en utilisant le papier Whatman N°42 (GE Healthcare Whatman, Fisher Scientific, France).

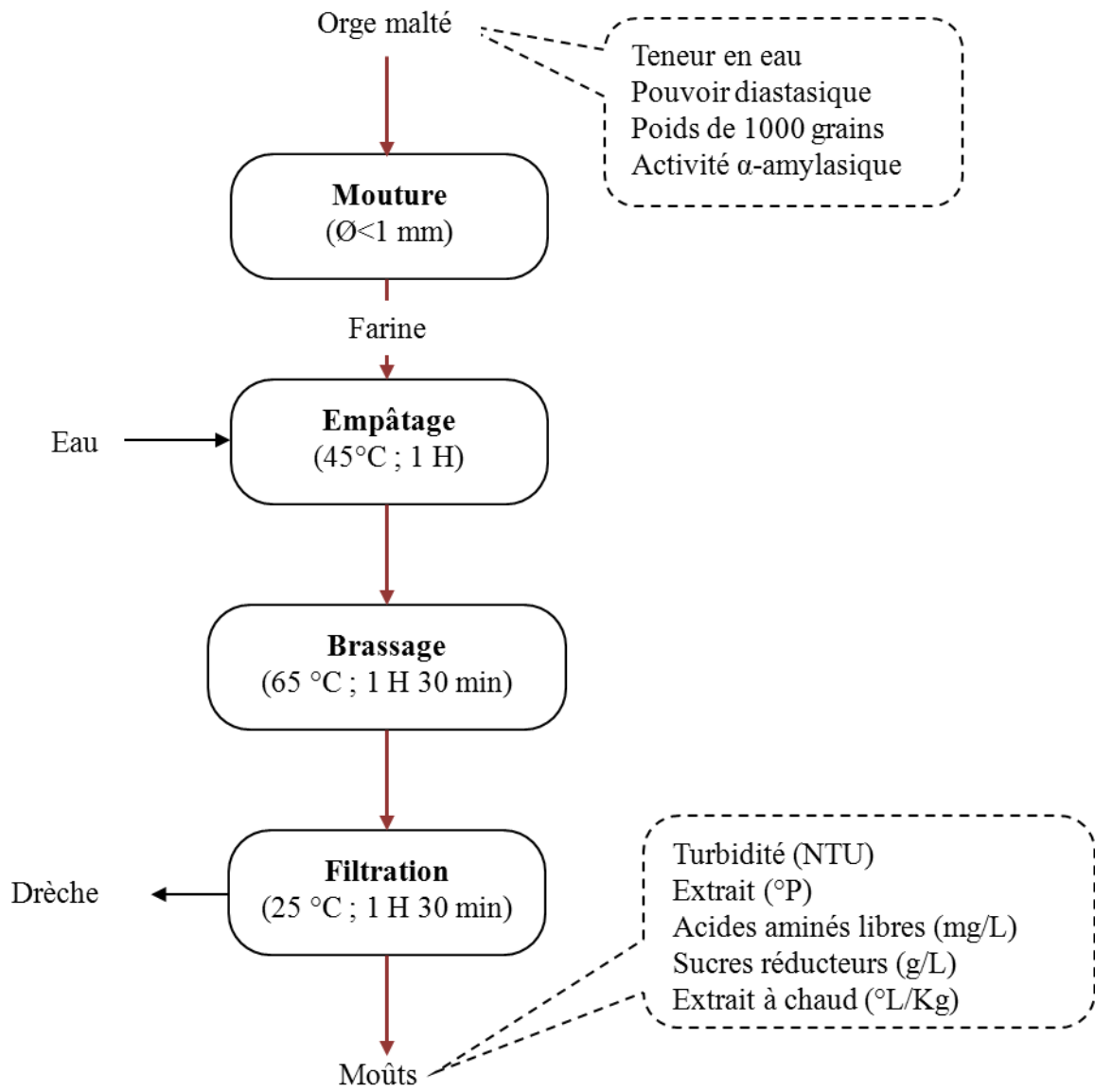


Figure 2.3 : Schéma du processus de brassage de l'orge malté.

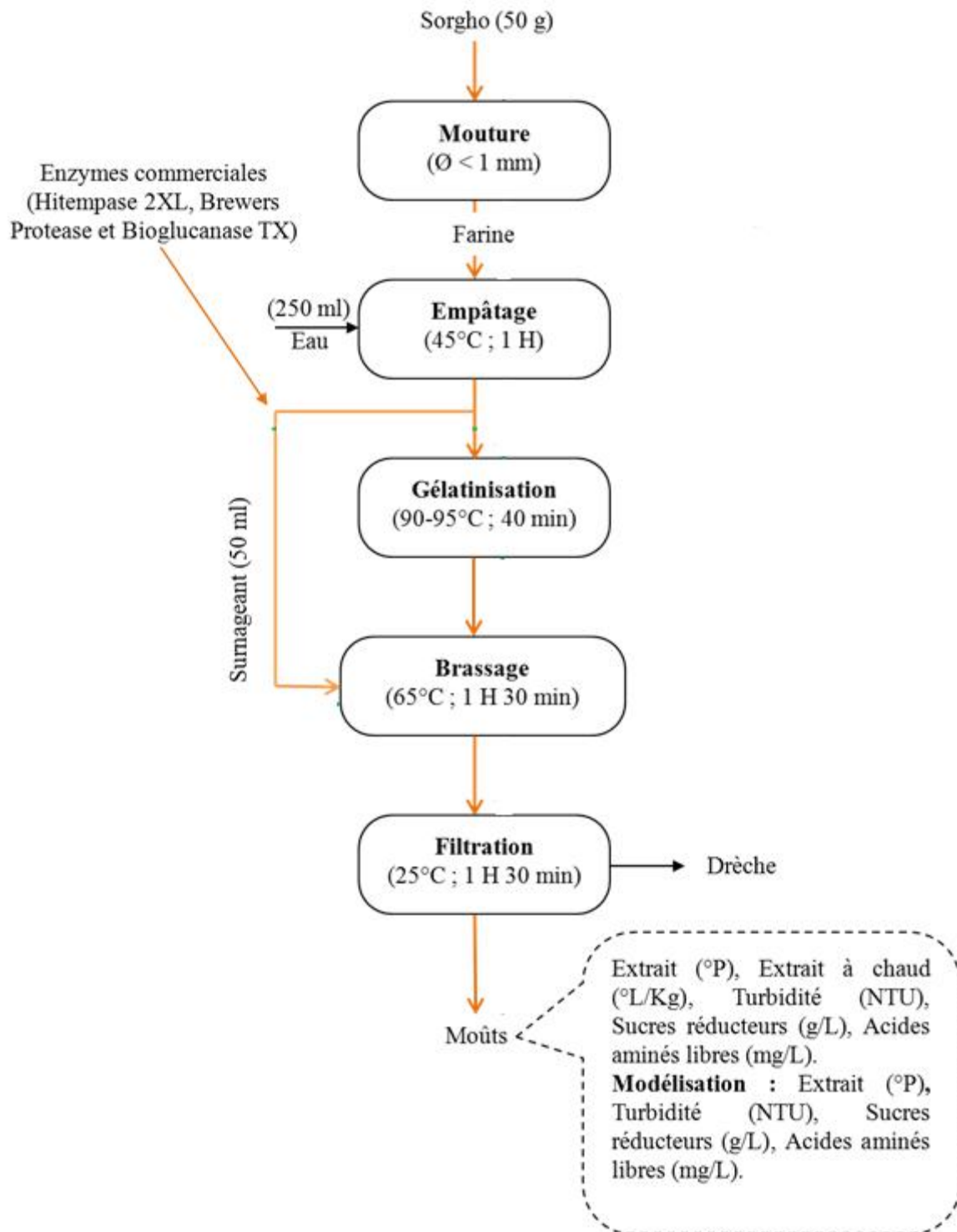


Figure 2.4 : Schéma du processus de brassage du sorgho (Madjeru et Safrari).

II-2-8) Détermination de l'extrait (°P), l'extrait à chaud, de la turbidité, de la teneur en sucres réducteurs et de la teneur en acides aminés libres des moûts.

II-2-8-1) Détermination de l'extrait (°P)

Après brassage, refroidissement puis filtration de la maïsche, le moût a été obtenu. Le pycnomètre de 25 ml a été lavé et séché. Il a été pesé à vide puis, rempli de moût et pesé à nouveau. Il a été une fois de plus lavé et séché puis, rempli cette fois d'eau distillée et pesé. La densité spécifique a été par la suite calculée à cinq chiffres après la virgule grâce à la formule :

$$D_m = \frac{m_m}{m_e} = \frac{M_p - M_v}{M_e - M_v} \quad [2.30]$$

Avec :

D_m = densité du moût ;

m_m = masse (g) de moût contenu dans le pycnomètre ;

m_e = masse (g) d'eau contenue dans le pycnomètre ;

M_p = masse (g) du pycnomètre rempli de moût ;

M_e = masse (g) du pycnomètre rempli d'eau ;

M_v = masse (g) du pycnomètre à vide.

A l'aide de la table de conversion (Goldiner *et al.*, 1966), cette densité a été obtenue en extrait (°P).

II-2-8-2) Détermination de l'extrait à chaud

Après brassage et refroidissement à 25 °C, puis filtration de la maïsche, la densité spécifique a été évaluée en utilisant un pycnomètre. Par la suite, l'extrait à chaud (HWE) a été déterminé selon la méthode normalisée (Analytica-EBC, 1998) suivant la formule :

$$G(^{\circ} Sacch) = 1000(S_G - 1) \quad [2.31]$$

$$HWE(^{\circ} L / Kg) = \frac{8,773G}{S_G} \quad [2.32]$$

Avec :

G = excès de densité (matière sèche).

HWE = Extrait à chaud exprimé en degré litre par Kilogramme.

S_G = La densité spécifique corrigée à 20 °C.

II-2-8-3) Détermination de la turbidité des moûts

La turbidité est un effet optique. L'indice de diffusion est une propriété intrinsèque des suspensions permettant de caractériser leur aspect optique. Cet effet optique est provoqué par

la présence de particules très fines réparties dans un milieu de dispersion liquide ; l'indice de réfraction de ces particules diffère de celui du milieu de dispersion.

Après le brassage et la filtration, le moût a été introduit dans la cellule en quartz du turbidimètre HACH 2100N (Hach company headquarters, Loveland CO, USA). La cellule est introduite dans ce turbidimètre, puis la lecture a été faite après stabilisation de la valeur affichée. L'unité étant en NTU (Nephelometric Turbidity Unit).

II-2-8-4) Détermination de la teneur en sucres réducteurs des moûts

Les sucres réducteurs sont dosés par une méthode colorimétrique avec le réactif à l'Acide 3,5-Dinitrosalicylique (DNS). C'est une réaction d'oxydoréduction non stœchiométrique permettant de quantifier les sucres réducteurs. Dans cette réaction, la fonction aldéhyde du sucre libre (réducteur) est transformée en fonction carboxylique par le DNS (oxydant). L'absorbance du DNS oxydé est lue à 540 nm.

Les moûts (0,1 ml) préalablement dispersés dans les tubes à essai ont été mélangés avec 7,9 ml d'eau distillée. La solution a été ensuite mélangée avec 2 ml du réactif au DNS (2 g de DNS, 3,2 g de NaOH et 60 g de sel de Seignette ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6, 4\text{H}_2\text{O}$) dans 100 mL d'eau distillée) puis incubée au bain-marie bouillant pendant 10 min. La densité optique à 540 nm a été lue au spectrophotomètre UV/Visible Jenway 6405 (Jenway Ltd Felsted, Dunmow, Essex CM6 3LB, UK). Une solution standard de maltose de 0,5 mg/mL a été utilisée pour réaliser la droite d'étalonnage. Les quantités de sucres réducteurs ont été obtenues à partir de la droite d'étalonnage (Miller, 1959).

II-2-8-5) Détermination de la teneur en acides aminés libres des moûts

La détermination de la teneur en acides aminés libres contenus dans le moût est obtenue par colorimétrie à la méthode à la ninhydrine (Analytica-EBC, 1998).

La méthode donne une estimation des acides aminés, en tenant compte des groupements α -aminés terminaux des peptides et protéines. La proline est partiellement estimée à la longueur d'onde utilisée.

A 1 ml du moût a été ajoutée 99 ml d'eau distillée pour obtenir la dilution de 1/100. 2 ml de l'échantillon ont été dilués et placés dans 3 tubes à essais. A chacun des tubes à essai, 1 ml de réactif coloré (100 g/L de Na_2HPO_4 , 60 g/L de KH_2PO_4 , 5 g/L de ninhydrine et 3 g/L de fructose) a été ajouté. Les tubes ont été placés dans un bain d'eau bouillante pendant 16 min. Après, ils ont été refroidis au bain d'eau jusqu'à 20-25 °C. A chacun ont été ajoutées 5 ml de la solution de dilution (2 g de KIO_3 dans 1 L d'un mélange H_2O /Ethanol 96 % (600:400, v/v)). L'absorbance à 570 nm a été lue au spectrophotomètre UV/Visible Jenway 6405 (Jenway Ltd Felsted, Dunmow, Essex CM6 3LB, UK). Les résultats obtenus ont été comparés

à celui du blanc et du standard. Le blanc a été préparé avec 2 ml d'eau distillée au lieu du moût dilué. Pour le standard, 2 ml de glycine (10,72 mg/L) ont été introduits à la place du moût dilué.

La teneur en acides aminés libres a été déterminée grâce à la relation :

$$AAL = \frac{2A_1d}{A_2} \quad [2.33]$$

AAL : acides aminés libres (mg/L)

A_1 : Absorbance de la solution test à 570 nm

A_2 : Absorbance moyenne des solutions standard.

d : Facteur de dilution.

II-3) RESULTATS ET DISCUSSION.

II-3-1) Caractéristiques physico-chimiques des cultivars (*Madjeru*) non maltés et maltés.

Les caractéristiques physico-chimiques liées aux tests d'acceptation et de potentialités brassicoles permettent d'apprécier la valeur du cultivar *Madjeru*. Les résultats du Tableau 2.2 montrent que la teneur en eau résiduelle de *Madjeru* non malté ($9,85 \pm 0,06$ %) est inférieure à 13 % qui est la teneur en eau maximale recommandée pour la conservation des céréales (Hough *et al.*, 1982). Les grains sont donc en bon état de conservation. La capacité germinative, l'énergie germinative (4 ml) et l'énergie germinative (8 ml) dont les valeurs sont de $99,66 \pm 0,23$ %, $99,33 \pm 1,15$ % et $96 \pm 1,73$ % respectivement, sont dans les normes requises (Analytica-EBC, 1998). Les grains sont ainsi aptes pour le maltage. Le poids de 1000 grains dont la valeur est de $41,2 \pm 0,08$ g, est dans la même gamme que la littérature (Nso *et al.*, 2003). Ces grains sont denses et, on pourrait entrevoir au cours du brassage un moût riche en extrait. La teneur en protéines de *Madjeru* non malté est de $9,95 \pm 0,57$ %. De tout ce qui précède, on peut dire que le cultivar *Madjeru* non malté est apte pour le brassage.

Tableau 2.2 : Récapitulatif des caractéristiques physico-chimiques de *Madjeru* non malté.

Caractéristiques	<i>Madjeru</i>
Teneur en eau (%)	$9,85 \pm 0,06$
Capacité germinative (%)	$99,66 \pm 0,23$
Énergie germinative (4 ml) (%)	$99,33 \pm 1,15$
Énergie germinative (8 ml) (%)	$96 \pm 1,73$
Poids de 1000 grains (g)	$41,2 \pm 0,08$
Teneur en protéine (%)	$9,95 \pm 0,57$

Le Tableau 2.3 présente quelques caractéristiques physico-chimiques de *Madjeru* et de l'orge maltés. De ce tableau on a les teneurs en eau de $6,03 \pm 0,73$ % et $6,25 \pm 0,05$ % respectivement pour le cultivar *Madjeru* malté et l'orge maltée. Le poids de 1000 grains de $37,46 \pm 1,19$ g pour le cultivar *Madjeru* malté est supérieur à celui de l'orge maltée ($32,86 \pm 0,26$ g). Cela traduit une plus grande quantité d'amidon dans le malt de *Madjeru*. Cette valeur pour ce qui est du sorgho, est dans la marge des valeurs dans la littérature et qui situe le poids de 1000 grains du sorgho dans la plage de 7 à 61 g (Nso *et al.*, 2003, Briggs *et al.*, 2004). Le pouvoir diastasique du cultivar *Madjeru* malté ($147,95 \pm 6,19$ WK) est inférieur à

celui de l'orge malté ($412 \pm 3,7$ WK) mais, est dans le même ordre de grandeur que celui de la variété de sorgho KSV 7 (EtokAkpan, 2004). Pour le cultivar *Madjeru* malté, cela indique une activité enzymatique faible par rapport à l'orge maltée et, de ce fait, une synthèse insuffisante d'enzymes au cours du maltage. L'extrait à chaud ($^{\circ}\text{L}/\text{Kg}$) du cultivar *Madjeru* malté est supérieur à celui de l'orge maltée. L'extrait ($^{\circ}\text{P}$) des moûts du cultivar *Madjeru* malté et celui de l'orge maltée sont comparables. La teneur en sucres réducteurs du moût du cultivar *Madjeru* malté ($58,95 \pm 5,02$ g/L) est inférieure à celle de l'orge maltée ($94,25 \pm 4,6$ g/L). Tout cela confirme le faible potentiel amylasique de ce cultivar de sorgho. Une nécessité de supplémentation α -amylasique au cours du brassage est à envisager. La teneur en acides aminés libres du moût de *Madjeru* malté ($50 \pm 3,2$ mg/L) est inférieure à celle de l'orge maltée ($247,21 \pm 9,62$ mg/L). Une supplémentation en protéase au cours du brassage est aussi à envisager. La turbidité des moûts de *Madjeru* malté ($7,14 \pm 2,35$ NTU) et celle de l'orge maltée ($9,2 \pm 1,42$ NTU) sont comparables.

Tableau 2.3 : Récapitulatif des caractéristiques physico-chimiques des céréales maltées utilisées dans cette étude.

Caractéristiques	<i>Madjeru</i>	Orge
Teneur en eau (%)	$6,03 \pm 0,73^a$	$6,25 \pm 0,05^a$
Poids de 1000 grains (g)	$37,46 \pm 1,19^a$	$32,86 \pm 0,26^b$
Pouvoir diastasique (WK)	$147,95 \pm 6,19^a$	$412 \pm 3,7^b$
Extrait à chaud ($^{\circ}\text{L}/\text{kg}$)	$455,79 \pm 3^a$	$390,70 \pm 3,66^b$
Extrait ($^{\circ}\text{P}$)	$13,52 \pm 1^a$	$12,1 \pm 1^a$
Sucres réducteurs (g/L)	$58,95 \pm 5,02^a$	$94,25 \pm 4,6^b$
Acides aminés libres (mg/L)	$50 \pm 3,2^a$	$247,21 \pm 9,62^b$
Turbidité (NTU) du moût	$7,14 \pm 2,35^a$	$9,2 \pm 1,42^a$

*Les lettres différentes sur la même ligne traduisent une différence significative ($P < 0,05$) entre les données.

Le Tableau 2.4 présente le récapitulatif de quelques activités enzymatiques évaluées. En ce qui concerne l' α -amylase, l'orge maltée ($319,92 \pm 6,51$ U/g) présente une activité supérieure à celle du cultivar *Madjeru* malté (81 ± 4 U/g). Il y a donc nécessité à supplémenter au cours du brassage avec une α -amylase industrielle, par exemple Hitempase 2XL. De même, l'activité de la carboxypeptidase dans le cultivar *Madjeru* malté ($5,1 \pm 0,06$ mg AAL/min/g) est inférieure à celle de l'orge maltée ($15,22 \pm 0,42$ mg AAL/min/g), il

faudrait donc au cours du brassage, envisager de faire une supplémentation avec une protéase industrielle, par exemple Brewers Protease.

Tableau 2.4 : Récapitulatif de quelques activités enzymatiques évaluées.

Activité	<i>Madjeru</i> malté	Orge malté
α -amylase	$81 \pm 4 \text{ U/g}^a$	$319,92 \pm 6,51 \text{ U/g}^b$
Carboxypeptidase	$5,1 \pm 0,06 \text{ mg AAL/min/g}^a$	$15,22 \pm 0,42 \text{ mg AAL/min/g}^b$

*Les lettres différentes sur la même ligne traduisent une différence significative ($P < 0,05$) entre les données.

II-3-2) Modélisation de l'action des enzymes brassicoles commerciales sur les caractéristiques physico-chimiques des moûts de *Madjeru* non malté et malté.

Le Tableau 2.5 présente les résultats des analyses physico-chimiques des moûts de *Madjeru* non malté et malté. Ces résultats font l'objet ensuite de modélisations mathématiques statistiques où, seules les valeurs moyennes sont utilisées. Les caractéristiques physico-chimiques tels que l'extrait (°P), la turbidité (NTU), la teneur en sucres réducteurs (g/L) et la teneur en acides aminés libres (mg/L) sont suivis. Les pH de tous les moûts ont été dans la gamme 5,2 – 5,6.

Tableau 2.5 : Caractéristiques physico-chimiques des moûts de *Madjeru*.

Facteurs		Réponses											
		Extrait (°P)			Turbidité (NTU)			Sucres réducteurs (g/L)			Acides aminés libres (mg/L)		
X ₁	X ₂	X ₃	Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté	
0	0	0	15,07±1,10	15,60±1,76	7,68±0,54	6,31±0,44	100,81±4,76	124±7,65	64,34±2,70	94±4			
1	0	0	13,93±1,61	15,70±1,79	8,60±0,23	8,33±0,76	85,55±4,87	137,59±6,82	71,79±3,65	107,7±5,21			
0,5	0,866	0	13,10±0,83	15,08±1,89	7,30±0,49	7,95±1,07	87,56±6,22	106,21±6,06	98±2,74	147±4,77			
-0,5	-0,866	0	13,61±0,51	14,56±2,01	6±0,21	5,27±0,23	80,34±4,99	76,30±5,12	65,38±3,33	98,1±3,11			
0,5	-0,866	0	15,09±1,32	16,12±1,44	15,33±1,87	6,29±0,45	104,64±7,34	140,30±6	83,08±3,89	126±6,08			
-0,5	0,866	0	9,05±1,02	14,97±1,34	6,40±0,15	6,32±0,57	76,98±5,88	99,27±4,70	81,79±4,23	122,70±3,49			
0,5	0,289	0,816	10±0,65	15,14±1,97	4,20±0,12	8,37±0,77	79,65±5,67	114,47±7,04	84,78±5	130±4			
-0,5	-0,289	-0,816	11,25±1,28	14,97±1,22	4,67±0,66	5,39±0,11	88,61±5,88	93,99±6,12	44±2,62	66±3,52			
0,5	-0,289	-0,816	14,14±0,74	15,39±1,89	7,45±0,77	7,75±0,79	94,01±6,78	115,48±6,33	48±3,99	72±2,21			
0	0,577	-0,816	13,20±1,23	14,76±0,65	3,10±0,31	7,22±0,69	89,28±4,77	88,89±2,45	49,07±4	73,6±5,77			
-0,5	0,289	0,816	8,74±0,34	13,93±1,04	2,60±0,33	10,56±1,11	70,97±5,34	63,37±3,77	68,86±3,22	103,3±6,43			
0	-0,577	0,816	10,73±1,22	14,56±0,74	5,90±1,01	8,32±1,09	80,02±4,56	79,34±2,01	73,80±2,44	110,7±6,89			
0	0	0	14,56±0,66	15,60±1,43	7,16±1,05	6,27±0,39	97,32±7,55	126±4,34	62,27±4,11	93,4±3,97			
-1	0	0	1,52±0,12	13,20±1,34	2,50±0,06	8,05±0,88	31,20±3,89	47,65±2,89	40,88±3,66	61,3±4,22			
-1	-0,866	-0,816	1,20±0,14	13,52±1	0,35±0,01	7,14±2,35	17,40±2,31	58,95±5,02	33,31±2,55	50±3,2			
0	0	0	14,90±1,85	15,60±1,31	7,80±0,95	6,31±0,33	100,03±7,66	125±5,84	62±3	93±2			
0	0	0	15,08±1,88	15,46±1,56	7,20±0,64	6,30±0,77	104,39±7,08	123±6,84	60±3,33	90±3,13			

II-3-2-1) L'extrait.

L'extrait, exprimé en « degré Plato (°P) », est une unité qui rend compte de la teneur en sucres présents dans un moût. En effet, il est le paramètre primordial à évaluer afin d'établir la potentialité brassicole d'un moût (Analytica-EBC, 1998, Briggs, 1998). Une modélisation autour de ce paramètre se présenterait donc comme un moyen efficace pour suivre, au travers de l'action des enzymes de brassage, l'aptitude d'un moût pour la fabrication d'une bière. Généralement, plus l'extrait est élevé, plus le potentiel brassicole du malt dont il est issu est élevé.

Les modèles mathématiques obtenus ont tenu compte des variables codées (section II-2-6-1) et, se présentent comme suit respectivement pour le cultivar *Madjeru* non malté et le cultivar *Madjeru* malté :

$$Y_{MadEX}(X_1, X_2, X_3) = 15,134 + 4,477X_1 - 1,397X_2 - 1,729X_3 + 0,980X_1X_2 - 2,155X_1X_3 + 0,296X_2X_3 - 7,507X_1^2 - 0,964X_2^2 - 3,732X_3^2 \quad [2.33]$$

$$Y_{MadMEX}(X_1, X_2, X_3) = 15,566 + 1,036X_1 - 0,197X_2 - 0,304X_3 - 0,842X_1X_2 + 0,784X_1X_3 + 0,623X_2X_3 - 1,11X_1^2 - 0,14X_2^2 - 0,843X_3^2 \quad [2.34]$$

Avec

$Y_{MadEX}(X_1, X_2, X_3)$ = Modèle mathématique pour le cultivar *Madjeru* non malté dont la réponse est l'extrait

$Y_{MadMEX}(X_1, X_2, X_3)$ = Modèle mathématique pour le cultivar *Madjeru* malté dont la réponse est l'extrait

X_1 = Hitempase 2XL (α -amylase), X_2 = Bioglucanase TX (β -glucanase) et X_3 = Brewers Protease (Protéase).

Il s'agit des modèles mathématiques polynomiaux à plusieurs variables. Ces modèles sont du second degré avec interactions et leurs caractéristiques sont consignées dans le tableau 2.6.

Tableau 2.6 : Caractéristiques des modèles mathématiques pour l'évolution de l'extrait des moûts du cultivar *Madjeru* (non malté et malté).

Modèles	R ²	AADM	B _f	A _{fl}
$Y_{MadEX}(X_1, X_2, X_3)$	0,940	0,091	1,050	1,190
$Y_{MadMEX}(X_1, X_2, X_3)$	0,980	0,006	1,000	1,010

Ces valeurs de R², AADM, B_f et A_{fl} du Tableau 2.6 permettent de valider les modèles pour l'évolution des extraits des moûts du cultivar *Madjeru* (non malté et malté), ceci

conformément à la littérature (Ross, 1996, Dalgaard and Jorgensen, 1998, Baranyi *et al.*, 1999).

Les facteurs des modèles sont linéaires (X_1 , X_2 et X_3), quadratiques (X_1^2 , X_2^2 et X_3^2) et avec interactions (X_1X_2 , X_1X_3 et X_2X_3). Ils sont statistiquement considérés significatifs ou non pour l'enrichissement du moût en extrait si la probabilité (P) est de $\leq 0,05$ ou $\geq 0,05$ respectivement (Tableaux 2.7 et 2.8).

Tableau 2.7 : Estimation des coefficients des modèles pour l'évolution de l'extrait des moûts de *Madjeru*.

Effets	Coefficients		Erreur Standard		t		Probabilité	
	Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté
CONSTANTE	15,134	15,566	0,766	0,08	19,768	195,176	0,000	0,000
X ₁	4,477	1,036	0,788	0,082	5,684	12,63	0,001	0,000
X ₂	-1,397	-0,197	0,687	0,072	-1,762	-2,387	0,121	0,048
X ₃	-1,729	-0,304	0,649	0,068	-2,174	-3,67	0,066	0,008
X ₁ ²	-7,507	-1,11	1,35	0,141	-5,56	-7,895	0,001	0,000
X ₂ ²	-0,964	-0,14	0,983	0,102	-0,736	-1,027	0,486	0,339
X ₃ ²	-3,732	-0,843	0,848	0,088	-2,932	-6,357	0,022	0,000
X ₁ *X ₂	0,98	-0,842	1,541	0,161	0,55	-4,543	0,599	0,003
X ₂ *X ₃	0,296	0,623	1,357	0,141	0,154	3,115	0,882	0,017
X ₁ *X ₃	-2,155	0,784	1,606	0,167	-1,095	3,823	0,310	0,007

Tableau 2.8 : Analyse de Variance de l'évolution de l'extrait du moût de *Madjeru*.

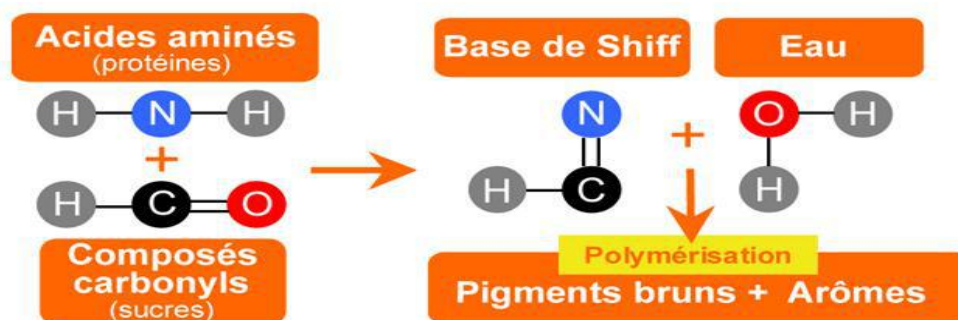
Source	dl	Somme des carrés		Carrés moyens		F		Probabilité	
		Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté
Régression	9	285,91	9,965	31,768	1,107	12,14	38,993	0,002	0,000
Linéaire	3	156,256	6,507	52,085	2,169	19,905	76,379	0,001	0,000
Quadratique	3	126,512	2,496	42,171	0,832	16,116	29,299	0,002	0,000
Interactions	3	3,141	0,963	1,047	0,321	0,4	11,302	0,757	0,004
Erreur résiduelle	7	18,317	0,199	2,617	0,028				
Erreur totale	16	304,227	10,164						

La Figure 2.5A présente l'influence de Hitempase 2XL sur l'extrait des moûts de *Madjeru* non malté et malté. En absence d'Hitempase 2XL l'extrait est de 1,86 °P et 13,52 °P respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté. On observe ensuite une augmentation de l'extrait avec l'augmentation d'Hitempase 2XL jusqu'aux valeurs maximales de 15,72 °P et 16,04 °P respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté. Ces valeurs sont atteintes pour des activités respectives de 2038,3 U et 2260,5 U. On note par la suite une baisse de l'extrait jusqu'aux valeurs de 12,63 °P et 15,77 °P respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté, ceci à 3000 U. On constate également dans cette Figure qu'il faudrait ajouter 1226,2 U d'Hitempase 2XL à la maïsche de *Madjeru* non malté pour atteindre la valeur initiale d'extrait de *Madjeru* malté et que les valeurs maximales d'extrait des moûts sont comparables.

La Figure 2.5B présente l'action de Hitempase 2XL de sur l'extrait des moûts de *Madjeru* non malté et malté ceci, en présence de Bioglucanase TX (750 BGU) et Brewers Protease (60 mg). En absence d'Hitempase 2XL on a 1,65 °P et 13,57 °P respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté. Par la suite une augmentation de l'extrait est observée avec l'augmentation d'Hitempase 2XL jusqu'aux valeurs maximales de 14,50 °P et 15,52 °P respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté. Ces valeurs sont obtenues pour des activités respectives de 1963 U et 1990,9 U. Une diminution de l'extrait est observée par la suite jusqu'aux valeurs de 10,92 °P et 15,02 °P respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté, à 3000 U. Dans cette Figure, il faudrait ajouter 1433,1 U d'Hitempase 2XL à la maïsche de *Madjeru* non malté pour atteindre la valeur initiale d'extrait de *Madjeru* malté et que, les valeurs maximales d'extrait des moûts sont différentes.

Pour le cas de *Madjeru* non malté, la présence d'extrait en absence d'Hitempase 2XL (Figures 2.5A et 2.5B) est due à la mouture qui permet la diffusion des sucres résiduels et autres éléments solubles du sorgho non malté dans l'eau de brassage. L'augmentation de la quantité d'extrait avec l'augmentation de l'activité d'Hitempase 2XL (Figures 2.5A et 2.5B) peut s'expliquer par le fait que l'amidon, qui est la macromolécule principale du sorgho et, le substrat principal de l' α -amylase est hydrolysé de façon aléatoire par cette enzyme pour donner des sucres (Hough *et al.*, 1982). Hitempase 2XL contribue donc pour la plus grande quantité de matériaux solubles sous forme d'extrait qui peut être trouvé dans les moûts de *Madjeru* non malté (Goode *et al.*, 2003, Phiarais *et al.*, 2006, Desobgo *et al.*, 2010). La diminution de la quantité d'extrait dans les moûts, peut s'expliquer par les réactions de Maillard entre les fonctions azotées et certains sucres (Hough *et al.*, 1982, Briggs *et al.*, 2004)

qui, sont la partie majoritaire des éléments constitutifs de l'extrait (Briggs *et al.*, 2004). Ces réactions de Maillard s'effectuent selon l'équation simplifiée suivante :



Pour le cas de *Madjeru* malté, les valeurs élevées d'extraits en absence d'Hitempase 2XL (Figures 2.5A et 2.5B) s'expliqueraient par le maltage et la mouture. En effet, le maltage de par la synthèse d'une multitude d'enzymes, contribue à l'hydrolyse partielle de l'amidon et autres constituants qui se retrouvent en grande quantité dans les moûts ceci, favorisé par la mouture (Palmer, 1989, Olatunji *et al.*, 1993, Daiber and Taylor, 1995).

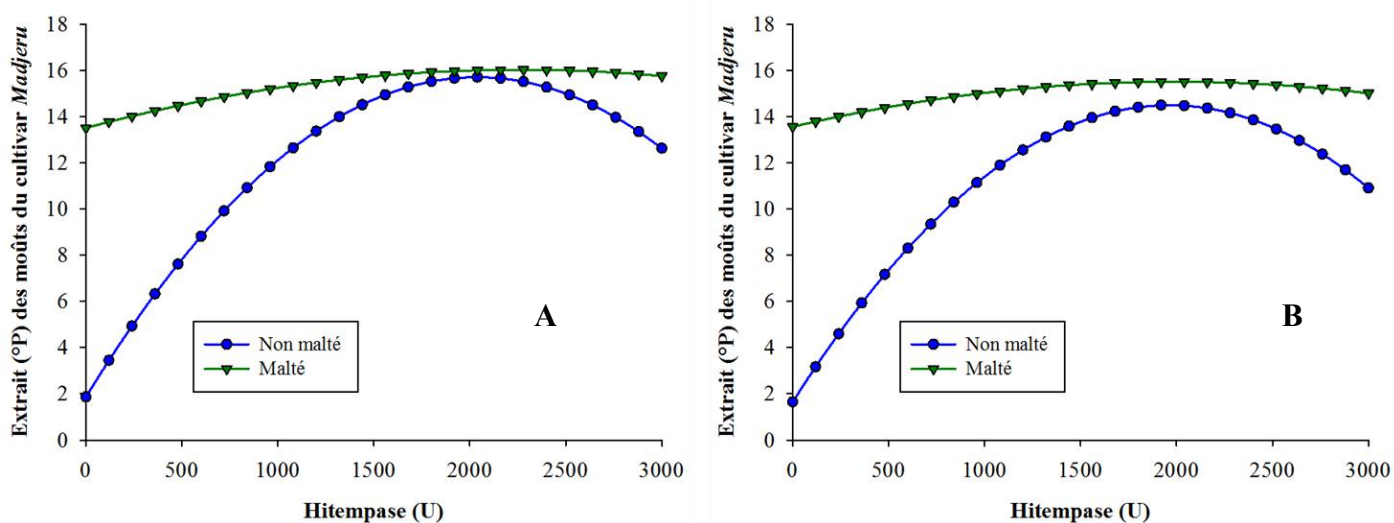


Figure 2.5. (A) : Effet de Hitempase 2XL sur l'évolution de l'extrait (°P) des moûts du cultivar *Madjeru*. (B) : Effet de Hitempase 2XL sur l'évolution de l'extrait (°P) des moûts du cultivar *Madjeru* en présence de Bioglucanase (750 BGU) et Brewers Protease (60 mg).

Les modèles mathématiques montrent que, sous sa forme linéaire (X_1), l'action de Hitempase 2XL contribue pour 19 % pour le cultivar *Madjeru* non malté et 18 % pour le cultivar *Madjeru* malté respectivement (Figures 2.6A et 2.6B). Les analyses statistiques montrent également que cette contribution est significative, soient $P = 0,001$ et $0,000$ pour le

cultivar *Madjeru* non malté et pour le cultivar *Madjeru* malté respectivement (Tableau 2.7). Sous sa forme quadratique (X_1^2), l'action de Hitempase 2XL demeure statistiquement significative soient, $P = 0,001$ et $0,000$ pour le cultivar *Madjeru* non malté et malté respectivement (Tableau 2.7). Sa contribution pour l'extrait sous sa forme quadratique (X_1^2) (excès de α -amylase en principe) est en effet 33 % et 19 % pour le cultivar *Madjeru* non malté et malté respectivement (Figures 2.6A et 2.6B). Ainsi, les suppléments de cette enzyme (Hitempase 2XL) au cours du brassage du cultivar *Madjeru* sont nécessaires.

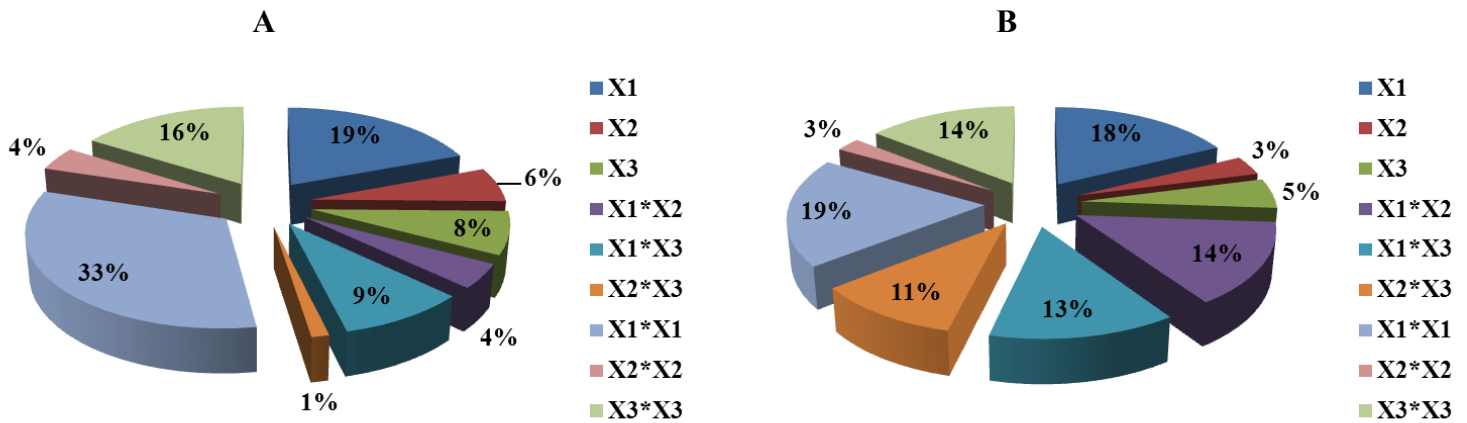


Figure 2.6. (A) : Contribution de chaque facteur sur le comportement général du modèle pour le suivi de l'extrait (°P) du moût de *Madjeru* non malté. (B) : Contribution de chaque facteur sur le comportement général du modèle pour le suivi de l'extrait (°P) du moût de *Madjeru* malté.

La Figure 2.7A présente l'influence de Bioglucanase TX sur l'extrait des moûts de *Madjeru* non malté et malté. En absence de Bioglucanase TX, les extraits sont de 1,86 °P et 13,52 °P respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté. On a ensuite une diminution de l'extrait avec l'augmentation de Bioglucanase TX jusqu'à la valeur de 0 °P à 531,67 BGU. Pour le cas de *Madjeru* malté, on a une légère augmentation de l'extrait avec l'augmentation de Bioglucanase TX jusqu'à une valeur maximale de 13,78 °P à 732,88 BGU ; L'extrait diminue légèrement par la suite jusqu'à 13,76 °P à 937,5 BGU.

La Figure 2.7B présente l'influence de Bioglucanase TX sur l'extrait des moûts de *Madjeru* non malté et malté, en présence de Hitempase 2XL (1875 U) et Brewers Protease (60 mg). En absence de cette enzyme, les extraits sont de 15,54 °P et 15,87 °P respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté. Pour le cas de *Madjeru* non malté, on a une légère augmentation de l'extrait jusqu'à une valeur de 15,63 °P à 158,89 BGU. Par la suite, l'extrait

diminue jusqu'à 13,63 °P à 937,5 BGU. Pour ce qui est de *Madjeru* malté, on assiste immédiatement à une légère diminution de l'extrait après ajout de Bioglucanase TX, jusqu'à la valeur de 15,34 °P à 937,5 BU.

Pour le cas de *Madjeru* non malté, la présence d'extrait en absence de Bioglucanase TX est due à la mouture (Figure 2.7A) et, en plus de la mouture, à la présence d'Hitempase 2XL (Figure 2.7B). Hitempase 2XL démontre qu'elle est l'enzyme clef pour obtenir des extraits élevés des moûts. Les diminutions d'extraits observées par la suite s'expliquent par les réactions de Maillard.

Pour ce qui est de *Madjeru* malté, les quantités élevées d'extraits sont le fait du maltage. La différence de niveau d'extrait entre la Figure 2.7A et la Figure 2.7B s'explique par la présence d'un supplément d'enzymes (Hitempase 2XL et Brewers Protease) qui ont permis une amélioration des caractéristiques du moût.

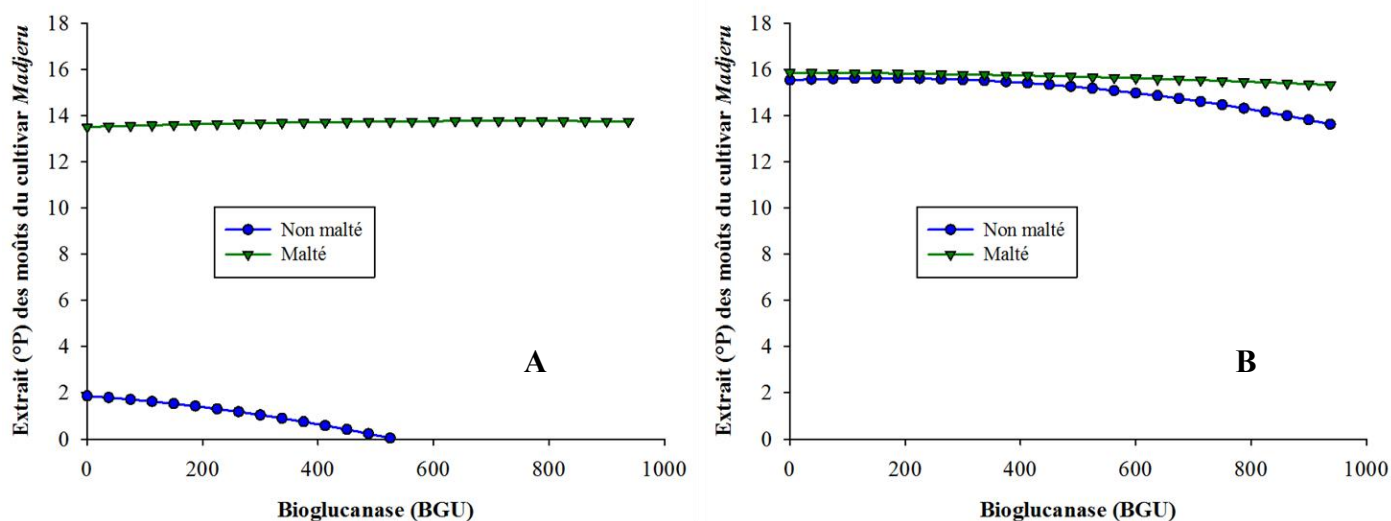


Figure 2.7. (A) : Effet de Bioglucanase (β -Glucanase) sur l'évolution de l'extrait (°P) des moûts de *Madjeru*. (B) : Effet de Bioglucanase (β -Glucanase) sur l'évolution de l'extrait (°P) des moûts du cultivar *Madjeru* en présence d'Hitempase (1875 U) et Brewers Protease (60 mg).

Les modèles mathématiques montrent que, sous sa forme linéaire (X_2), l'action de Bioglucanase TX n'est pas significative ($P = 0,121$) pour le cultivar *Madjeru* non malté et est significative ($P = 0,048$) pour le cultivar *Madjeru* malté (Tableau 2.7). Les Figures 2.6A et 2.6B montrent que cette enzyme contribue simplement pour 6 % et 3 % pour le cultivar *Madjeru* non malté et malté respectivement. Sous sa forme quadratique (X_2^2) (excès d'enzyme en principe), Bioglucanase TX contribue à hauteur de 4 % et à 3 % pour le cultivar

Madjeru non malté et malté respectivement (Figures 2.6A et 2.6B). Cette contribution n'est pas statistiquement significative aussi bien pour *Madjeru* non malté que pour *Madjeru* malté soient, $P = 0,486$ et $0,339$ respectivement (Tableau 2.7).

Globalement, la Bioglucanase TX n'est donc pas une enzyme primordiale pour la production d'extrait pendant le brassage du sorgho (Phiarais *et al.*, 2006, Desobgo *et al.*, 2010).

La Figure 2.8A présente l'influence de Brewers Protease sur l'extrait des moûts de *Madjeru* non malté et malté. En absence de cette enzyme, les extraits sont de $1,86$ °P et $13,52$ °P respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté. Pour le cas de *Madjeru* non malté, un ajout de Brewers Protease conduit dans un premier temps à une augmentation de l'extrait jusqu'à la valeur de $4,48$ °P à $51,39$ mg. Par la suite, on observe une diminution de l'extrait jusqu'à un minimum de $2,13$ °P à 100 mg d'enzyme ajoutée. Pour ce qui est de *Madjeru* malté, tout ajout de Brewers Protease conduit à une réduction de l'extrait, on atteint ainsi une valeur minimale de $10,86$ °P à 100 mg d'enzyme ajoutée.

La Figure 2.8B présente l'influence de Brewers Protease sur l'extrait des moûts de *Madjeru* non malté et malté après ajout de quantités fixes d'Hitepase 2XL (1875 U) et Bioglucanase TX (750 BGU). En absence de cette enzyme, on obtient $14,16$ °P et $14,76$ °P respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté. Après ajout de Brewers Protease, on observe aussi bien pour *Madjeru* non malté que pour *Madjeru* malté une augmentation de l'extrait jusqu'aux valeurs respectives de $15,22$ °P et $15,52$ °P, à $32,64$ mg et $57,83$ mg respectivement. Par la suite, une diminution de l'extrait s'en suit pour atteindre des valeurs de $10,71$ °P et $15,12$ °P respectivement.

Pour le cas de *Madjeru* non malté, la présence d'extrait en absence de Brewers Protease est due à la mouture comme pour les cas précédents (Figure 2.8A). L'augmentation de l'extrait est due au rôle de Brewers Protease lors du brassage qui est d'hydrolyser les protéines en peptides et acides aminés à courtes chaînes (Briggs *et al.*, 2004), permettant ainsi la libération de petites quantités d'extraits dans les moûts. La diminution d'extrait observée par la suite s'explique par les réactions de Maillard. La Figure 2.8B permet de montrer la nécessité de la présence de l' α -amylase (Hitepase 2XL) pour l'obtention des quantités satisfaisantes d'extrait.

Le cas de *Madjeru* malté s'explique comme pour les autres cas par l'atout du maltage en absence d'enzymes (Figures 2.8A et 2.8B), et par les réactions de Maillard pour les cas de diminution de l'extrait.

Les modèles mathématiques montrent en effet que, sous sa forme linéaire (X_3), l'impact de Brewers Protease n'est pas significatif pour le cultivar *Madjeru* non malté, mais l'est pour le cultivar *Madjeru* malté ($P = 0,066$ et $0,008$ respectivement ; Tableau 2.6). Sa contribution est de 8 % et 5 % respectivement (Figures 2.6A et 2.6B). L'impact de cette enzyme sous sa forme quadratique (X_3^2) est significatif aussi bien pour le cultivar *Madjeru* non malté que pour le cultivar *Madjeru* malté ($P = 0,022$ et $0,000$ respectivement ; Tableau 2.7). Sa contribution est de 16 % et 14 % respectivement (Figures 2.6A et 2.6B).

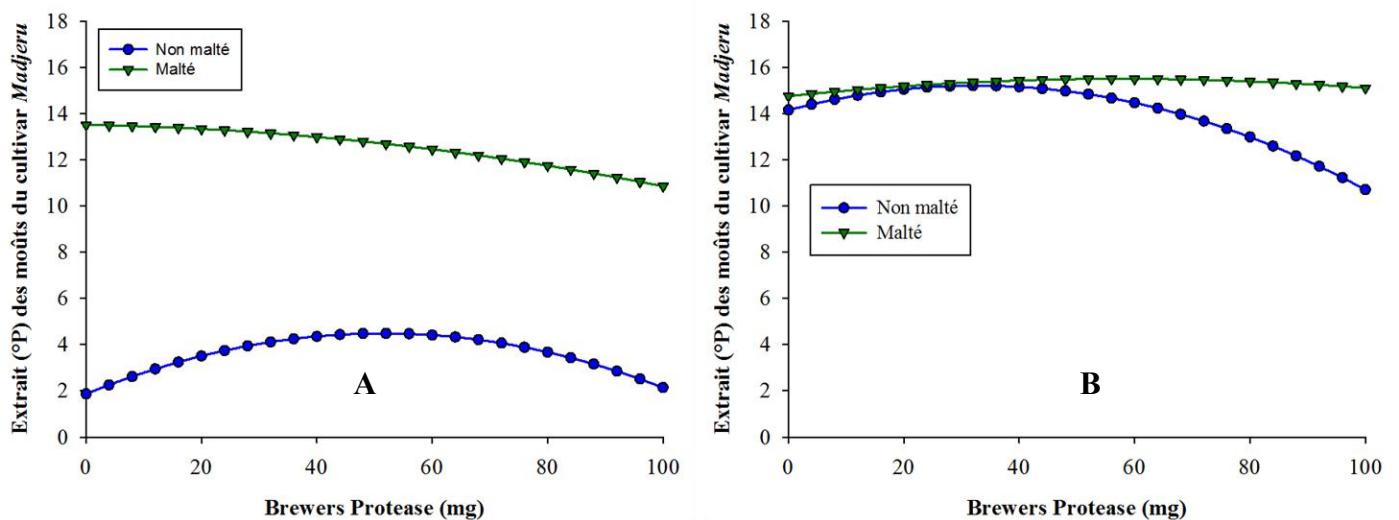


Figure 2.8. (A) : Effet de Brewers Protease sur l'évolution de l'extrait (°P) des moûts de *Madjeru*. (B) : Effet de Brewers Protease sur l'évolution de l'extrait (°P) des moûts du cultivar *Madjeru* en présence d'Hitepase (1875 U) et Bioglucanase (750 BGU).

Les analyses statistiques (Tableau 2.8) présentent les impacts des interactions (X_1X_2 , X_1X_3 et X_2X_3) entre ces enzymes sur l'extrait des moûts. Les résultats montrent qu'elles ne sont globalement pas statistiquement significatives pour le cultivar *Madjeru* non malté ($P = 0,757$), mais le sont pour le cultivar *Madjeru* malté ($P = 0,004$).

L'interaction X_1X_2 (annexe 1A), correspondant au couple Hitepase 2XL/Bioglucanase TX n'a aucun impact significatif sur la mûche du cultivar *Madjeru* non malté, mais par contre elle l'a sur celle de *Madjeru* malté ($P = 0,599$ et $0,003$ respectivement ; Tableau 2.7). Elle contribue à hauteur de 4 % pour l'extrait des moûts du cultivar *Madjeru* non malté et à hauteur de 14 % pour l'extrait des moûts du cultivar *Madjeru* malté (Figures 2.6A et 2.6B). En effet, connu pour être l'enzyme spécifique de l'hydrolyse de l'amidon, l'action de Hitepase est mieux exprimée quand les β -glucanes des céréales sont hydrolysés

par les β -glucanases, hémi-cellulases et cellulases, pour libérer des granules d'amidon (Hough *et al.*, 1982, Briggs, 1998, Briggs *et al.*, 2004).

L'interaction X_1X_3 (annexe 1B), correspondant au couple Hitempase 2XL/Brewers Protease, n'a également aucun impact significatif sur l'extrait des moûts du cultivar *Madjeru* non malté ($P = 0,310$; Tableau 2.7), mais en a sur l'extrait des moûts du cultivar *Madjeru* malté ($P = 0,007$; Tableau 2.7). Sa contribution est de 9 % et 13 % respectivement (Figures 2.6A et 2.6B).

L'interaction X_2X_3 (annexe 1C) correspondant au couple Bioglucanase TX/Brewers Protease n'a aucun impact significatif sur l'extrait des moûts du cultivar *Madjeru* non malté, mais elle l'a sur celui du cultivar *Madjeru* malté ($P = 0,882$ et $0,017$ respectivement ; Tableau 2.7). Sa contribution est de 1 % et 11 % respectivement (Figures 2.6A et 2.6B). Ces faibles contributions par les couples (Bioglucanase TX/Brewers Protease) s'expliquent par le fait que, ces deux enzymes jouent seulement un rôle de soutien pendant le brassage (Desobgo *et al.*, 2010).

Le Tableau 2.9 présente l'analyse de variance dans le but de comparer les extraits des moûts de *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté. Il en ressort qu'il existe une différence significative entre ces extraits ($P = 0,003$). Les meilleurs extraits (quantitativement) étant obtenus avec brassage *Madjeru* malté associé aux enzymes.

Tableau 2.9 : Analyse de Variance pour comparaison entre les extraits des moûts de *Madjeru* (non malté et malté).

Source	Ddl	Somme des carrés	Carrés moyens	F	Probabilité
Inter-groupes	1	102,344	102,344	10,420	0,003
Intra-groupes	32	314,391	9,824		
Total	33	416,735			

II-3-2-2) La turbidité.

La turbidité est une mesure qui traduit la quantité de matière en suspension dans le moût. Le suivi de cette donnée permet d'avoir une idée sur la clarté ou la limpidité du moût et donc de la future bière. La modélisation mathématique autour de l'action des enzymes brassicoles lors du brassage permettrait de comprendre l'impact de chaque enzyme sur ce paramètre.

Les modèles mathématiques obtenus tiennent compte des variables codées (section II-2-6-1) et se présentent comme suit respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté :

$$Y_{MadTU}(X_1, X_2, X_3) = 7,548 + 3,412X_1 - 2,389X_2 - 0,465X_3 - 5,056X_1X_2 + 0,774X_1X_3 + 1,567X_2X_3 - 2,036X_1^2 + 2,202X_2^2 - 4,449X_3^2 \quad [2.35]$$

$$Y_{MadMTU}(X_1, X_2, X_3) = 6,112 + 0,290X_1 + 0,730X_2 + 1,298X_3 + 0,765X_1X_2 - 2,407X_1X_3 + 0,133X_2X_3 + 2,164X_1^2 - 0,060X_2^2 - 2,350X_3^2 \quad [2.36]$$

Avec :

$Y_{MadTU}(X_1, X_2, X_3)$: modèle mathématique pour le *Madjeru* non malté dont la réponse est la turbidité.

$Y_{MadMTU}(X_1, X_2, X_3)$: modèle mathématique pour le *Madjeru* malté dont la réponse est la turbidité.

X_1 = Hitempase 2XL, X_2 = Bioglucanase TX et X_3 = Brewers Protease.

Il s'agit des modèles mathématiques polynomiaux à plusieurs variables. Ces modèles sont du second degré avec interactions et leurs caractéristiques sont consignées dans le Tableau 2.10.

Tableau 2.10 : Caractéristiques des modèles mathématiques pour l'évolution de la turbidité des moûts du cultivar *Madjeru* (non malté et malté).

Modèles	R ²	AADM	B _f	A _{fi}
$Y_{MadTU}(X_1, X_2, X_3)$	0,966	0,093	0,800	1,130
$Y_{MadMTU}(X_1, X_2, X_3)$	0,912	0,050	1,020	1,200

Les valeurs de R², AADM, B_f et A_{fi} permettent de valider les modèles pour l'évolution de la turbidité des moûts du cultivar *Madjeru* (non malté et malté), ceci conformément à la littérature (Ross, 1996, Dalgaard and Jorgensen, 1998, Baranyi *et al.*, 1999).

Les facteurs des modèles sont linéaires ou du premier degré (X_1 , X_2 et X_3), quadratique ou du second degré (X_1^2 , X_2^2 et X_3^2) et sous forme d'interaction (X_1X_2 , X_1X_3 , X_2X_3). Ils sont statistiquement considérés significatifs ou pas si la probabilité (P) est ≤ 0.05 ou le ≥ 0.05 respectivement (Tableaux 2.11 et 2.12).

Tableau 2.11 : Estimation des coefficients des modèles pour l'évolution de la turbidité des moûts de *Madjeru*.

Effets	Coefficient		Erreur Standard		t		Probabilité	
	Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté
CONSTANTE	7,548	6,112	0,436	0,285	17,32	21,477	0,000	0,000
X ₁	3,412	0,29	0,448	0,293	7,61	0,992	0,000	0,354
X ₂	-2,389	0,73	0,391	0,255	-5,292	2,477	0,001	0,042
X ₃	-0,465	1,298	0,369	0,241	-1,028	4,392	0,338	0,003
X ₁ ²	-2,036	2,164	0,769	0,502	-2,648	4,312	0,033	0,004
X ₂ ²	2,202	-0,06	0,559	0,365	2,952	-0,122	0,021	0,906
X ₃ ²	-4,449	2,35	0,482	0,315	-6,14	4,966	0,000	0,002
X ₁ *X ₂	-5,056	0,765	0,877	0,573	-4,991	1,157	0,002	0,285
X ₂ *X ₃	1,567	0,133	0,772	0,504	1,434	0,186	0,195	0,858
X ₁ *X ₃	0,774	-2,407	0,914	0,597	0,69	-3,29	0,512	0,013

Tableau 2.12 : Analyse de Variance de Variance pour l'évolution de la turbidité des moûts de *Madjeru*.

Source	dl	Somme des carrés		Carrés moyens		F		Probabilité	
		Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté
Régression	9	169,545	26,153	18,838	2,906	22,218	8,038	0,000	0,006
Linéaire	3	88,288	8,448	29,429	2,816	34,709	7,79	0,000	0,012
Quadratique	3	57,153	13,656	19,051	4,552	22,468	12,591	0,001	0,003
Interactions	3	24,104	4,048	8,035	1,349	9,476	3,733	0,007	0,069
Erreur résiduelle	7	5,935	2,531	0,848	0,362				
Erreur totale	16	175,481	28,683						

La Figure 2.9A présente l'influence de Hitempase 2XL sur la turbidité des moûts de *Madjeru* non malté et malté. En absence cette enzyme, la turbidité est de 0,59 NTU et 3,47 NTU respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté. Pour le cas de *Madjeru* non malté, après ajout d'Hitempase 2XL, on observe une augmentation de la turbidité jusqu'à la valeur maximale de 14,91 NTU correspondant à 3000 U. Pour le cas de *Madjeru* malté, la turbidité baisse et atteint une valeur minimale de 2,61 NTU à 948,40 U ; cette turbidité croit par la suite jusqu'à 6,66 NTU à 3000 U. Un ajout de 331,24 U d'Hitempase 2XL conduit à l'obtention des moûts ayant la même turbidité aussi bien pour *Madjeru* non malté que pour *Madjeru* malté, soit 2,97 NTU.

La Figure 2.9B présente l'influence de Hitempase 2XL sur la turbidité des moûts de *Madjeru* non malté et malté ceci en présence de Bioglucanase TX (750 BGU) et Brewers Protease (60 mg). En absence d'Hitempase 2XL, la turbidité est de 3,89 NTU et 8,50 NTU respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté. Pour le cas de *Madjeru* non malté, après ajout d'Hitempase 2XL, on observe une augmentation de la turbidité jusqu'à la valeur maximale de 6,94 NTU à 1835,70 U. Une réduction par la suite est observée et, on atteint une valeur minimale de 5,71 NTU à 3000 U. Pour le cas de *Madjeru* malté, la turbidité baisse jusqu'à la valeur minimale de 6,62 NTU à 1397,90 U ; puis, elle croit jusqu'à 9,09 NTU à 3000 U. Des ajouts de 1261,90 U et 1958,40 U d'Hitempase 2XL conduit à l'obtention des moûts ayant la même turbidité aussi bien pour *Madjeru* non malté que pour *Madjeru* malté, soient respectivement 6,67 NTU et 6,92 NTU.

Les résultats montrent que l'effet de l'Hitempase 2XL sur la turbidité du moût serait plus important pour *Madjeru* non malté que pour *Madjeru* malté. Ceci s'expliquerait par le fait que cette enzyme à elle seule comme outil enzymatique brassicole (cas de *Madjeru* non malté), serait moins efficace en la solubilisation de la majeure partie de macromolécules de la graine. C'est surtout l'amidon qui serait solubilisé par l'Hitempase 2XL et de surcroît, pas uniquement en sucres simples mais également en oligosaccharides et dextrines (matériels colloïdaux). Ces dernières et les quantités importantes en protéines et autres glucides tels que les β -glucanes restent insolubles. Or, lors du maltage, (cas de *Madjeru* malté) le grain est soumis à l'action d'une quantité naturellement équilibrée et variable des enzymes hydrolytiques qui se développent au sein de celui-ci afin d'assurer la solubilisation partielle des macromolécules de toute nature (Palmer, 1989, Briggs, 1998). Ces enzymes vont continuer à solubiliser ces molécules lors du brassage, diminuant d'avantage la turbidité des moûts. Il est néanmoins important de noter que dans les conditions décrites en Figure 2.9A, une augmentation d'Hitempase 2XL (une enzyme et donc protéine de nature et aussi matériel

colloïdal par excellence) en des quantités abusives ($\geq 948,40$ U), ré-provoquerait une augmentation en turbidité. Les faibles turbidités observées pour l'absence ou la présence de l'Hitempase 2XL (Figure 2.9A) à des faibles concentrations ($\leq 331,24$ U) pourraient s'expliquer par l'inefficacité de l'enzyme à cette concentration de libérer par hydrolyse de l'amidon, des quantités suffisantes de matériel colloïdal (oligosaccharides et dextrines).

L'augmentation en turbidité jusqu'à 1835,70 U (Figure 2.9B) pour le cas de *Madjeru* non malté montre qu'au départ, l'action de l'enzyme abouti beaucoup plus à la formation du matériel colloïdal (oligosaccharides et dextrines) que du matériel soluble (sucres simples). Au-delà de cette concentration, la baisse en turbidité traduirait la solubilisation subséquente notamment d'oligosaccharides par l'enzyme en plus des sucres simples solubles. Les raisons de l'allure observée pour *Madjeru* malté contraire à celle de *Madjeru* non malté sont les mêmes sauf qu'elles s'appliquent dans le sens inverse (Figure 2.9B). Les quantités d'enzymes naturelles développées lors du maltage, en plus des quantités d'enzymes brassicoles ajoutées, sont suffisantes pour continuer la solubilisation des macromolécules (hydrolyse de la matière colloïdale) jusqu'à la concentration de 1397,90 U d'Hitempase 2XL. Toute concentration d'enzyme supplémentaire (protéine de plus et donc plus de matière colloïdale) ne fait qu'augmenter la turbidité des moûts.

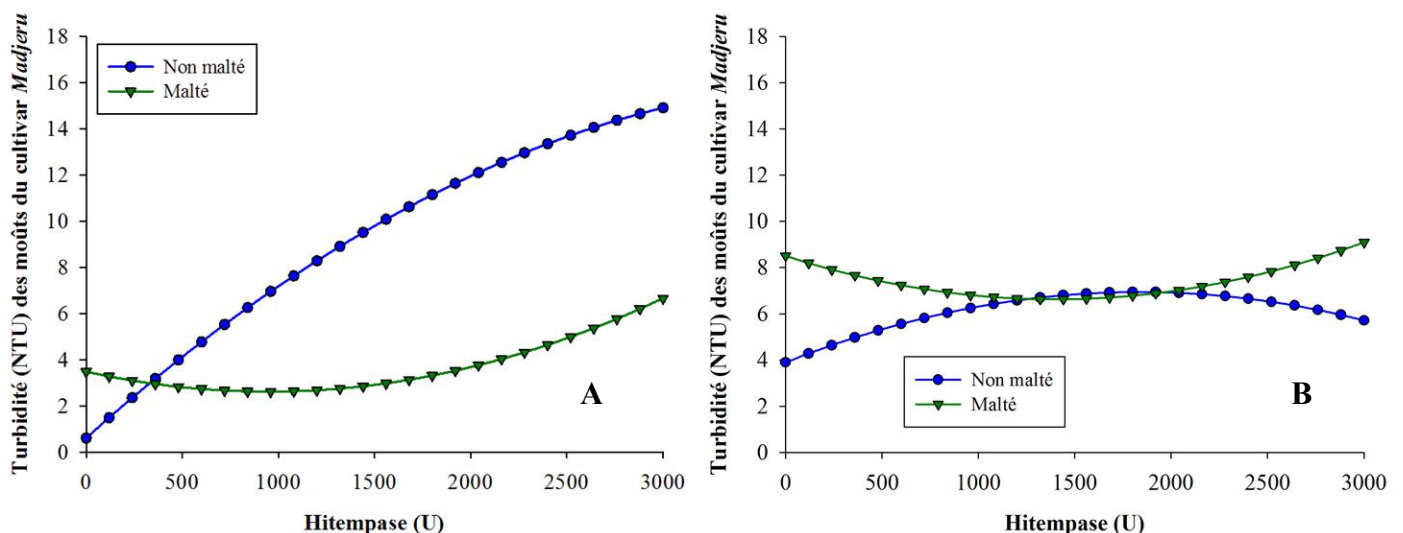


Figure 2.9. (A) : Effet de l'Hitempase (α -Amylase) sur l'évolution de la turbidité (NTU) des moûts du cultivar *Madjeru*. (B) : Effet de l'Hitempase (α -Amylase) sur l'évolution de la turbidité (NTU) des moûts du cultivar *Madjeru* en présence de Bioglucanase (750 BGU) et Brewers Protease (60 mg).

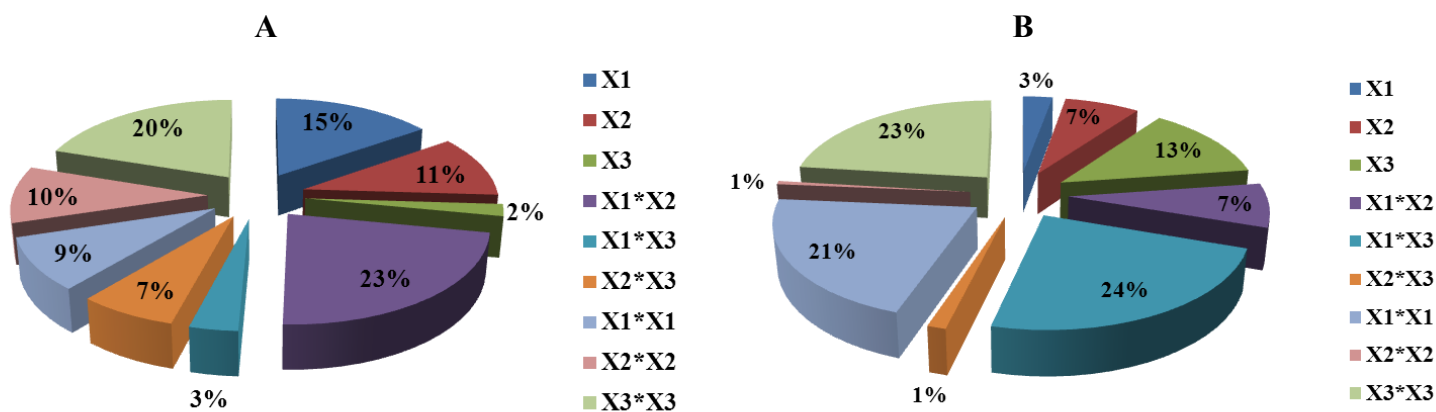


Figure 2.10. (A) : Contribution de chaque facteur sur le comportement général du modèle pour le suivi de la turbidité (NTU) du moût de *Madjeru* non malté. (B) : Contribution de chaque facteur sur le comportement général du modèle pour le suivi de la turbidité (NTU) du moût de *Madjeru* malté.

D'après les modèles mathématiques, sous sa forme linéaire (X_1), l'impact de Hitempase 2XL sur la turbidité est significatif ($P = 0,000$; Tableau 2.11) pour la maïsche de *Madjeru* non malté, et non significatif ($P = 0,354$) pour la maïsche de *Madjeru* malté (Tableau 2.11). Cette action contribue à 15 % et à 3 % pour le cultivar *Madjeru* non malté et malté respectivement (Figures 2.10A et 2.10B). Sous sa forme quadratique (X_1^2), l'action de Hitempase 2XL est statistiquement significative pour les deux types de maïsche ($P = 0,033$ et $P = 0,004$ respectivement ; Tableau 2.11). Sa contribution à la turbidité sous cette forme quadratique (X_1^2) est en effet de 9 % et 21 % pour le cultivar *Madjeru* non malté et malté respectivement (Figures 2.10A et 2.10B).

La Figure 2.11A présente l'influence de Bioglucanase TX sur la turbidité des moûts de *Madjeru* non malté et malté. En absence cette enzyme, la turbidité est de 0,59 NTU et 3,47 NTU respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté. Pour le cas de *Madjeru* non malté, après ajout de Bioglucanase TX, on observe une réduction de la turbidité des moûts jusqu'à la valeur nulle à 201,47 BGU. Ensuite, on sort de la valeur nulle à 394,76 BGU pour atteindre 3 NTU à 937,50 BGU. Pour le cas de *Madjeru* malté, la turbidité diminue légèrement pour atteindre 3,22 NTU à 937,5 BGU.

La Figure 2.11B présente l'influence de Bioglucanase TX sur la turbidité des moûts de *Madjeru* non malté et malté ceci en présence de Hitempase 2XL (1875 U) et Brewers Protease (60 mg). En absence cette enzyme, la turbidité est de 12,70 NTU et 5,50 NTU respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté. Pour le cas de *Madjeru* non malté, après ajout de

Bioglucanase TX, on observe une réduction de la turbidité des moûts jusqu'à la valeur minimale de 6,82 NTU à 937,5 BGU. Pour le cas de *Madjeru* malté, la turbidité augmente jusqu'à 7,14 NTU à 937,5 BGU. Une autre observation faite permet de dire qu'un ajout de 777,52 BGU de Bioglucanase TX conduit à la même turbidité de 6,88 NTU aussi bien pour *Madjeru* non malté que pour *Madjeru* malté.

La diminution de la turbidité, suivie de l'augmentation (Figure 2.11A) pour le cas de *Madjeru* non malté, traduit le fait que jusqu'aux quantités en Bioglucanase TX de 201,47 BGU, cette enzyme parvient à solubiliser la quasi-totalité des β -glucanes responsables de la turbidité des mouts. Au-delà de cette concentration (comme pour Hitempase 2XL), un ajout supplémentaire de cette enzyme dans la maïsche ne constituerait qu'une source supplémentaire en la matière colloïdale et donc augmentation de la turbidité des moûts. C'est-à-dire que Bioglucanase TX hydrolyse les liaisons $\beta(1\rightarrow3 ; 1\rightarrow4)$ -glucanes par les extrémités non réductrices en unités de glucose, disaccharide, cellobiose et de laminaribiose (Briggs, 1998) qui, se solubiliseraient par la suite (Kettunen *et al.*, 1996). Pour le cas de *Madjeru* malté, la turbidité est quasi constante avec augmentation en concentration en enzyme (une légère diminution de 0,23 NTU soit d'environ de 6 %). Ces résultats montrent que l'effet de Bioglucanase TX sur la modification du profil de la turbidité des mouts lors du brassage n'est pas important par rapport à celui de l'Hitempase 2XL.

Les résultats pour le cas de *Madjeru* malté (Figure 2.11B) montrent que le maltage mobilise suffisamment des enzymes pour naturellement fragiliser les graines et rendre plus soluble ces macromolécules au point où on n'a plus besoin en Bioglucanase TX supplémentaire lors du brassage. Un apport de plus en cette enzyme ne fait que amplifier la turbidité. Par contre, le besoin en cette enzyme lors du brassage de *Madjeru* non malté dans les conditions décrites en Figure 2.11B pour hydrolyser les liaisons $\beta(1\rightarrow3 ; 1\rightarrow4)$ -glucanes en unités de glucose, disaccharide, cellobiose et de laminaribiose (Briggs, 1998), se fait sentir.

Les modèles mathématiques montrent que, sous sa forme linéaire (X_1), l'impact de Bioglucanase TX sur la turbidité est significatif aussi bien pour la maïsche de *Madjeru* non malté ($P = 0,001$; Tableau 2.11), que pour la maïsche de *Madjeru* malté ($P = 0,042$; Tableau 2.11). L'augmentation observée de la turbidité serait attribuée à l'ensemble d'enzymes synthétisées au cours du maltage. Cette action contribue à 11 % et à 7 % pour le cultivar *Madjeru* non malté et malté respectivement (Figures 2.10A et 2.10B). Sous sa forme quadratique (X_1^2), l'action de Bioglucanase TX (Tableau 2.11) est statistiquement significative pour le cultivar *Madjeru* non malté ($P = 0,021$), et non significative pour le cultivar *Madjeru* malté ($P = 0,906$). Sa contribution à la turbidité sous cette forme

quadratique (X_1^2) est en effet de 10 % et 1 % pour le cultivar *Madjeru* non malté et malté respectivement (Figures 2.10A et 2.10B).

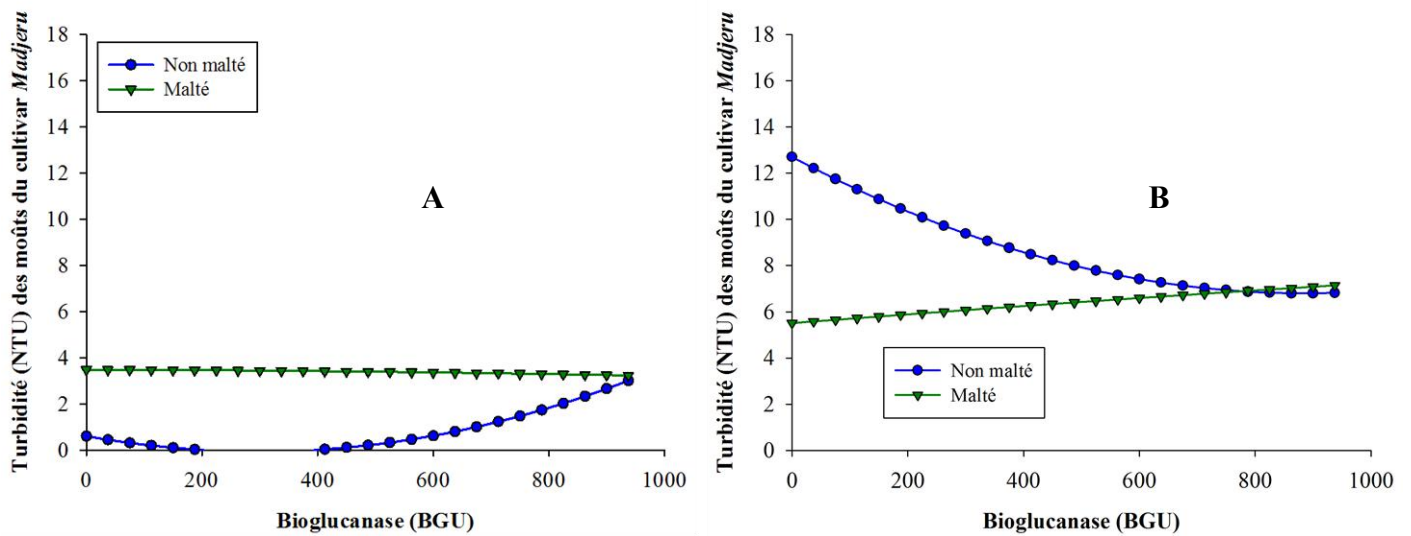


Figure 2.11. (A) : Effet de Bioglucanase (β -Glucanase) sur l'évolution de la turbidité (NTU) des moûts du cultivar *Madjeru*. (B) : Effet de Bioglucanase (β -Glucanase) sur l'évolution de la turbidité (NTU) des moûts du cultivar *Madjeru* en présence de Hitempase (1875 U) et Brewers Protease (60 mg).

La Figure 2.12A présente l'influence de Brewers Protease sur la turbidité des moûts de *Madjeru* non malté et malté. En absence de cette enzyme, la turbidité est de 0,59 NTU et 3,47 NTU respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté. Pour le cas de *Madjeru* non malté, après ajout de Brewers Protease, on observe une augmentation de la turbidité jusqu'à 1,82 NTU à 32,12 mg. Par la suite la turbidité diminue pour atteindre 0 NTU à 71,31 mg. Le cas de *Madjeru* malté conduit à une augmentation de la turbidité après ajout de Brewers Protease ceci, jusqu'à la valeur maximale de 9,34 NTU à 96,80 mg. Par contre, à 100 mg d'enzyme ajoutée, on a une turbidité de 9,33 NTU.

La Figure 2.12B présente l'influence de Brewers Protease sur la turbidité des moûts de *Madjeru* non malté et malté ceci, en présence de Hitempase 2XL (1875 U) et Bioglucanase TX (750 BGU). En absence de cette enzyme, la turbidité est de 3,56 NTU et 4,59 NTU respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté. Après ajout de Brewers Protease, on constate une augmentation de la turbidité aussi bien pour *Madjeru* non malté que pour *Madjeru* malté jusqu'aux valeurs maximales respectives de 6,98 NTU et 6,84 NTU à 53,73 mg et 59,98 mg respectivement. Par la suite la turbidité diminue pour atteindre respectivement 4,44 NTU et 5,84 NTU à 100 mg. En ajoutant 28,14 mg et 65,34 mg de

Brewers Protease dans la maïsche, on obtient aussi bien pour *Madjeru* non malté que pour *Madjeru* malté, les turbidités respectives des moûts de 6,21 NTU et 6,82 NTU.

Pour le cas de *Madjeru* non malté, la faible turbidité (Figure 2.12A) s'explique par les résidus de matières colloïdales qui ont traversé le filtre. Sur la Figure 2.12B, l'obtention de troubles plus importants en absence de Brewers Protease, s'explique par l'hydrolyse incomplète de la maïsche par l' α -amylase et la protéase. L'action d'une protéase sur la maïsche d'une céréale non maltée est d'abord, la libération des granules d'amidon en procédant par une solubilisation du film protéique les entourant. Les premiers produits sont quelques acides aminés et surtout les peptides. Ces derniers vont dans un premier temps augmenter la turbidité avant de subir une solubilisation par la suite sous l'action de Brewers Protease, d'où la diminution de la turbidité.

Pour le cas de *Madjeru* malté, considérant que les constituants de la céréale ont déjà subi une solubilisation partielle lors de la modification pendant le maltage (Hough *et al.*, 1982, Palmer, 1989, Briggs, 1998, Briggs *et al.*, 2004), on a d'emblée des moûts de turbidité plus élevée. Des ajouts supplémentaires en protéase ne vont qu'augmenter la turbidité des moûts issus du brassage.

Les modèles mathématiques montrent que, sous sa forme linéaire (X_1), l'impact de Brewers Protease sur la turbidité est non significatif pour les moûts *Madjeru* non malté ($P = 0,338$; Tableau 2.10), mais significatif pour les moûts de *Madjeru* malté ($P = 0,003$; Tableau 2.10). L'augmentation observée de la turbidité serait attribuée à la multitude d'enzymes synthétisées au cours du maltage. Cette action contribue à 2 % et à 13 % pour le cultivar *Madjeru* non malté et malté respectivement (Figures 2.10A et 2.10B). Sous sa forme quadratique (X_1^2), l'action de Brewers Protease (Tableau 2.11) est statistiquement significative aussi bien pour le cultivar *Madjeru* non malté ($P = 0,000$) que pour le cultivar *Madjeru* malté ($P = 0,002$). Sa contribution à la turbidité sous cette forme quadratique (X_1^2) est en effet de 20 % et 23 % pour le cultivar *Madjeru* non malté et malté respectivement (Figures 2.10A et 2.10B).

Les analyses statistiques (Tableau 2.12) présentent les impacts des interactions (X_1X_2 , X_1X_3 et X_2X_3) entre ces enzymes sur la turbidité des moûts. Les contributions sont présentées dans les Figures 2.13 et 2.14. Elles sont globalement statistiquement significatives pour le cultivar *Madjeru* non malté ($P = 0,007$), mais ne le sont pas pour le cultivar *Madjeru* malté ($P = 0,069$).

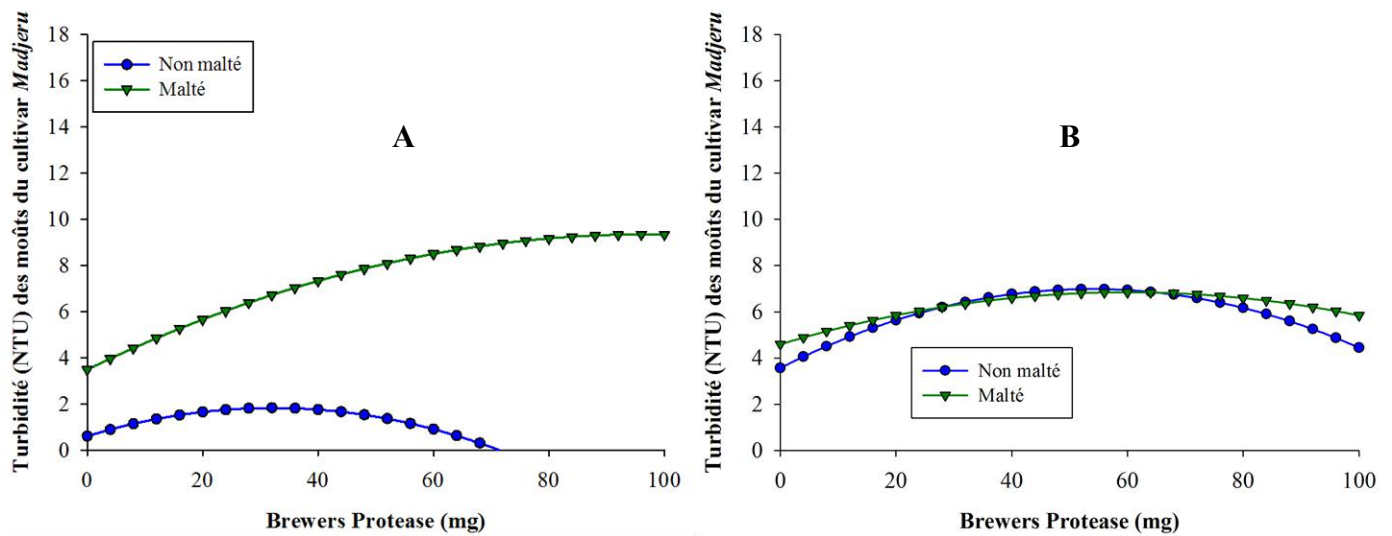


Figure 2.12. (A) : Effet de Brewers Protease sur l'évolution de la turbidité (NTU) des moûts du *Madjeru*. (B) : Effet de la Brewers Protease sur l'évolution de la turbidité (NTU) des moûts du cultivar *Madjeru* en présence de Hitepase (1875 U) et Bioglucanase (750 BGU).

L'interaction X_1X_2 (annexe 2A), correspondant au couple Hitepase 2XL/Bioglucanase TX a un impact significatif sur la maïsche du cultivar *Madjeru* non malté mais elle ne l'a pas pour celle de *Madjeru* malté ($P = 0,002$ et $0,285$ respectivement ; Tableau 2.11). Elle contribue à hauteur de 23 % pour la turbidité des moûts du cultivar *Madjeru* non malté et à hauteur de 7 % pour la turbidité des moûts du cultivar *Madjeru* malté (Figures 2.13 et 2.14).

L'interaction X_1X_3 (annexe 2B), correspondant au couple Hitepase 2XL/Brewers Protease, n'a également aucun impact significatif sur la turbidité des moûts du cultivar *Madjeru* non malté ($P = 0,512$), mais en a sur la turbidité des moûts du cultivar *Madjeru* malté ($P = 0,013$; Tableau 2.11). Sa contribution est de 3 % et 24 % respectivement (Figures 2.13 et 2.14).

L'interaction X_2X_3 (annexe 2C), correspondant au couple Bioglucanase TX/Brewers Protease n'a aucun impact significatif sur la turbidité des moûts aussi bien pour le cultivar *Madjeru* non malté ($P = 0,195$) que pour le cultivar *Madjeru* malté ($P = 0,858$; Tableau 2.11). Sa contribution est de 7 % et 1 % respectivement (Figures 2.13 et 2.14).

Une comparaison faite dans le Tableau 2.13 entre les turbidités des moûts de *Madjeru* non malté et de *Madjeru* malté, montre qu'il n'existe pas de différence significative ($P = 0,232$).

Tableau 2.13 : Analyse de Variance pour comparaison entre les turbidités des moûts de *Madjeru* non malté et malté.

Source	Ddl	Somme des carrés	Carrés moyens	F	Probabilité
Inter-groupes	1	9,462	9,462	1,48	0,2322
Intra-groupes	32	204,164	6,380		
Total	33	213,627			

II-3-2-3) La teneur en sucres réducteurs.

Les sucres sont des éléments indispensables pour la fermentation alcoolique en brasserie car ils constituent la source principale d'énergie pour le métabolisme de la levure. En effet, l'utilisation des enzymes spécifiques conduit à la production, entre autres, des sucres réducteurs suite à leur action sur l'empois d'amidon et d'autres polysaccharides des céréales. Une modélisation autour de ce paramètre se présente donc comme un moyen efficace pour faire des prévisions éventuelles sur la fermentescibilité des moûts.

Les modèles mathématiques obtenus tiennent compte des variables codées (section II-2-6-1) et se présentent comme suit respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté :

$$Y_{MadSRed}(X_1, X_2, X_3) = 102,573 + 21,070X_1 - 4,217X_2 - 7,312X_3 - 12,118X_1X_2 - 0,378X_1X_3 + 5,688X_2X_3 - 45,031X_1^2 - 7,261X_2^2 - 16,534X_3^2 \quad [2.37]$$

$$Y_{MadMSRed}(X_1, X_2, X_3) = 123,077 + 39,421X_1 - 4,181X_2 - 9,230X_3 - 29,849X_1X_2 + 33,635X_1X_3 + 28,583X_2X_3 - 29,835X_1^2 - 11,971X_2^2 - 34,318X_3^2 \quad [2.38]$$

Avec

$Y_{MadSRed}(X_1, X_2, X_3)$ = Modèle mathématique pour le cultivar *Madjeru* non malté dont la réponse est la teneur en sucres réducteurs.

$Y_{MadMSRed}(X_1, X_2, X_3)$ = Modèle mathématique pour le cultivar *Madjeru* malté dont la réponse est la teneur en sucres réducteurs.

X_1 = Hitempase (α -amylase), X_2 = Bioglucanase (β -glucanase) et X_3 = Brewers Protease (Protéase).

Il s'agit des modèles mathématiques polynomiaux à plusieurs variables. Ces modèles sont du second degré avec interactions et leurs caractéristiques sont consignées dans le Tableau 2.14.

Tableau 2.14 : Caractéristiques des modèles mathématiques pour l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des moûts du cultivar *Madjeru* (non malté et malté)

Modèles	R²	AADM	B_f	A_{fi}
$Y_{\text{MadSRed}}(X_1, X_2, X_3)$	0,951	0,067	1,010	1,070
$Y_{\text{MadMSRed}}(X_1, X_2, X_3)$	0,987	0,032	1,000	1,030

Les valeurs de R², AADM, B_f et A_{fi} du tableau 2.14 permettent de valider les modèles pour l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des moûts du cultivar *Madjeru* (non malté et malté), ceci conformément à la littérature (Ross, 1996, Dalgaard and Jorgensen, 1998, Baranyi *et al.*, 1999).

Les facteurs des modèles sont linéaires (X₁, X₂ et X₃), quadratiques (X₁², X₂² et X₃²) et avec interactions (X₁X₂, X₁X₃ et X₂X₃). Ils sont statistiquement considérés significatifs ou non pour l'enrichissement du moût en extrait si la probabilité (P) est de ≤ 0,05 ou ≥ 0,05 respectivement (Tableaux 2.15 et 2.16).

Tableau 2.15 : Estimation des coefficients des modèles pour l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des moûts de *Madjeru*.

Effets	Coefficient		Erreur Standard		t		Probabilité	
	Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté
CONSTANTE	102,573	123,077	3,79	2,304	27,066	53,413	0,000	0,000
X ₁	21,07	39,421	3,898	2,37	5,405	16,631	0,001	0,000
X ₂	-4,217	-4,181	3,399	2,067	-1,074	-1,752	0,318	0,123
X ₃	-7,312	-9,23	3,212	1,953	-1,858	-3,856	0,106	0,006
X ₁ ²	-45,031	-29,835	6,683	4,064	-6,738	-7,342	0,000	0,000
X ₂ ²	-7,261	-11,971	4,864	2,958	-1,12	-3,036	0,300	0,019
X ₃ ²	-16,534	-34,318	4,196	2,551	-2,624	-8,957	0,034	0,000
X ₁ *X ₂	-12,118	-29,849	7,63	4,639	-1,375	-5,572	0,211	0,001
X ₂ *X ₃	5,688	28,583	6,715	4,083	0,599	4,947	0,568	0,002
X ₁ *X ₃	-0,378	33,635	7,951	4,834	-0,039	5,677	0,970	0,001

Tableau 2.16 : Analyse de Variance pour l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des mouts de *Madjeru*.

Source	dl	Somme des carrés		Carrés moyens		F		Probabilité	
		Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté
Régression	9	8675,21	12655,782	963,912	1406,198	15,034	59,323	0,001	0,000
Linéaire	3	4174,58	8636,535	1391,53	2878,845	21,704	121,45	0,001	0,000
Quadratique	3	4337,98	2342,886	1446	780,962	22,553	32,946	0,001	0,000
Interactions	3	162,641	1676,361	54,214	558,787	0,846	23,574	0,511	0,000
Erreur résiduelle	7	448,802	165,928	64,115	23,704				
Erreur totale	16	9124,01	12821,71						

La Figure 2.13A présente l'effet de l'action de Hitempase 2XL sur la teneur en sucres réducteurs des moûts de *Madjeru* non malté et malté. On observe qu'en l'absence de cette enzyme, on a des teneurs en sucres réducteurs de 22,85 g/L et 54,94 g/L respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté. Après ajout de cette enzyme, on a dans un premier temps une augmentation de la teneur en sucres réducteurs jusqu'aux valeurs maximales de 105,40 g/L et 134,59 g/L respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté. Ceci à des activités enzymatiques respectives de 2030,80 U et 2450,80 U. Ensuite, on observe une réduction de la teneur en sucres réducteurs jusqu'à des valeurs respectives de 86,59 g/L et 130,59 g/L à 3000 U.

La Figure 2.13B présente l'effet de l'action de Hitempase 2XL sur la teneur en sucres réducteurs des moûts de *Madjeru* non malté et malté ceci en présence de Bioglucanase (750 BGU) et Brewers Protease (60 mg). On observe qu'en l'absence de cette enzyme, on a des teneurs en sucres réducteurs de 37,52 g/L et 58,44 g/L respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté. Après ajout de cette enzyme, on observe d'abord une augmentation de la teneur en sucres réducteurs jusqu'aux valeurs maximales de 98,47 g/L et 124,92 g/L respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté, à des activités enzymatiques respectives de 1745 U et 2239,10 U. On observe par la suite, une réduction de la teneur en sucres réducteurs jusqu'à des valeurs minimales respectives de 66,94 g/L et 117,24 g/L à 3000 U.

Aussi bien pour le cas de *Madjeru* non malté que pour le cas de *Madjeru* malté, la teneur en sucres réducteurs en absence d'Hitempase 2XL peut s'expliquer d'une part, par la mouture qui favorise et facilite la dissolution des sucres réducteurs résiduels dans la maïsche. D'autre part, en plus de la mouture, la présence de la multitude d'enzymes synthétisées au cours du maltage, permet d'obtenir une teneur en sucres réducteurs plus élevée. En fait, l'amidon est la macromolécule principale du sorgho et le substrat principal de l' α -amylase. Il est donc normal que Hitempase 2XL contribue à la plus grande quantité de sucres réducteurs qui se trouvent dans les moûts (Goode *et al.*, 2003, Phiarais *et al.*, 2006, Desobgo *et al.*, 2010). Ceci permet d'expliquer l'augmentation de la teneur en sucres réducteurs. La réduction peut être expliquée par les réactions de Maillard qui sont le fait des réactions des acides aminés et autres matériaux azotés solubles avec certains des sucres réducteurs (Hough *et al.*, 1982). De ce fait, cela diminue la teneur mesurable en sucres réducteurs. Ces résultats montrent également que la présence de l'enzyme principale du brassage (α -amylase) développée pendant le maltage a amplifié l'efficacité du brassage de cette céréale (Figures 2.13A et 2.13B).

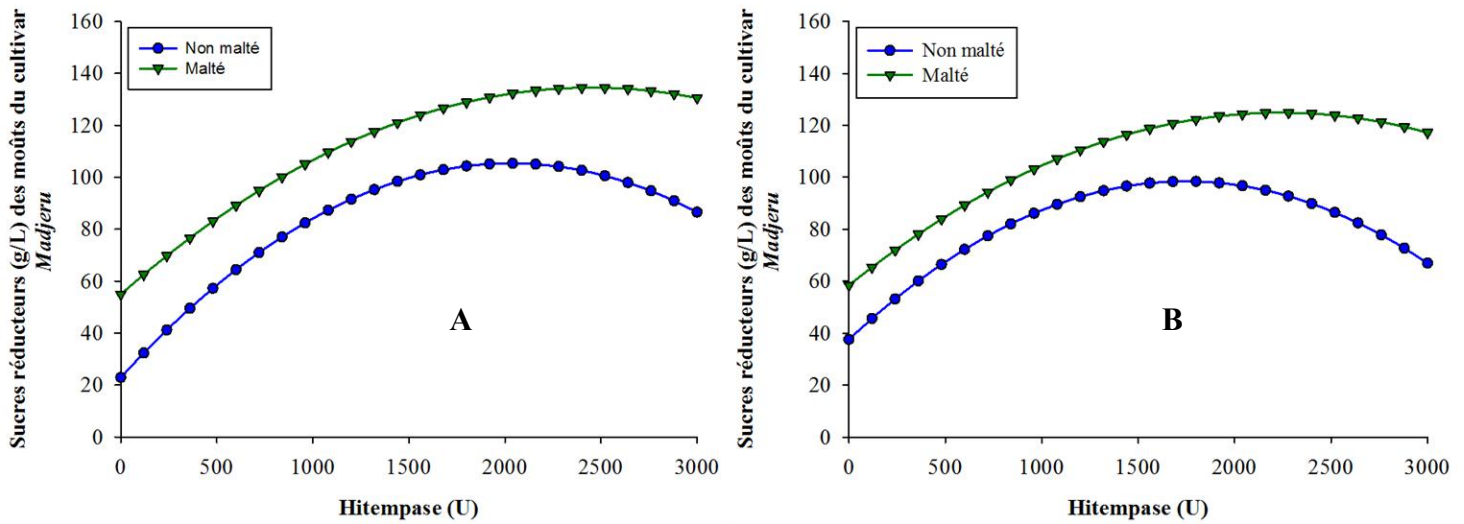


Figure 2.13. (A) : Effet de l'Hitempase 2XL (α -Amylase) sur l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des moûts du cultivar *Madjeru*. (B) : Effet de l'Hitempase 2XL (α -Amylase) sur l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des moûts du cultivar *Madjeru* en présence de Bioglucanase (750 BGU) et Brewers Protease (60 mg).

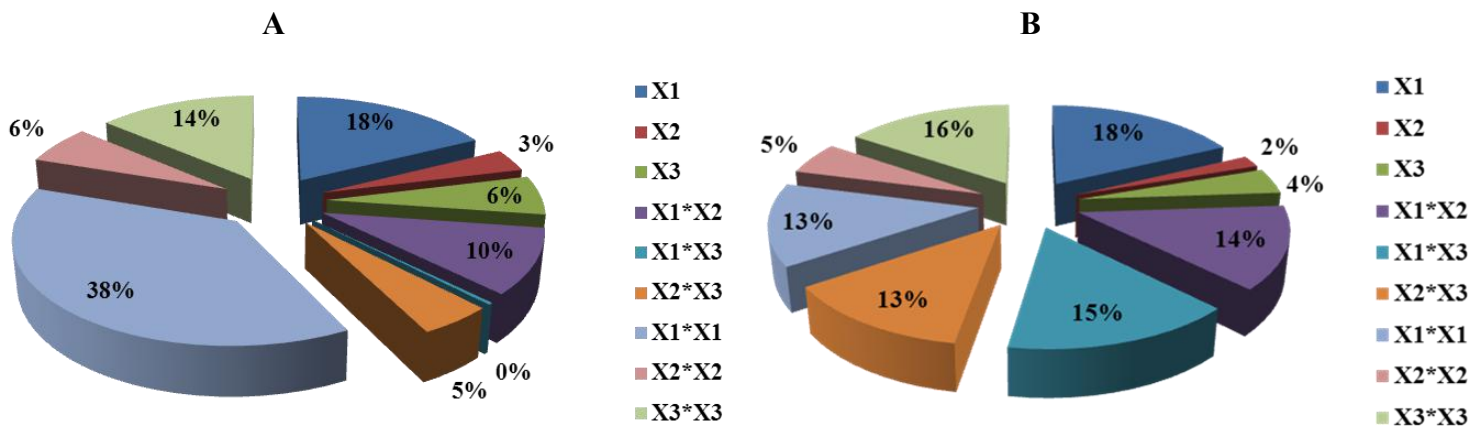


Figure 2.14. (A) : Contribution de chaque facteur sur le comportement général du modèle pour le suivi de la teneur en sucres réducteurs des moûts de *Madjeru* non malté. (B) : Contribution de chaque facteur sur le comportement général du modèle pour le suivi de la teneur en sucres réducteurs des moûts de *Madjeru* malté.

Les modèles mathématiques montrent que, sous sa forme linéaire (X_1), l'action de Hitempase 2XL contribue pour 18% aussi bien pour le cultivar *Madjeru* non malté que pour le cultivar *Madjeru* malté respectivement (Figures 2.14A et 2.14B). Les analyses statistiques ont également montré que cette contribution est significative ($P = 0,001$ et $0,000$ pour le cultivar *Madjeru* non malté que pour le cultivar *Madjeru* malté respectivement ; Tableau 2.15). Sous sa forme quadratique (X_1^2), l'action de Hitempase 2XL est significative ($P = 0,000$) pour le cultivar *Madjeru* non malté et malté (Tableau 2.15). Ceci a confirmé l'observation biologique ci-dessus selon laquelle les suppléments de cette enzyme dans les maïsches du cultivar

Madjeru non malté et malté sont nécessaires. Sa contribution aux sucres réducteurs sous sa forme quadratique (X_1^2) (excès de α -amylase en principe) est en effet 38 % et 13 % pour le cultivar *Madjeru* non malté et malté respectivement (Figures 2.14A et 2.14B).

La Figure 2.15A présente l'effet de l'action de Bioglucanase TX sur la teneur en sucres réducteurs des moûts de *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté. On observe qu'en l'absence de cette enzyme, on a des teneurs en sucres réducteurs de 22,85 g/L et 54,94 g/L respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté. Après ajout de cette enzyme, on a dans un premier temps une légère augmentation de la teneur en sucres réducteurs jusqu'aux valeurs maximales de 31,48 g/L et 66,06 g/L respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté, à des activités enzymatiques respectives de 590,24 BGU et 521,75 BGU. On observe par la suite une réduction de la teneur en sucres réducteurs jusqu'à des valeurs minimales respectives de 28,49 g/L et 59 g/L à 937,5 BGU.

La Figure 2.15B présente l'effet de l'action de Bioglucanase TX sur la teneur en sucres réducteurs des moûts de *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté, en présence d'Hitempase 2XL (1875 U) et Brewers Protease (60 mg). En l'absence de cette enzyme, on a des teneurs en sucres réducteurs de 103,40 g/L et 127,09 g/L respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté. Après ajout de cette enzyme, on a dans un premier temps une légère augmentation de la teneur en sucres réducteurs jusqu'aux valeurs maximales de 104,75 g/L et 131,04 g/L respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté, à des activités enzymatiques respectives de 233,26 BGU et 310,98 BGU. Par la suite une réduction de la teneur en sucres réducteurs s'en suit jusqu'aux valeurs minimales respectives de 92,45 g/L et 115 g/L à 937,5 BGU.

Pour le cas de *Madjeru* non malté, en l'absence de cette enzyme (Figure 2.15A), La quasi-totalité des sucres réducteurs mesurables serait donc due à la mouture. La grande quantité de sucres réducteurs obtenus au départ (absence de Bioglucanase TX) pour la Figure 2.15B est le fait de la présence de Hitempase 2XL. Les légères augmentations de sucres réducteurs sont dues à l'action de Bioglucanase TX et peuvent être attribuées à l'hydrolyse des β -glucanes en glucose et autres hydrates de carbone solubles (Hough *et al.*, 1982, Palmer, 1989, Agu and Palmer, 1998b, Briggs *et al.*, 2004). La réduction des sucres réducteurs quant à elle s'explique par les réactions de Maillard.

Pour le cas de *Madjeru* malté, les justifications sont identiques à celles de *Madjeru* non malté. Sauf qu'ici, l'on note une contribution des enzymes synthétisées au cours du maltage et qui, permettent d'obtenir des moûts plus riches en sucres réducteurs.

Les modèles mathématiques montrent que, sous sa forme linéaire (X_2), l'action de Bioglucanase TX n'est pas significative ($P = 0,318$ et $0,123$ pour le cultivar *Madjeru* non malté et malté respectivement ; Tableau 2.15). Les Figures 2.14A et 2.14B montrent que cette enzyme contribue simplement à 3 % et à 2 % pour le cultivar *Madjeru* non malté et malté respectivement. Sous sa forme quadratique (X_2^2) (excès d'enzyme en principe), Bioglucanase TX contribue à 6 % et à 5 % pour le cultivar *Madjeru* non malté et malté respectivement (Figures 2.14A et 2.14B). Cette contribution n'est pas statistiquement significative pour *Madjeru* non malté, mais l'est pour *Madjeru* malté ($P = 0,300$ et $0,019$ respectivement ; Tableau 2.15).

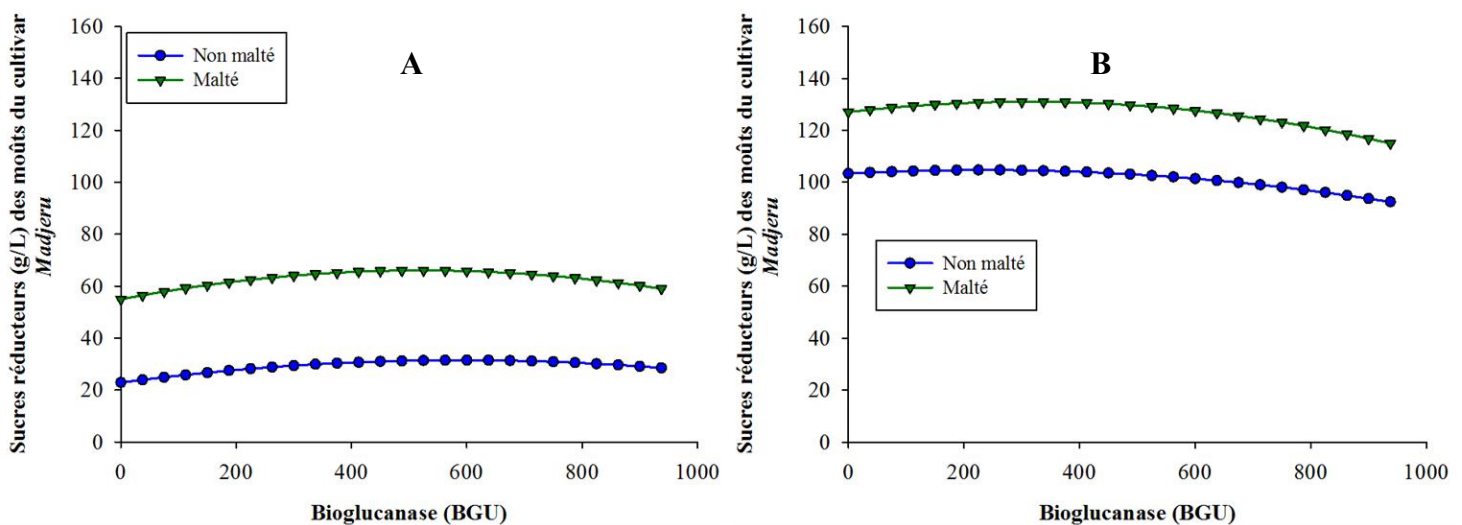


Figure 2.15. (A) : Effet de la Bioglucanase (β -Glucanase) sur l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des moûts du cultivar *Madjeru*. (B) : Effet de la Bioglucanase (β -Glucanase) sur l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des moûts du cultivar *Madjeru* en présence d'Hitempase (1875 U) et Brewers Protease (60 mg).

La Figure 2.16A présente l'effet de l'action de Brewers Protease sur la teneur en sucres réducteurs des moûts de *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté. On observe qu'en l'absence de cette enzyme, on a des teneurs en sucres réducteurs de 22,85 g/L et 54,94 g/L respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté. Après ajout de cette enzyme, pour le cas de *Madjeru* non malté, on a dans un premier temps une légère augmentation de la teneur en sucres réducteurs jusqu'à la valeur maximale de 26,31 g/L à 28,02 mg. Ensuite, il y a une décroissance de la courbe jusqu'à une teneur en sucres réducteurs de 3,49 g/L à 100 mg d'enzyme ajoutée. Pour le cas de *Madjeru* malté, on observe une décroissance immédiate avec l'ajout de Brewers Protease, ceci jusqu'à une teneur nulle à 67,85 mg. Un ajout de 48,25

mg de Brewers Protease dans la maïsche conduit à une teneur en sucres réducteurs des moûts de 24,50 g/L ceci, aussi bien pour *Madjeru* non malté que pour *Madjeru* malté.

La Figure 2.16B présente l'effet de l'action de Brewers Protease sur la teneur en sucres réducteurs des moûts de *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté, en présence d'Hitempase 2XL (1875 U) et Bioglucanase TX (750 BGU). En l'absence de cette enzyme, on a des teneurs en sucres réducteurs de 91,92 g/L et 87,48 g/L respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté. Après ajout de cette enzyme, on a dans un premier temps une augmentation de la teneur en sucres réducteurs jusqu'aux valeurs maximales de 99,60 g/L et 123,22 g/L respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté, à des quantités enzymatiques respectives de 41,75 mg et 62,52 mg. Ensuite une réduction de la teneur en sucres réducteurs s'en suit jusqu'aux valeurs minimales respectives de 84,65 g/L et 110,38 g/L à 100 mg. A un ajout de 5,93 mg de Brewers Protease, on a une égale teneur en sucres réducteurs de 93,95 g/L dans les moûts aussi bien de *Madjeru* non malté que de *Madjeru* malté.

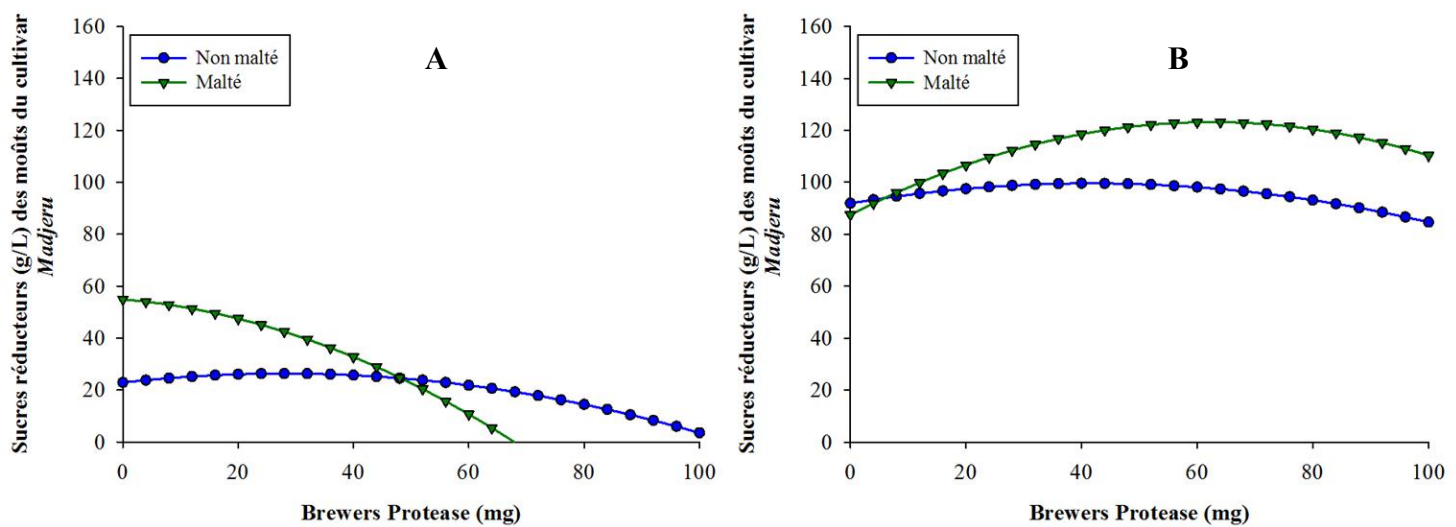


Figure 2.16. (A) : Effet de la Protéase sur l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des moûts de *Madjeru*. (B) : Effet de la Protéase sur l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des moûts de *Madjeru* en présence d'Hitempase (1875 U) et Bioglucanase (750 BGU).

En absence de Brewers Protease, la présence de tous les sucres réducteurs dans les moûts (Figures 2.16A et 2.16B) serait due à la mouture (qui permet une meilleure dissolution des sucres réducteurs résiduels de la céréale) pour ce qui est de *Madjeru* non malté, et aux opérations de maltage et mouture pour ce qui est de *Madjeru* malté. L'augmentation de la teneur en sucres réducteurs due à Brewers Protease s'expliquerait par l'hydrolyse des

protéines qui contribuerait à la libération des sucres qui était emprisonnés. La réduction de la teneur en sucres réducteurs est quant à elle, le fait des réactions de Maillard.

Les modèles mathématiques montrent que, sous sa forme linéaire (X_3), l'impact de Brewers Protease n'est pas significatif pour le cultivar *Madjeru* non malté mais l'est pour le cultivar *Madjeru* malté ($P = 0,106$ et $0,006$ respectivement ; Tableau 2.15). Sa contribution est de 6 % et 4 % respectivement (Figures 2.14A et 2.14B). L'impact de l'enzyme sous sa forme quadratique (X_3^2), est significatif aussi bien pour le cultivar *Madjeru* non malté que pour le cultivar *Madjeru* malté ($P = 0,034$ et $0,000$ respectivement ; Tableau 2.15). Sa contribution est de 14 % et 16 % respectivement (Figures 2.14A et 2.14B).

Les impacts des interactions (X_1X_2 , X_1X_3 et X_2X_3) entre ces enzymes sur la teneur sucres réducteurs sont présentés dans les Figures 2.14A et 2.14B. Ils ne sont pas statistiquement pas significatifs pour *Madjeru* non malté ($P = 0,511$; Tableau 2.16), mais le sont pour *Madjeru* malté ($P = 0,000$; Tableau 2.16).

L'interaction X_1X_2 (annexe 3A), correspondant au couple Hitempase 2XL/Biogluconase TX n'a aucun impact significatif sur la maïsche du cultivar *Madjeru* non malté mais l'a pour celle de *Madjeru* malté ($P = 0,211$ et $0,001$ respectivement ; Tableau 2.15). Elle contribue à 10 % pour la teneur en sucres réducteurs des moûts du cultivar *Madjeru* non malté et à 14 % pour la teneur en sucres réducteurs des moûts du cultivar *Madjeru* malté (Figures 2.14A et 2.14B). Cependant connu pour être l'enzyme spécifique de l'hydrolyse de l'amidon, l'action de Hitempase est meilleure quand les β -glucanes des grains de céréale sont hydrolysées par les β -glucanases, hémi-cellulases et cellulases, pour libérer des granules d'amidon. Cette séquence d'opérations, pendant le maltage, est confirmée par les modèles mathématiques ci-dessus.

L'interaction X_1X_3 (annexe 3B), correspondant au couple Hitempase 2XL/Brewers Protease, n'a également aucun impact significatif sur la teneur en sucres réducteurs des moûts du cultivar *Madjeru* non malté ($P = 0,970$), mais en a sur la teneur en sucres réducteurs des moûts du cultivar *Madjeru* malté ($P = 0,001$; Tableau 2.15). Sa contribution est de 0 % et 15 % respectivement (Figures 2.14A et 2.14B). Ce résultat est une fois de plus conforme à l'ordre biologique se produisant pendant le maltage. L'hydrolyse efficace de l'amidon par l' α -amylase se produit en effet seulement après l'hydrolyse des β -glucanes par les β -glucanases, suivie de la libération des granules d'amidon due à la protéolyse de la matrice protéique les enrobant.

L'interaction X_2X_3 (annexe 3C), correspondant au couple Biogluconase TX/Brewers Protease n'a aucun impact significatif sur la teneur en sucres réducteurs des moûts du cultivar

Madjeru non malté, mais l'a pour ceux du cultivar *Madjeru* malté (P = 0,568 et 0,002 respectivement ; Tableau 2.15). Sa contribution est de 5 % et 13 % respectivement (Figures 2.14A et 2.14B). Ces faibles contributions par les couples (Bioglucanase/Brewers Protease) étaient prévisibles, étant donné que ces deux enzymes jouent seulement un rôle de soutien au cours de l'hydrolyse de l'amidon pendant le brassage (Desobgo *et al.*, 2010).

Le Tableau 2.17 confirme statistiquement l'observation selon laquelle les moûts de *Madjeru* malté associés aux enzymes ont un meilleur potentiel en sucres réducteurs que ceux de *Madjeru* non malté associés aux enzymes (P = 0,037).

Tableau 2.17 : Analyse de Variance pour comparaison entre les sucres réducteurs des moûts de *Madjeru* non malté et malté.

Source	Ddl	Somme des carrés	Carrés moyens	F	Probabilité
Inter-groupes	1	3224,25	3224,25	4,7	0,037
Intra-groupes	32	21945,7	685,804		
Total	33	25170			

II-3-2-4) La teneur en acides aminés libres.

Dans un moût, les composés azotés à faible poids moléculaire, dont les acides aminés libres en particuliers, sont indispensables pour un bon déroulement de la fermentation. Ces acides aminés libres proviennent de l'action des protéases (enzymes protéolytiques) sur les protéines lors du brassage. La teneur en acides aminés libres serait donc déterminante non seulement pour le pouvoir fermenteur de la levure, mais également pour la saveur de la bière (Briggs *et al.*, 2004). Il est donc important de modéliser et optimiser la teneur de ce paramètre clé de la fermentation de la bière.

Les modèles mathématiques obtenus tiennent compte des variables codées (section II-2-6-1) et se présentent comme suit respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté :

$$Y_{MadAAL}(X_1, X_2, X_3) = 63,504 + 15,411X_1 + 8,487X_2 + 18,418X_3 - 3,798X_1X_2 + 3,976X_1X_3 + 7,807X_2X_3 - 7,747X_1^2 + 25,922X_2^2 - 8,636X_3^2 \quad [2.39]$$

$$Y_{MadMAAL}(X_1, X_2, X_3) = 94,807 + 23,771X_1 + 12,745X_2 + 28,311X_3 - 6,875X_1X_2 + 7,478X_1X_3 + 12,315X_2X_3 - 11,261X_1^2 + 39,639X_2^2 - 11,983X_3^2 \quad [2.40]$$

$Y_{MadAAL}(X_1, X_2, X_3)$ = Modèle mathématique pour le cultivar *Madjeru* non malté dont la réponse est la teneur en acides aminés libres (AAL).

$Y_{\text{MadMAAL}}(X_1, X_2, X_3)$ = Modèle mathématique pour le cultivar *Madjeru* malté dont la réponse est la teneur en acides aminés libres (AAL).

X_1 = Hitempase (α -amylase), X_2 = Bioglucanase (β -glucanase) et X_3 = Brewers Protease (Protéase).

Il s'agit des modèles mathématiques polynomiaux à plusieurs variables. Ces modèles sont du second degré avec interactions et leurs caractéristiques sont consignées dans le tableau 2.18.

Tableau 2.18 : Caractéristiques des modèles mathématiques pour l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts du cultivar *Madjeru* (non malté et malté)

Modèles	R^2	AADM	B_f	A_{f1}
$Y_{\text{MadAAL}}(X_1, X_2, X_3)$	0,973	0,037	1,000	1,000
$Y_{\text{MadMAAL}}(X_1, X_2, X_3)$	0,974	0,036	1,000	1,000

Les valeurs de R^2 , AADM, B_f et A_{f1} permettent de valider les modèles pour l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des moûts du cultivar *Madjeru* (non malté et malté), ceci conformément à la littérature (Ross, 1996, Dalgaard and Jorgensen, 1998, Baranyi *et al.*, 1999).

Les facteurs des modèles sont linéaires (X_1 , X_2 et X_3), quadratiques (X_1^2 , X_2^2 et X_3^2) et avec interactions (X_1X_2 , X_1X_3 et X_2X_3). Ils sont statistiquement considérés significatifs ou non pour les AAL des moûts si la probabilité (P) est de $\leq 0,05$ ou $\geq 0,05$ respectivement (Tableaux 2.19 et 2.20).

Tableau 2.19 : Estimation des coefficients des modèles pour l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts de *Madjeru*.

Effets	Coefficient		Erreur Standard		t		Probabilité	
	Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté
CONSTANTE	63,504	94,807	2,047	3,024	31,026	31,347	0,000	0,000
X ₁	15,411	23,771	2,106	3,111	7,319	7,641	0,000	0,000
X ₂	8,487	12,745	1,836	2,713	4,003	4,069	0,005	0,005
X ₃	18,418	28,311	1,735	2,563	8,663	9,012	0,000	0,000
X ₁ ²	-7,747	-11,261	3,61	5,334	-2,146	-2,111	0,069	0,073
X ₂ ²	25,922	39,639	2,627	3,882	7,4	7,658	0,000	0,000
X ₃ ²	-8,636	-11,983	2,266	3,348	-2,538	-2,383	0,039	0,049
X ₁ *X ₂	-3,798	-6,875	4,121	6,089	-0,798	-0,978	0,451	0,361
X ₂ *X ₃	7,807	12,315	3,627	5,359	1,521	1,624	0,172	0,148
X ₁ *X ₃	3,976	7,478	4,294	6,345	0,756	0,962	0,475	0,368

Tableau 2.20 : Analyse de Variance pour l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts de *Madjeru*.

Source	dl	Somme des carrés		Carrés moyens		F		Probabilité	
		Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté
Régression	9	4697,665	10845,612	521,963	1205,068	27,908	29,51	0,000	0,000
Linéaire	3	3323,582	7688,072	1107,861	2562,691	59,235	62,756	0,000	0,000
Quadratique	3	1311,862	2987,332	437,287	995,777	23,381	24,385	0,001	0,000
Interactions	3	62,221	170,208	20,74	56,736	1,109	1,389	0,407	0,323
Erreur résiduelle	7	130,919	285,848	18,703	40,835				
Erreur totale	16	4828,585	11131,46						

La Figure 2.17A présente l'influence de Hitempase 2XL sur la teneur en acides aminés libres (AAL) des moûts de *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté. En absence de cette enzyme, la teneur en AAL est de 37,12 mg/L et 56,26 mg/L respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté. Après ajout de cette enzyme, on note une augmentation de la teneur en acides aminés des moûts jusqu'aux valeurs respectives de 68,04 mg/L et 103,51 mg/L à 3000 U.

La Figure 2.17B présente l'influence de Hitempase 2XL sur la teneur en AAL des moûts de *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté ceci, en présence de Bioglucanase TX (750 BGU) et Brewers Protease (60 mg). Il ressort que, en absence de cette enzyme, la teneur en AAL est respectivement de 56,51 mg/L et 84,79 mg/L. Ces teneurs augmentent avec l'ajout d'Hitempase 2XL jusqu'aux valeurs respectives de 84,68 mg/L et 127,63 mg/L à 3000 U.

Il est important de souligner que les acides aminés libres sont hydrosolubles et, vont aussitôt se dissoudre dès que le grist (farine) de *Madjeru* non malté ou *Madjeru* malté sera mélangé avec de l'eau chaude pendant le brassage, d'où les valeurs élevées d'AAL à l'origine qui sont imputables à la mouture (qui facilite la dissolution des AAL au cours du brassage) pour le cultivar *Madjeru* non malté, et la mouture et le maltage pour le pour le cultivar *Madjeru* malté. Les protéines des céréales sont étroitement associées aux granules d'amidon, d'où une solubilisation partielle ou totale de l'amidon sera donc étroitement suivie par une libération des AAL. Ceci expliquerait les teneurs importantes en AAL observées pour les deux types d'échantillons dès la dissolution en présence d'Hitempase 2XL. En effet, bien que Hitempase 2XL ne soit pas une enzyme qui hydrolyse les protéines, elle expose des fonctions aminées lors de son action sur les granules d'amidon. Ceci peut expliquer l'augmentation de la teneur en AAL observée avec l'augmentation de la concentration en Hitempase 2XL (Figures 2.17A et 2.17B). La teneur plus élevée d'AAL pour les moûts du cultivar *Madjeru* malté par rapport à ceux du cultivar *Madjeru* non malté est une fois de plus, attribuée aux vertus normales du procédé de maltage.

Les modèles montrent également que Hitempase 2XL, sous sa forme linéaire (X_1), contribue pour 15 % de la teneur en AAL des moûts aussi bien du cultivar *Madjeru* non malté que du cultivar *Madjeru* malté (Figures 2.18A et 2.18B). Cette contribution est statistiquement significative pour les deux types de moûts ($P = 0,000$; Tableau 2.18). Sous sa forme quadratique (X_1^2), l'effet de Hitempase 2XL est non significatif pour les deux types de moûts ($P = 0,069$ et $0,073$ respectivement ; Tableau 2.18). Sa contribution sous cette forme est de 8 % et 7 % respectivement (Figures 2.18A et 2.18B). Une supplémentation en excès de Hitempase 2XL est pour ce cas sans intérêt technologique.

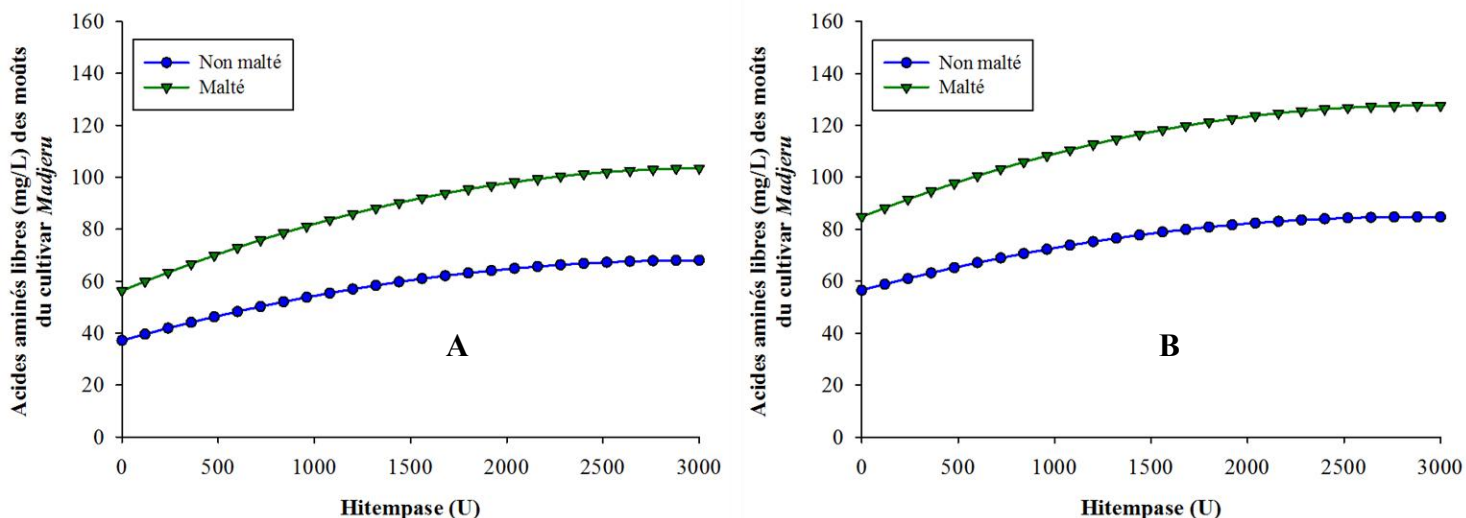


Figure 2.17. (A) : Effet de l'Hitepase (α -Amylase) sur l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts du cultivar *Madjeru*. (B) : Effet de l'Hitepase (α -Amylase) sur l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts du cultivar *Madjeru* en présence de Bioglucanase (750 BGU) Brewers Protease (60 mg).

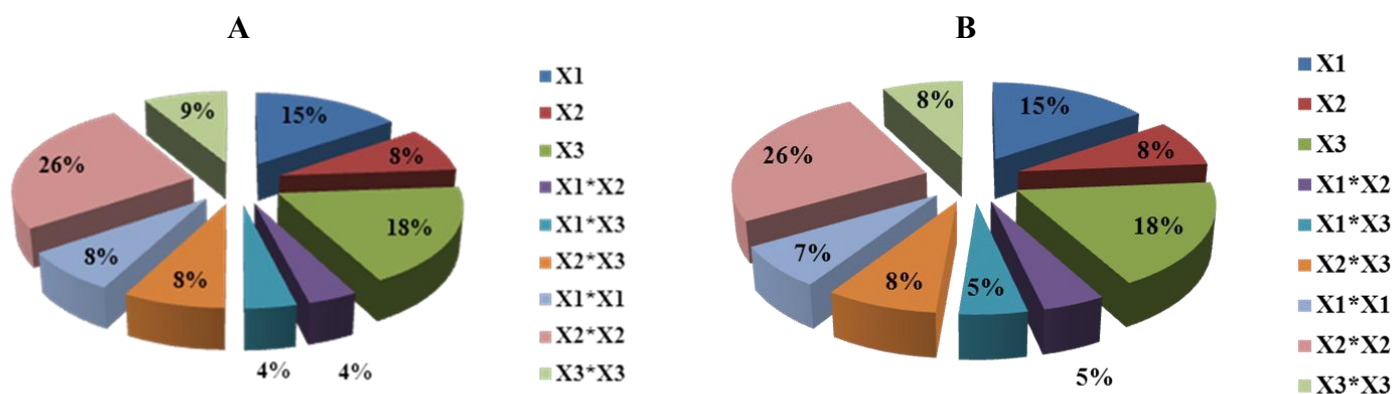


Figure 2.18. (A) : Contribution de chaque facteur sur le comportement général du modèle pour le suivi de la teneur en acides aminés libres des moûts de *Madjeru* non malté. (B) : Contribution de chaque facteur sur le comportement général du modèle pour le suivi de la teneur en acides aminés libres des moûts de *Madjeru* malté.

La Figure 2.19A montre l'effet de Bioglucanase TX sur la teneur en AAL des moûts de *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté. En absence de cette enzyme, la teneur en AAL est de 37,12 mg/L et 56,26 mg/L respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté. Après ajout de Bioglucanase TX dans la maïsche, on observe une diminution de la teneur en AAL jusqu'aux valeurs minimales de 22,47 mg/L et 34,25 mg/L respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté et, à des activités respectives de 407 BGU et 403,43 BGU. Ensuite, la teneur en AAL augmente respectivement jusqu'à 47,37 mg/L et 72,83 mg/L, à 937,5 BGU.

La Figure 2.19B montre l'effet de Bioglucanase TX sur la teneur en AAL des moûts de *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté ceci, en présence d'Hitempase 2XL (1875 U) et Brewers Protease (60 mg). En absence de cette enzyme, la teneur en AAL est de 81,62 mg/L et 123,09 mg/L respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté. Après ajout de Bioglucanase TX dans la maïsche, on a une diminution de la teneur en AAL jusqu'aux valeurs minimales de 69,06 mg/L et 103,58 mg/L respectivement et, à des activités respectives de 376,75 BGU et 379,78 BGU. Ensuite, la teneur en AAL augmente respectivement jusqu'à 96,88 mg/L et 145,66 mg/L, à 937,5 BGU.

Les quantités d'AAL obtenus en absence de Bioglucanase TX s'expliquent comme pour le cas précédent par la mouture pour le sorgho non malté, et la mouture et le maltage pour le sorgho malté. La diminution initiale de ces acides aminés libres s'explique par les réactions de Maillard qui s'opèrent avec les sucres dès dissolution de la farine (grist) moulu dans l'eau de brassage. L'augmentation en AAL à la suite d'ajouts en Bioglucanase TX au-delà des valeurs optimales, serait due à une hydrolyse croissante de β -glucanes des parois cellulaires. Ceci exposerait d'avantage les granules d'amidon enrobés des protéines ainsi que autres matières azotés solubles. L'écart entre les teneurs en AAL des moûts de *Madjeru* malté et celles de *Madjeru* non malté suite à l'action de la Bioglucanase TX à des concentrations croissantes, montre que le processus de maltage permet naturellement une extraction plus importante en matières solubles lors du brassage.

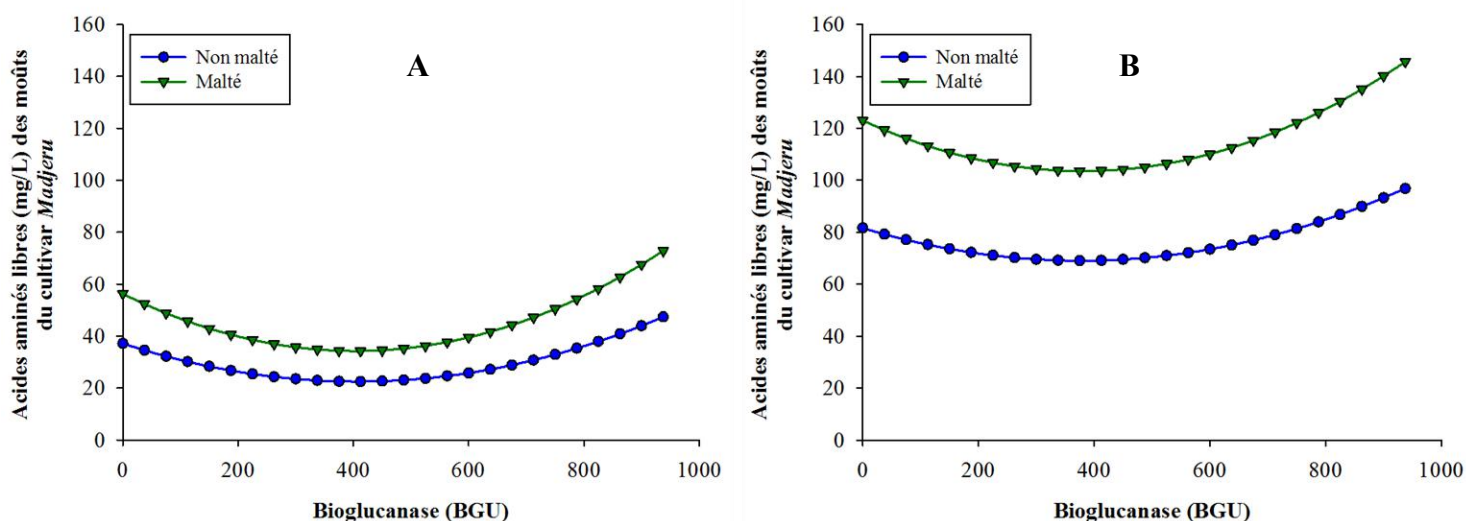


Figure 2.19. (A) : Effet de la Bioglucanase (β -Glucanase) sur l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts du cultivar *Madjeru*. (B) : Effet de la Bioglucanase (β -Glucanase) sur l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts du cultivar *Madjeru* en présence d'Hitempase (1875 U) et Brewers Protease (60 mg).

Selon les modèles, l'enzyme Bioglucanase TX (X_2), sous sa forme linéaire, contribue à hauteur de 8 % de la teneur en AAL des moûts aussi bien pour le cultivar *Madjeru* non malté que pour le cultivar *Madjeru* malté (Figures 2.18A et 2.18B). Cette contribution est statistiquement significative pour les deux types de moûts ($P = 0,005$; Tableau 2.19). De même, sous sa forme quadratique (X_2^2), l'effet de l'enzyme est demeuré significatif pour les deux types de moûts ($P = 0,000$; Tableau 2.19). Sa contribution sous cette forme est de 26 % aussi bien pour le cultivar *Madjeru* non malté que pour le cultivar *Madjeru* malté (Figures 2.18A et 2.18B).

La Figure 2.20A présente l'effet de Brewers Protease sur la teneur en AAL des moûts de *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté. A l'origine, la teneur en AAL est de 37,12 mg/L et 56,26 mg/L respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté. Après ajout de cette enzyme, la teneur en AAL augmente et atteint des valeurs maximales respectives de 50,85 mg/L et 74,67 mg/L à 77,25 mg et 76,10 mg de Brewers Protease ajoutée respectivement. A 100 mg de cette enzyme ajoutée, on obtient respectivement 49,66 mg/L et 72,86 mg/L.

La Figure 2.20B présente l'effet de Brewers Protease sur la teneur en AAL des moûts de *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté ceci, en présence d'Hitempase 2XL (1875 U) et Bioglucanase TX (750 BGU). En absence de cette enzyme, la teneur en AAL est de 52,88 mg/L et 78,67 mg/L respectivement pour *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté. Après ajout de cette enzyme, la teneur en AAL augmente et atteint des valeurs maximales respectives de 91,18 mg/L et 138,37 mg/L à 100 mg de Brewers Protease ajoutée.

Comme pour les autres cas, la quantité d'AAL au départ est le fait de la mouture pour *Madjeru* non malté et, le maltage et la mouture pour *Madjeru* malté. Pour ce qui est de l'augmentation, le rôle de cette enzyme est l'hydrolyse des protéines avec production des acides aminés et des peptides à courtes chaînes (Briggs *et al.*, 2004), d'où l'enrichissement des moûts en acides aminés libres. Pour ce qui est du cultivar *Madjeru* malté, en plus de l'action de Brewers Protease, celle de carboxypeptidase (la β -glucane-solubilase) naturellement synthétisée lors du maltage intervient pour augmenter d'avantage la teneur en AAL. Ceci explique l'écart entre *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté. La Figure 2.20B montre l'importance du besoin de toutes les enzymes brassicoles afin d'obtenir de plus grandes teneurs en AAL.

Les modèles mathématiques montrent que, sous sa forme linéaire (X_3), l'impact de Brewers Protease est significatif pour les deux types de moûts ($P = 0,000$ pour tous les deux ; Tableau 2.19). Sa contribution sur le teneur la AAL sous cette forme est de 18 % aussi bien pour les moûts du cultivar *Madjeru* non malté que pour les moûts du cultivar *Madjeru* malté

(Figures 2.18A et 2.18B). L'effet de cette enzyme sous sa forme quadratique (X_3^2) est significatif pour les deux types de moûts ($P = 0,039$ et $0,049$ respectivement ; Tableau 2.19). Sa contribution est de 9 % pour les moûts du cultivar *Madjeru* non malté et 8 % pour les moûts du cultivar *Madjeru* malté (Figures 2.18A et 2.18B).

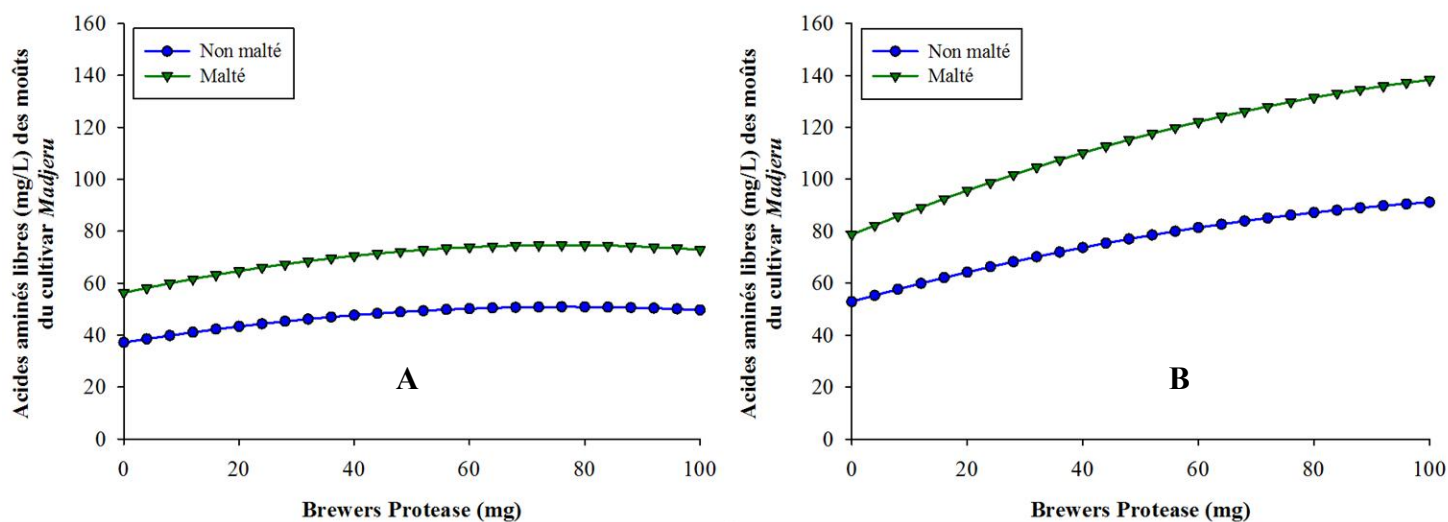


Figure 2.20. (A) : Effet de la Protéase sur l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts du cultivar *Madjeru*. (B) : Effet de la Protéase sur l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts du cultivar *Madjeru* en présence d'Hitempase (1875 U) et Bioglucanase (750 BGU).

L'analyse statistique des modèles montre que globalement les interactions entre ces enzymes (X_1X_2 , X_1X_3 et X_2X_3) sur la teneur en AAL ne sont pas significatives ($P = 0,407$ pour le cultivar *Madjeru* non malté et $P = 0,323$ pour le cultivar *Madjeru* malté ; Tableau 2.20). Leurs contributions la teneur en AAL sont présentées dans les Figures 2.18A et 2.18B.

L'effet de l'interaction X_1X_2 (Hitempase 2XL/Bioglucanase TX) (annexe 4A) n'est pas significative pour les deux types de moûts ($P = 0,451$ pour le cultivar *Madjeru* non malté et $P = 0,361$ pour le cultivar *Madjeru* malté ; Tableau 2.19). Sa contribution sur la teneur en AAL dans les deux types de moûts est de 4 % et 5 % respectivement (Figures 2.18A et 2.18B).

L'impact du couple X_1X_3 (Hitempase 2XL/Brewers Protease) (annexe 4B) n'est également pas significatif pour les deux types de moûts ($P = 0,475$ pour le cultivar *Madjeru* non malté et $P = 0,368$ pour le cultivar *Madjeru* malté ; Tableau 2.19). Sa contribution sur la teneur en AAL dans les deux types de moûts est de 5 % et 4 % respectivement (Figures 2.18A et 2.18B).

Pour le couple X₂X₃ (Bioglucanase TX/Brewers Protease) (annexe 4C), l'impact de l'interaction est également non significatif pour les deux types de moûts (P = 0,172 pour *Madjeru* non malté et P = 0,148 pour *Madjeru* malté ; tableau 2.19), Sa contribution sur la teneur en AAL dans les deux types de moûts est de 8 % aussi bien pour *Madjeru* non malté que pour *Madjeru* malté (Figures 2.18A et 2.18B).

Le Tableau 2.21 confirme l'observation selon laquelle, *Safrari* malté a un meilleur potentiel en AAL (P = 0,000).

Tableau 2.21 : Analyse de Variance pour comparaison entre les acides aminés libres des moûts de *Madjeru* non malté et malté.

Source	Ddl	Somme des carrés	Carrés moyens	F	Probabilité
Inter-groupes	1	8813,2	8813,2	17,67	0,000
Intra-groupes	32	15960	498,751		
Total	33	24773,2			

II-4 CONCLUSION PARTIELLE.

L'objectif de ce chapitre a été d'investiguer l'impact des enzymes commerciales via la modélisation mathématique sur les caractéristiques physico-chimiques de *Madjeru*. Malgré la potentialité brassicole de *Madjeru*, la synthèse enzymatique au cours du maltage de ce cultivar est insuffisante. Les effets de trois enzymes brassicoles (Hitempase 2XL, Bioglucanase TX et Brewers Protease) sur des rendements d'extrait, la turbidité, la teneur en sucres réducteurs et la teneur en acides aminés libres ont été étudiés au cours du brassage du cultivar *Madjeru* (non malté et malté). Hitempase 2XL était principalement responsable des rendements élevés en extraits pour les maïsches du cultivar *Madjeru* non malté mais, son impact sur les maïsches du cultivar *Madjeru* malté était moindre. Bioglucanase TX n'a joué aucun rôle, alors que la Brewers Protease montrait les contributions limitées sur les rendements en extrait. La modélisation a prouvé que Hitempase 2XL était le composant le plus important pour l'obtention des teneurs élevées en sucres réducteurs. Elle a également prouvé que Brewers Protease était après Hitempase 2XL, une enzyme importante pour les rendements croissants de sucres réducteurs. Bioglucanase TX n'était pas indispensable. Hitempase 2XL et Brewers Protease ont également individuellement contribué aux rendements élevés en acides aminés libres du cultivar *Madjeru*, bien que la mouture ait eu un

impact sur les deux maïsches. L'ajout de ces enzymes brassicoles commerciales à doses identiques démontre que le maltage reste un processus incontournable afin de mieux exprimer le rôle des enzymes sur les caractéristiques physico-chimiques des moûts provenant du cultivar *Madjeru*.

CHAPITRE III : MODÉLISATION DE L'ACTION DES HYDROLASES SUR QUELQUES CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES MOÛTS DE *SAFRARI*.

III-1) INTRODUCTION.

Le sorgho sous sa forme maltée ou sous forme de grains crus est devenu une céréale potentielle de brassage en particulier dans les tropiques où l'orge n'est pas cultivée (Taylor, 1983, Aisien and Muts, 1987, Arri, 1989, Palmer, 1989, Adejemiua, 1995). Son faible potentiel en enzymes brassicoles (Aisien, 1982, EtokAkpan and Palmer, 1990, Dufour *et al.*, 1992, Agu and Palmer, 1998b, Nso *et al.*, 2003, Nso *et al.*, 2006) dû à leur pauvre développement pendant le maltage a été à l'origine de l'utilisation des enzymes commerciales brassicoles en tant que suppléments (Bajomo and Young, 1992, Bajomo and Young, 1994, Agu and Palmer, 1998a, Goode *et al.*, 2002, Goode and Arendt, 2003, Goode *et al.*, 2003) afin d'obtenir de plus grands rendements en extrait et, d'autres caractéristiques importantes des moûts au cours de brassage. L'approche de la modélisation et de l'optimisation pour améliorer les propriétés des moûts de blé, de sorgho et les malts de sarrasin a récemment apporté plus de lumière dans le rôle précis joué par ces enzymes commerciales brassicoles (Goode *et al.*, 2003, Phiarais *et al.*, 2006, Desobgo *et al.*, 2010). Il n'est pas cependant clair si l'utilisation de ces enzymes afin d'obtenir des caractéristiques optimales des moûts de sorgho non malté et malté est indispensable.

Dans le cadre de ce travail, comme pour le cas de *Madjeru* non malté et malté, les enzymes brassicoles commerciales retenues sont : une α -amylase (Hitempase), une β -glucanase (Bioglucanase) et une protéase (Brewers Protease). Le pouvoir diastasique et les activités enzymatiques seront déterminés. Les caractéristiques brassicoles mesurées sont : l'extrait exprimé en degré Plato ($^{\circ}$ P) et en degré litre par kilogramme ($^{\circ}$ L/Kg), l'extrait à chaud (HWE), la couleur (EBC), la teneur en sucres réducteurs (g/L), la turbidité (NTU), la densité et la teneur en acides aminés libres (mg/L). Celles qui ont fait l'objet d'une modélisation sont : l'extrait ($^{\circ}$ P), la teneur en sucres réducteurs (g/L), la turbidité (NTU) et la teneur en acides aminés libres (mg/L).

Dans cette partie du travail, on va vérifier si l'apport en enzymes commerciales brassicoles est indispensable et si une modélisation de cet apport permet d'obtenir des caractéristiques physico-chimiques des moûts de *Safrari* non malté et malté comparables.

III-2) MATERIEL ET METHODES.

III-2-1) Matériel biologique

Le matériel végétal est obtenu à l'IRAD (Institut de Recherche Agricole pour le Développement) centre de Maroua est constitué des grains du cultivar *Safrari*.



Figure 3.1 : Cultivar *Safrari*

L'orge maltée a été fournie gracieusement par la Société Anonyme des Brasseries de Cameroun.

Les caractéristiques des enzymes brassicoles commerciales utilisées sont identiques à celles énumérées à la section II-2-1.

III-2-2) Méthodologie générale.

La méthodologie générale du travail pour le cultivar *Safrari* dans ce chapitre est identique à celle de la section II-2-2.

III-2-3) Détermination de la teneur en eau, de la capacité germinative, de l'énergie germinative et du poids de 1000 grains.

Toutes ces analyses pour le cultivar *Safrari* ont été faites suivant des méthodes normalisées (Analytica-EBC, 1998) et énoncées à la section II-2-3.

III-2-4) Le maltage du sorgho.

Le maltage du cultivar *Safrari* a été effectué suivant le procédé de la Figure 2.2 de la section II-2-4.

III-2-5) Détermination de la teneur en protéines, du pouvoir diastasique, de l'activité de la carboxypeptidase et de l'activité de l' α -amylase.

Toutes ces analyses pour le cultivar *Safrari* ont été faites suivant des méthodes normalisées (Analytica-EBC, 1998) et énoncées à la section II-2-5.

III-2-6) Modélisation des caractéristiques physico-chimiques.

La modélisation des caractéristiques physico-chimiques des cultivars *Safrari* non maltés et maltés, a été effectuée en utilisant Hitempase (X_1), Bioglucanase (X_2) et Brewers Protease (X_3) comme facteurs. Les réponses retenues ont été l'extrait ($^{\circ}$ P), la turbidité, la teneur en sucres réducteurs et la teneur en acides aminés libres (AAL). Le plan d'expérience de Doehlert à 3 facteurs a été utilisé pour l'exécution des manipulations. La procédure complète est consignée dans la section II-2-6.

III-2-7) Le brassage.

La mise en place de la modélisation des réponses a nécessité le brassage de *Safrari* non malté et malté. Cette procédure de brassage est identique à celle de la Figure 2.4 de la section II-2-7.

III-2-8) Détermination de l'extrait, de l'extrait à chaud, de la turbidité, de la teneur en sucres réducteurs et de la teneur en acides aminés libres des moûts.

Après le brassage, refroidissement puis filtration de la maïsche de *Safrari* non malté et malté, toutes les analyses ont été effectuées suivant les procédures normalisées (Analytica-EBC, 1998) et, décrites à la section II-2-8.

III-3) RESULTATS ET DISCUSSION.

III-3-1) Caractéristiques physico-chimiques de *Safrari* non malté et malté.

Les tests d'acceptation et des aptitudes brassicoles nécessitent une mesure de certaines caractéristiques physico-chimiques. Ils permettent de déterminer la valeur du cultivar *Safrari*. Les résultats du Tableau 3.1 montrent que la teneur en eau résiduelle de *Safrari* non malté ($8,53 \pm 0,03$ %) est inférieure à la norme (< 13 %) recommandée pour la conservation des céréales (Hough *et al.*, 1982). Les grains sont donc dans un bon état de conservation. La capacité germinative, l'énergie germinative (4 ml) et l'énergie germinative (8 ml) dont les valeurs respectives de $99,33 \pm 0,23$ %, $98,66 \pm 1,15$ % et 97 ± 1 % sont dans les normes préconisées (Analytica-EBC, 1998). Ces grains sont ainsi aptes pour le maltage. Le poids de 1000 grains dont la valeur est de $38,05 \pm 1,35$ g, est dans la même gamme que la littérature (Nso *et al.*, 2003). Ils pourraient ainsi fournir des moûts riches en extrait. La teneur en protéine est de $12,26 \pm 0,07$ %. Ainsi, on peut dire que le cultivar *Safrari* non malté est apte pour le brassage.

Tableau 3.1 : Récapitulatif des caractéristiques physico-chimiques de *Safrari* non malté.

Caractéristiques	<i>Safrari</i>
Teneur en eau (%)	$8,53 \pm 0,03$
Capacité germinative (%)	$99,33 \pm 0,23$
Énergie germinative (4 ml) (%)	$98,66 \pm 1,15$
Énergie germinative (8 ml) (%)	97 ± 1
Poids de 1000 grains (g)	$48,5 \pm 0,14$
Teneur en protéine (%)	$12,26 \pm 0,07$

Le Tableau 3.2 récapitule quelques caractéristiques physico-chimiques de *Safrari* et de l'orge maltés. De ce tableau on a les teneurs en eau de $4,86 \pm 0,56$ % et $6,25 \pm 0,05$ % respectivement pour *Safrari* malté et l'orge maltée. Le poids de 1000 grains de *Safrari* malté ($38,05 \pm 1,35$ g) est supérieur à celui de l'orge maltée ($32,86 \pm 0,26$ g). Le cultivar *Safrari* malté serait ainsi plus riche en amidon que l'orge maltée. Cette valeur est dans la marge consignée par la littérature et, qui situe le poids de 1000 grains du sorgho dans la plage de 7 à 61 g (Briggs *et al.*, 2004). Le pouvoir diastasique de *Safrari* malté ($186,94 \pm 8,07$ WK) est inférieur à celui de l'orge malté ($412 \pm 3,7$ WK). Cela indique une activité enzymatique faible par rapport à l'orge maltée et, de ce fait, une synthèse insuffisante d'enzymes par

rapport à l'orge au cours du maltage. Une nécessité de supplémentation α -amylasique au cours du brassage est à envisager. L'extrait à chaud ($^{\circ}$ L/Kg) et l'extrait ($^{\circ}$ P) de *Safrari* malté sont supérieurs à celui de l'orge maltée. La teneur en sucres réducteurs de *Safrari* malté ($166,98 \pm 4,75$ g/L) est supérieure à celle de l'orge maltée ($94,25 \pm 4,6$ g/L), par contre la teneur en AAL ($81 \pm 2,18$ mg/L) de *Safrari* malté est très faible par rapport à celle l'orge malté. Cela traduit donc au cours du brassage de *Safrari*, la nécessité de compléter en enzymes brassicoles industrielles (Brewers Protease). La turbidité de *Safrari* malté quant à elle, est supérieure à celle de l'orge maltée. Une supplémentation avec une enzyme qui permet de réduire ce trouble (Bioglucanase TX) s'avère nécessaire.

Tableau 3.2 : Récapitulatif des caractéristiques physico-chimiques des céréales maltées.

Caractéristiques	<i>Safrari</i>	Orge
Teneur en eau (%)	$4,86 \pm 0,56^a$	$6,25 \pm 0,05^b$
Poids de 1000 grains (g)	$38,05 \pm 1,35^a$	$32,86 \pm 0,26^b$
Pouvoir diastasique (WK)	$186,94 \pm 8,07^a$	$412 \pm 3,7^b$
Extrait à chaud ($^{\circ}$ L/kg)	$646,91 \pm 4,2^a$	$390,70 \pm 3,66^b$
Extrait ($^{\circ}$ P)	$19,24 \pm 0,5^a$	$12,10 \pm 1^b$
Sucres réducteurs (g/L)	$166,98 \pm 4,75^a$	$94,25 \pm 4,6^b$
Acides aminés libres (mg/L)	$81 \pm 2,18^a$	$247,21 \pm 9,62^b$
Turbidité (NTU) du moût	$14,3 \pm 1,2^a$	$9,20 \pm 1,42^b$

*Les lettres différentes sur la même ligne traduisent une différence significative ($P < 0,05$) entre les données.

Le Tableau 3.3 présente le récapitulatif de quelques activités enzymatiques évaluées. L'activité α -amylasique de l'orge maltée ($319,92 \pm 6,51$ U/g) est supérieure à celle de *Safrari* malté ($90,35 \pm 3,93$ U/g). Il y a donc nécessité à compléter au cours du brassage avec une α -amylase industrielle, par exemple Hitempase 2XL. L'activité de la carboxypeptidase dans *Safrari* malté ($13,34 \pm 0,018$ mg AAL/min/g) est inférieure à celle de l'orge maltée ($15,22 \pm 0,42$ mg AAL/min/g). il faudrait donc au cours du brassage, envisager de faire une supplémentation avec une protéase industrielle, par exemple Brewers Protease.

Tableau 3.3 : Récapitulatif de quelques activités enzymatiques évaluées.

Activité	<i>Safrari</i> malté	Orge malté
α -amylase	90,35 \pm 3,93 U/g ^a	319,92 \pm 6,51 U/g ^b
Carboxypeptidase	13,34 \pm 0,018 mg AAL/min/g ^a	15,22 \pm 0,42 mg AAL/min/g ^b

*Les lettres différentes sur la même ligne traduisent une différence significative ($P < 0,05$) entre les données.

III-3-2) Modélisation de l'action des enzymes exogènes sur les caractéristiques physico-chimiques des moûts de *Safrari* non malté et malté.

Le Tableau 3.4 présente les résultats des analyses physico-chimiques des moûts de *Safrari* non malté et malté. Ces résultats font l'objet ensuite de modélisations mathématiques statistiques où, seules les valeurs moyennes sont utilisées. Les caractéristiques physico-chimiques tels que l'extrait (°P), la turbidité (NTU), la teneur en sucres réducteurs (g/L) et la teneur en acides aminés libres (mg/L) sont suivis. Comme pour le cas de *Madjeru*, tous les pH se sont situés entre 5,2 et 5,6

Tableau 3.4 : Caractéristiques physico-chimiques des moûts de *Safrari*.

				Réponses																	
				Facteurs				Extrait				Turbidité				Sucres réducteurs				Acides aminés libres	
X1	X2	X3	(°P)	Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté		
				(NTU)				(g/L)				(mg/L)									
0	0	0	14,81±1,25	16,43±1,83	7,80±0,32	29,58±2,03	99±4	130,5±3,76	95±3	140±4											
1	0	0	14,21±1,35	16,64±1,66	8,60±0,55	27±1,53	94±4,12	110,5±4,54	88±2,34	132±1,89											
0,5	0,866	0	15,89±1,11	15,60±1,81	12±1	26±1,07	110±5	108,73±5,23	110±2,67	165±5,13											
-0,5	-0,866	0	8,75±0,61	16,02±1,09	3,47±0,88	20,17±2,77	71±2,78	108,91±4,15	100±4	149±3,78											
0,5	-0,866	0	13,4±0,86	14,56±1,55	4±0,35	29,5±1,97	89,54±4,65	107,93±3,09	135,6±6	189±4,23											
-0,5	0,866	0	10,73±0,88	9,36±0,13	5,04±0,77	44,8±2,78	80±4,59	75,90±2,22	63±2,16	94,5±1,67											
0,5	0,289	0,816	14,29±1,21	16,64±1,89	11±1,50	30,40±1,68	95±6	141,5±5,99	118,33±2	177,5±6,34											
-0,5	-0,289	-0,816	9,98±1,05	17,16±1,73	4,20±0,48	26,47±1,57	79,62±2,75	161,67±3	66,33±2,78	99,5±3,35											
0,5	-0,289	-0,816	14,55±0,87	14,56±1,44	6,35±0,85	20,43±2	96,71±3	92,5±2,63	61,66±3,33	92,5±2,51											
0	0,577	-0,816	16,44±1,44	16,33±1,02	8±0,44	19,27±1,31	114±5,22	109,13±4	38,33±2,09	57,5±3,17											
-0,5	0,289	0,816	9,06±0,56	13,52±1,56	6,50±1	32,23±3,10	77±3	68,5±2,13	91,92±3	137,88±4,65											
0	-0,577	0,816	13,61±1,46	16,02±2	6±0,49	22,67±2,67	92±2,44	109,07±4	126±4,32	178±5											
0	0	0	14,5±1,80	16,64±1,70	7,68±1,11	32±2	96,20±2,33	131±3,80	85,33±4,21	128±3,59											
-1	0	0	1,80±0	14,56±1,23	2,5±0,50	23,13±1,55	24±2	90,5±3,59	45±2	55±2											
-1	-0,866	-0,816	1,02±0	19,24±0,50	0,35±0	14,30±1,20	5±0,31	166,98±4,75	54±3	81±2,18											
0	0	0	14,6±1,28	16,64±1,33	8±0,46	31,80±3,01	98,7±2,77	133,05±3	91,66±2,23	137,5±3,57											
0	0	0	15±1,72	17,16±0,62	7,86±1,07	31,63±1,69	99,35±3	134±4,66	88,33±1,16	132,5±4,01											

III-3-2-1) L'extrait.

L'objectif du brassage est d'obtenir une meilleure extraction solide/liquide et de solubiliser la plus grande quantité de matières hydrosolubles issues des grains ou des malts. Ces matières hydrosolubles sont des facteurs qualitatifs des moûts et, l'extrait (°P) est l'une des analyses les plus importantes pour évaluer cette qualité du moût (Briggs, 1998). La modélisation de cette réponse se présente donc comme un moyen pour suivre et évaluer l'action des enzymes au cours brassage.

Les modèles mathématiques obtenus ont tenu compte des variables codées (section II-2-6-1) et, se présentent comme suit respectivement pour *Safrari* non malté et *Safrari* malté :

$$Y_{SafEX}(X_1, X_2, X_3) = 14,62 + 5,478X_1 + 1,226X_2 - 0,881X_3 + 0,527X_1X_2 + 0,589X_1X_3 - 2,008X_2X_3 - 6,569X_1^2 - 0,935X_2^2 - 0,496X_3^2 \quad [3.1]$$

$$Y_{SafMEX}(X_1, X_2, X_3) = 16,566 + 1,076X_1 - 1,377X_2 - 0,469X_3 + 4,774X_1X_2 + 2,338X_1X_3 - 1,326X_2X_3 - 0,901X_1^2 - 3,117X_2^2 - 0,180X_3^2 \quad [3.2]$$

Avec

$Y_{SafEX}(X_1, X_2, X_3)$ = Modèle mathématique pour le cultivar *Safrari* non malté dont la réponse est l'extrait

$Y_{SafMEX}(X_1, X_2, X_3)$ = Modèle mathématique du cultivar *Safrari* malté dont la réponse est l'extrait

X_1 = Hitempase (α -amylase), X_2 = Bioglucanase (β -glucanase) et X_3 = Brewers Protease (Protéase).

Il s'agit des modèles mathématiques polynomiaux à plusieurs variables. Ces modèles sont du second degré avec interactions et leurs caractéristiques sont consignées dans le Tableau 3.5.

Tableau 3.5 : Caractéristiques des modèles mathématiques pour l'évolution de l'extrait des moûts du cultivar *Safrari* (non malté et malté)

Modèles	R ²	AADM	B _f	A _{fi}
$Y_{SafEX}(X_1, X_2, X_3)$	0,993	0,026	1,000	1,060
$Y_{SafMEX}(X_1, X_2, X_3)$	0,930	0,061	1,000	1,030

Les valeurs de R², AADM, B_f et A_{fi} permettent de valider les modèles pour l'évolution des extraits des moûts du cultivar *Safrari* (non malté et malté), ceci conformément à la littérature (Ross, 1996, Dalgaard and Jorgensen, 1998, Baranyi *et al.*, 1999).

Les facteurs des modèles sont linéaires (X_1 , X_2 et X_3), quadratiques (X_1^2 , X_2^2 et X_3^2) et avec interactions (X_1X_2 , X_1X_3 et X_2X_3). Ils sont statistiquement considérés significatifs ou non pour l'enrichissement du moût en extrait si la probabilité (P) est de $\leq 0,05$ ou $\geq 0,05$ respectivement (Tableaux 3.6 et 3.7).

Tableau 3.6 : Estimation des coefficients des modèles pour l'évolution de l'extrait des moûts de *Safrari*.

Effets	Coefficient		Erreur Standard		t		Probabilité	
	Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté
CONSTANTE	14,62	16,566	0,271	0,396	54,039	41,882	0,000	0,000
X ₁	5,476	1,076	0,278	0,407	19,683	2,644	0,000	0,033
X ₂	1,226	-1,377	0,243	0,355	4,374	-3,361	0,003	0,012
X ₃	-0,881	-0,469	0,229	0,335	-3,136	-1,141	0,016	0,291
X ₁ ²	-6,569	-0,901	0,477	0,698	-13,768	-1,291	0,000	0,238
X ₂ ²	-0,935	-3,117	0,347	0,508	-2,020	-4,604	0,083	0,002
X ₃ ²	-0,496	-0,18	0,300	0,438	-1,103	-0,274	0,307	0,792
X ₁ *X ₂	0,527	4,774	0,545	0,796	0,839	5,192	0,429	0,001
X ₂ *X ₃	-2,008	-1,326	0,479	0,701	-2,960	-1,336	0,0021	0,223
X ₁ *X ₃	0,589	2,338	0,568	0,83	0,846	2,299	0,425	0,055

Tableau 3.7 : Analyse de Variance pour l'évolution de l'extrait du moût de *Safrari*.

Source	dl	Somme des carrés		Carrés moyens		F		Probabilité	
		Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté
Régression	9	333,038	65,429	37,004	7,27	113,241	10,408	0,000	0,003
Linéaire	3	240,289	18,625	80,096	6,208	245,112	8,888	0,000	0,009
Quadratique	3	89,659	7,736	29,886	2,579	91,459	3,692	0,000	0,07
Interactions	3	3,090	39,069	1,030	13,023	3,152	18,645	0,095	0,001
Erreur résiduelle	7	2,287	4,889	0,327	0,698				
Erreur totale	16	335,326	70,319						

La Figure 3.2A présente l'influence de Hitempase 2XL sur la teneur en extrait des moûts de *Safrari* non malté et *Safrari* malté. En absence de cette enzyme, l'extrait des moûts est de 0,71 °P et 18,81 °P respectivement pour *Safrari* non malté et *Safrari* malté. L'ajout d'Hitempase 2XL entraîne pour le cas de *Safrari* non malté, une augmentation de l'extrait jusqu'à une valeur maximale de 12,61 °P à 2018,4 U. Par la suite, on observe une baisse de l'extrait pour atteindre 9,79 °P à 3000 U. Le même ajout de cette enzyme entraîne, pour le cas de *Safrari* malté, une diminution de l'extrait jusqu'à 8,87 °P à 3000 U. Par ailleurs, un ajout de 2107,4 U conduit à l'obtention d'une même quantité d'extrait aussi bien pour *Safrari* non malté que pour *Safrari* malté, soit 12,58 °P.

La Figure 3.2B présente l'influence de Hitempase 2XL sur la teneur en extrait des moûts de *Safrari* non malté et *Safrari* malté. Ceci en présence de Bioglucanase TX (400 BGU) et Brewers Protease (60 mg). En absence de cette enzyme, l'extrait des moûts est de 2,25 °P et 14,88 °P respectivement pour *Safrari* non malté et *Safrari* malté. L'ajout d'Hitempase 2XL entraîne une augmentation de l'extrait jusqu'à des valeurs maximales respectives de 15,48 °P et 16,83 °P ceci, respectivement à 2128,7 U et 2208,6 U. Par la suite, on observe une baisse de l'extrait pour atteindre des valeurs respectives de 13,27 °P et 16,58 °P à 3000 U.

Comme pour le cas de *Madjeru*, les valeurs de l'extrait obtenues en l'absence de Hitempase 2XL, sont dues à la mouture et au maltage *Safrari* non malté et malté respectivement. Les explications pour l'action d'Hitempase 2XL de la section II-3-2-1, concernant la croissance et la décroissance des courbes, sont valables pour ce cas. Pour ce cas, la synthèse enzymatique au cours du maltage semble suffisante, et le meilleur comportement au brassage s'exprime en présence d'un système enzymatique équilibré (Figure 3.2B).

Les modèles mathématiques montrent que, sous sa forme linéaire (X_1), Hitempase 2XL contribue à hauteur de 29 % et 7 % pour le cultivar *Safrari* non malté et malté respectivement (Figures 3.3A et 3.3B). Les analyses statistiques montrent également que cette contribution est significative ($P = 0,000$ et $0,033$ pour le cultivar *Safrari* non malté et malté respectivement ; Tableau 3.6). Sous sa forme quadratique (X_1^2), l'impact d'Hitempase 2XL est statistiquement significatif pour le cultivar *Safrari* non malté, mais ne l'est pas pour le cultivar *Safrari* malté ($P = 0,000$ et $0,238$ respectivement ; Tableau 3.6). Ceci confirme l'observation biologique ci-dessus selon laquelle les suppléments de cette enzyme dans les maïsches de *Safrari* malté sont sans importance. Sa contribution aux rendements croissants

d'extrait sous sa forme quadratique (X_1^2) (excès de α -amylase en principe) est en effet 35 % et 6 % pour le cultivar *Safrari* non malté et malté respectivement (Figures 3.3A et 3.3B).

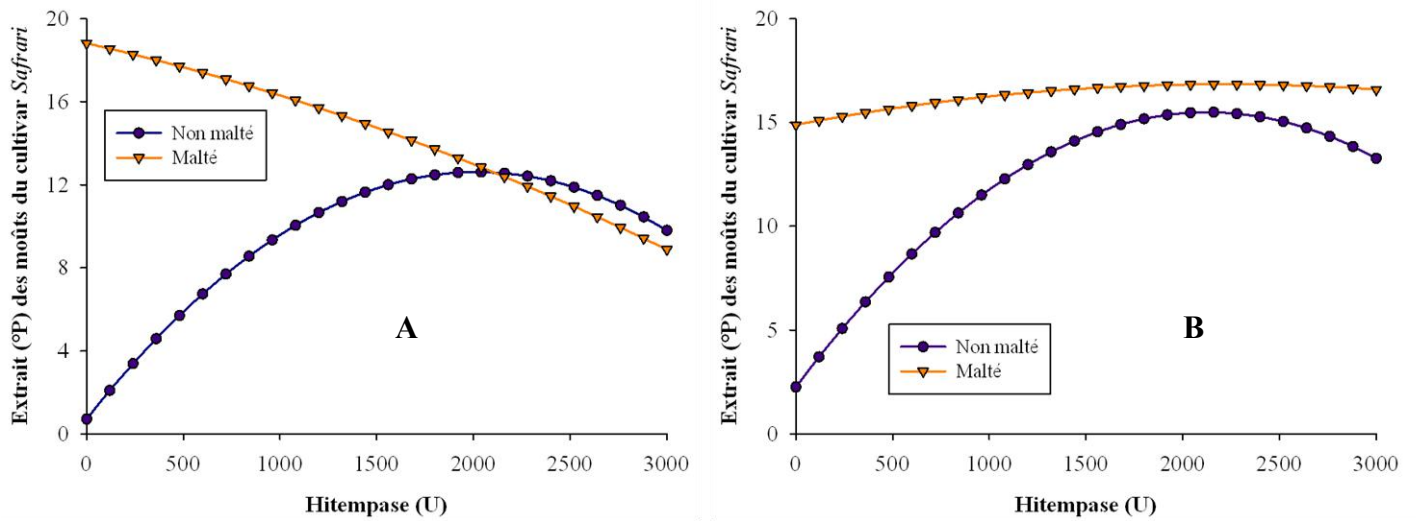


Figure 3.2. (A) : Effet de Hitempase 2XL (α -Amylase) sur l'évolution de l'extrait ($^{\circ}$ P) des moûts du cultivar *Safrari*. (B) : Effet de Hitempase 2XL sur l'évolution de l'extrait ($^{\circ}$ P) des moûts du cultivar *Safrari* en présence de Bioglucanase (400BGU) et Brewers Protease (60 mg).

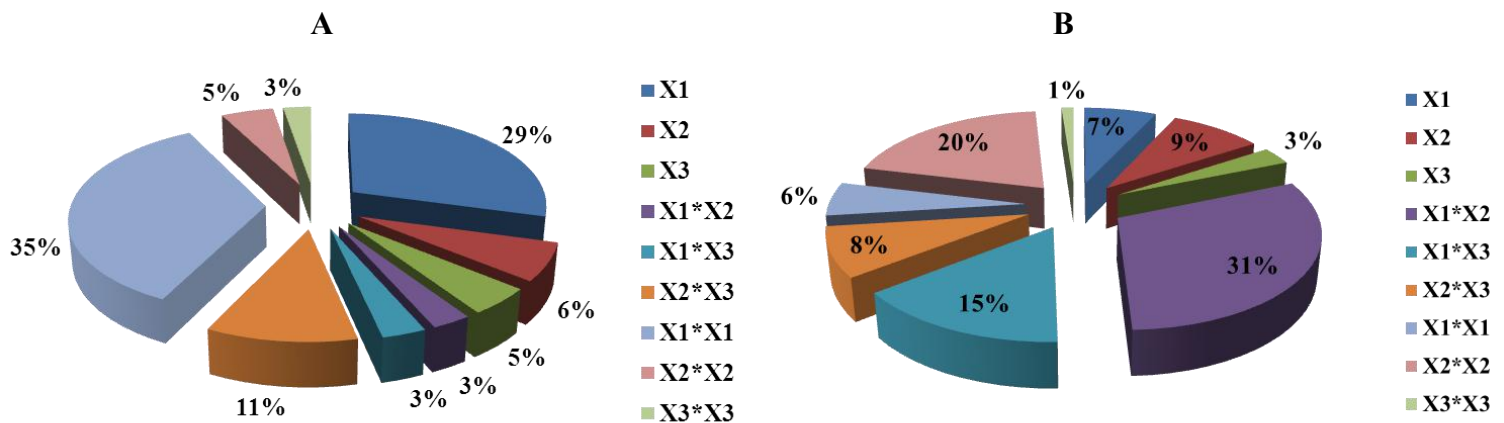


Figure 3.3. (A) : Contribution de chaque facteur sur le comportement général du modèle pour le suivi de l'extrait ($^{\circ}$ P) du moût de *Safrari* non malté. (B) : Contribution de chaque facteur sur le comportement général du modèle pour le suivi de l'extrait ($^{\circ}$ P) du moût de *Safrari* malté.

La Figure 3.4A présente l'influence de Bioglucanase TX sur la teneur en extrait des moûts de *Safrari* non malté et *Safrari* malté. En absence de cette enzyme, l'extrait des moûts est respectivement de 0,71 $^{\circ}$ P et 18,81 $^{\circ}$ P. L'ajout cette enzyme entraine pour le cas de

Safrari non malté, une augmentation de l'extrait jusqu'à une valeur maximale de 4,76 °P à 937,50 BGU. Le même ajout de cette enzyme entraîne, pour le cas de *Safrari* malté, une diminution de l'extrait jusqu'à 10,03 °P à 937,50 BGU.

La Figure 3.4B présente l'influence de Bioglucanase TX sur la teneur en extrait des moûts de *Safrari* non malté et *Safrari* malté, ceci en présence de Hitempase 2XL (2000 U) et Brewers Protease (60 mg). En absence de cette enzyme, l'extrait des moûts est respectivement de 13,96 °P et 14,53 °P. L'ajout d'Hitempase 2XL entraîne une augmentation de l'extrait jusqu'à des valeurs maximales respectives de 15,90 °P et 16,87 °P ceci, respectivement à 779,60 BGU et 468,56 BGU. Par la suite, on observe une baisse de l'extrait pour atteindre des valeurs respectives de 15,82 °P et 14,53 °P à 937,50 BGU. De même, un ajout de 770,73 BGU conduit à l'obtention d'une même quantité d'extrait aussi bien pour *Safrari* non malté que pour *Safrari* malté, soit 15,89 °P.

La teneur en extrait en l'absence de Bioglucanase TX (Figure 3.4A) est due une fois de plus à la mouture et au maltage. Cette teneur élevée de la Figure 3.4B au départ, est due à la présence d'enzymes supplémentaires (Hitempase 2XL et Brewers Protease) qui ont entraîné une hydrolyse de l'amidon au cours du brassage. Les explications pour l'action de Bioglucanase TX de la section II-3-2-1, concernant la croissance et la décroissance des courbes, sont valables pour ce cas. Bioglucanase TX n'est donc pas une enzyme spécifique pour la production d'extrait pendant le brassage (Phiarais *et al.*, 2006, Desobgo *et al.*, 2010). Hitempase 2XL démontre une fois de plus qu'elle est l'enzyme contribuant à la plupart des rendements d'extrait.

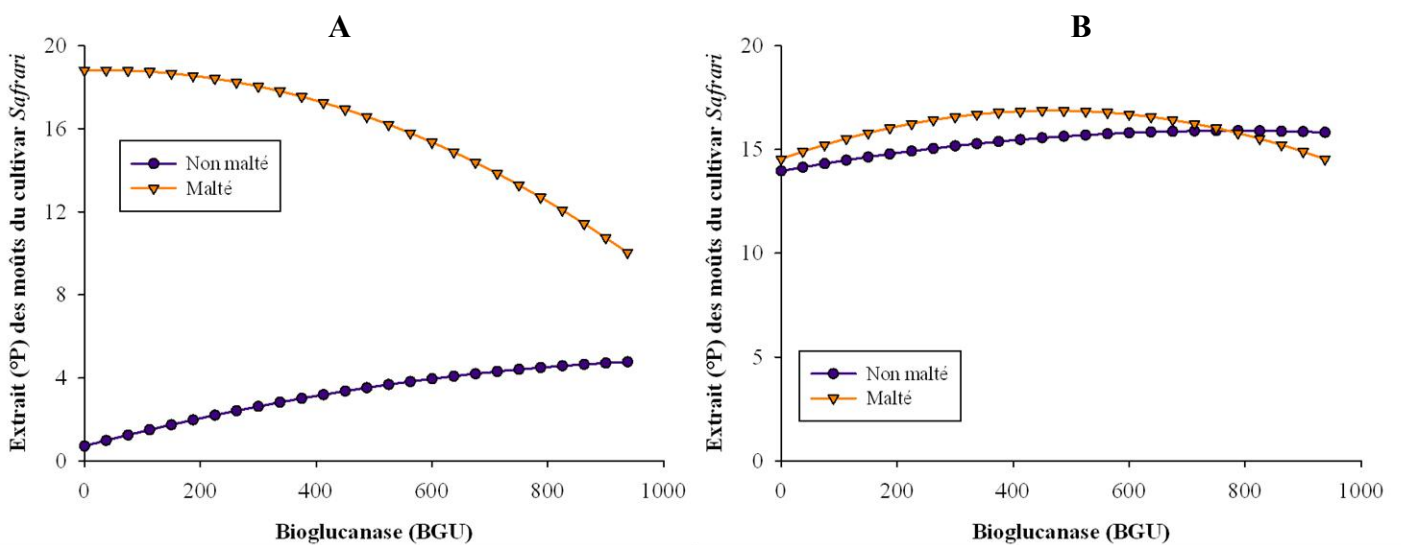


Figure 3.4 (A) : Effet de Bioglucanase TX (β-Glucanase) sur l'évolution de l'extrait (°P) des moûts de *Safrari*. **(B) :** Effet de Bioglucanase TX sur l'évolution de l'extrait (°P) des moûts du cultivar *Safrari* en présence de Hitempase (2000 U) et de Brewers Protease (60 mg).

Les modèles mathématiques montrent que, sous sa forme linéaire (X_2), l'action de Bioglucanase TX est significative ($P = 0,003$ et $0,012$ pour *Safrari* non malté et malté respectivement ; Tableau 3.6). Les Figures 3.3A et 3.3B montrent que cette enzyme contribue à hauteur de 6 % et 9 % pour *Safrari* non malté et malté respectivement. Sous sa forme quadratique (X_2^2) (excès d'enzyme en principe), Bioglucanase TX contribue à hauteur de 5 % et 20 % pour *Safrari* non malté et malté respectivement (Figures 3.3A et 3.3B). Ces contributions ne sont pas statistiquement significatives pour *Safrari* non malté, mais le sont pour *Safrari* malté ($P = 0,083$ et $0,002$; Tableau 3.6). La différence observée entre les teneurs en extrait de *Safrari* non malté et malté est attribuée à l'impact des enzymes développées pendant le maltage et pas aux suppléments de Bioglucanase TX.

La Figure 3.5A présente l'effet de Brewers Protease sur l'évolution de l'extrait des moûts de *Safrari* non malté et *Safrari* malté. En absence de cette enzyme, l'extrait des moûts est respectivement de $0,71$ °P et $18,81$ °P. L'ajout cette enzyme entraîne pour le cas de *Safrari* non malté, une légère augmentation de l'extrait jusqu'à une valeur maximale de $1,30$ °P à $66,60$ mg. Par la suite, on observe une légère baisse de l'extrait jusqu'à atteindre $1,15$ °P à 100 mg de Brewers Protease ajoutée. Un ajout similaire de cette enzyme entraîne, pour le cas de *Safrari* malté, une diminution de l'extrait jusqu'à $16,10$ °P à 100 mg.

La Figure 3.5B présente l'effet de Brewers Protease sur l'évolution de l'extrait des moûts de *Safrari* non malté et *Safrari* malté. Ceci, en présence de Hitempase (2000 U) et de Bioglucanase (400 BGU). En absence de cette enzyme, l'extrait des moûts est respectivement de $15,54$ °P et $16,23$ °P. Un ajout de cette enzyme entraîne aussi bien pour le cas de *Safrari* non malté que pour le cas de *Safrari* malté, une augmentation de l'extrait jusqu'à des valeurs respectives de $15,61$ °P et $17,01$ °P, respectivement à $23,45$ mg et 100 mg. Seul l'extrait de *Safrari* non malté subit par la suite une diminution de l'extrait jusqu'à $14,84$ °P à 100 mg de Brewers Protease ajoutée.

L'extrait observé pendant le brassage avec *Safrari* malté même en l'absence des suppléments de Brewers Protease est dû aux vertus connues du procédé de maltage. Pour le cas de *Safrari* non malté, on attribue l'extrait d'une part à la mouture (Figure 3.5A) et d'autre part en plus de la mouture, à la présence d'Hitempase 2XL (Figure 3.5B). L'augmentation observée est due au rôle de Brewers Protease lors du brassage qui hydrolyse les protéines en peptides et acides aminés à courtes chaînes (Briggs *et al.*, 2004), permettant ainsi la libération de petites quantités d'extraits dans les moûts. La diminution régulière de l'extrait avec l'augmentation de Brewers Protease pour les moûts du cultivar *Safrari* malté est attribuée aux réactions de Maillard (Hough *et al.*, 1982). Les résultats montrent que l'ajout de Hitempase

2XL et Bioglucanase TX, permet fournir des résultats similaires entre les extraits des moûts de *Safrari* non malté et *Safrari* malté (Figure 3.5B).

Les modèles mathématiques montrent que, sous sa forme linéaire (X_3), l'impact de Brewers Protease est significatif pour les moûts du cultivar *Safrari* non malté mais ne l'est pas pour ceux de *Safrari* malté ($P = 0,016$ et $0,291$ respectivement ; Tableau 3.6). Sa contribution pour les extraits est à peine de 5 % et 3 % respectivement pour les deux types de moûts (Figures 3.3A et 3.3B). L'impact de l'enzyme sous sa forme quadratique (X_3^2), n'est pas significatif pour les deux types de moûts ($P = 0,307$ et $0,792$ respectivement ; Tableau 3.6). Sa contribution pour les extraits est de 3 % et 1% respectivement (Figures 3.3A et 3.3B).

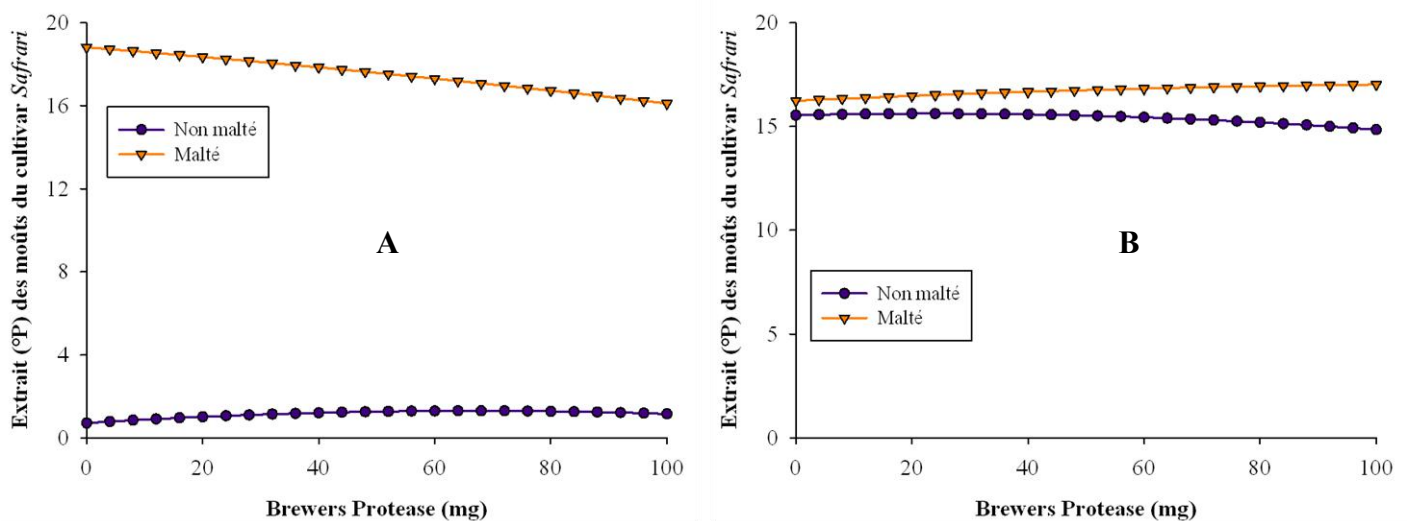


Figure 3.5. (A) : Effet de Brewers Protease sur l'évolution de l'extrait (°P) des moûts de *Safrari*. (B) : Effet de Brewers Protease sur l'évolution de l'extrait (°P) des moûts du cultivar *Safrari* en présence de Hitempase (2000 U) et de Bioglucanase (400 BGU).

Les analyses statistiques (Tableau 3.7) présentent les impacts des interactions (X_1X_2 , X_1X_3 et X_2X_3) entre ces enzymes sur l'extrait des moûts. Il en découle qu'ils ne sont pas globalement statistiquement pas significatifs pour le cultivar *Safrari* non malté ($P = 0,095$), mais le sont pour le cultivar *Safrari* malté ($P = 0,001$).

L'interaction X_1X_2 (annexe 5A), correspondant au couple Hitempase 2XL/Bioglucanase n'a aucun impact significatif sur la maïsche du cultivar *Safrari* non malté mais par contre, elle l'a sur celle de *Safrari* malté ($P = 0,429$ et $0,001$ respectivement ; Tableau 3.6). Elle contribue seulement à hauteur de 3 % pour l'extrait des moûts du cultivar *Safrari* non malté et, jusqu'à 31% pour l'extrait des moûts du cultivar *Safrari* malté (Figures 3.3A et 3.3B). Il est cependant important de souligner que cette contribution significative est

être attribuée aux vertus intrinsèques que le maltage offre au cours du brassage avec *Safrari* malté, et pas à l'interaction de Hitempase/Bioglucanase en soi. Cependant connu pour être l'enzyme spécifique de l'hydrolyse de l'amidon, l'action de Hitempase 2XL est mieux exploitée quand les β -glucanes des grains de céréale sont décomposés par les β -glucanases, hemicellulases et cellulases, pour libérer des granules d'amidon.

L'interaction X_1X_3 (annexe 5B), correspondant au couple Hitempase 2XL/Brewers Protease, n'a aussi bien aucun impact significatif sur l'extrait des moûts du cultivar *Safrari* non malté que sur l'extrait des moûts du cultivar *Safrari* malté ($P = 0,425$ et $0,055$ respectivement ; Tableau 3.6). Ces contributions sont de 3 % et 15 % (Figures 3.3A et 3.3B). L'hydrolyse efficace de l'amidon par l' α -amylase se produit en effet seulement après l'hydrolyse des β -glucanes par la β -glucanase, suivie de la libération des granules d'amidon dus à la protéolyse de la matrice de protéique les enrobant.

L'interaction X_2X_3 (annexe 5C), correspondant au couple Bioglucanase TX/Brewers Protease a un impact significatif sur les extraits des moûts de *Safrari* non malté mais par contre, elle n'en a pas pour *Safrari* malté ($P = 0,002$ et $0,223$ respectivement ; Tableau 3.6). Ces contributions sont de 11 % et 8% respectivement (Figures 3.3A et 3.3B). Ces faibles contributions sont normales, car les deux enzymes (Bioglucanase TX et Brewers Protease) jouent seulement un rôle de soutien pour l'hydrolyse de l'amidon pendant le brassage (Desobgo *et al.*, 2010).

Le Tableau 3.8 confirme une différence significative entre les extraits des moûts obtenus lors du brassage *Safrari* malté associé aux enzymes et celui du brassage de *Safrari* non malté associé aux enzymes ($P = 0,004$).

Tableau 3.8 : Analyse de Variance pour comparaison entre les extraits des moûts de *Safrari* non malté et malté.

Source	Ddl	Somme des carrés	Carrés moyens	F	Probabilité
Inter-groupes	1	130,693	130,693	9,21	0,0048
Intra-groupes	32	454,199	14,193		
Total	33	584,892			

III-3-2-2) La turbidité.

La clarté des bières blondes a toujours été un indicateur incontournable de leur qualité. Un moût sans matière en suspension est donc très apprécié par le brasseur dans la mesure où, il serait un gage pour obtenir des bières de qualité désirée. En effet, une apparence trouble de la bière serait sur le plan esthétique un problème pour la majorité des consommateurs. Une modélisation mathématique de l'action des enzymes brassicoles lors du brassage permettrait de comprendre l'impact de chaque enzyme sur le profil de ce paramètre.

Les modèles mathématiques obtenus tiennent compte des variables codées (section II-2-6-1) et se présentent comme suit respectivement pour *Safrari* non malté et *Safrari* malté :

$$Y_{SafTU}(X_1, X_2, X_3) = 7,904 + 3,342X_1 + 2,904X_2 + 1,048X_3 + 3,563X_1X_2 - 0,064X_1X_3 + 0,076X_2X_3 - 2,384X_1^2 - 1,646X_2^2 - 0,384X_3^2 \quad [3.3]$$

$$Y_{SafMTU}(X_1, X_2, X_3) = 31,284 - 1,178X_1 + 5,239X_2 + 3,923X_3 - 16,31X_1X_2 + 8,247X_1X_3 + 11,358X_2X_3 - 6,233X_1^2 + 0,489X_2^2 - 7,659X_3^2 \quad [3.4]$$

Avec :

$Y_{SafTU}(X_1, X_2, X_3)$ = Modèle mathématique pour le cultivar *Safrari* non malté dont la réponse est la turbidité.

$Y_{SafMTU}(X_1, X_2, X_3)$ = Modèle mathématique pour le cultivar *Safrari* malté dont la réponse est la turbidité.

X_1 = Hitempase 2XL, X_2 = Bioglucanase TX et X_3 = Brewers Protease.

Il s'agit des modèles mathématiques polynomiaux à plusieurs variables. Ces modèles sont du second degré avec interactions et leurs caractéristiques sont consignées dans le Tableau 3.9.

Tableau 3.9 : Caractéristiques des modèles mathématiques pour l'évolution de la turbidité des moûts du cultivar *Safrari* (non malté et malté)

Modèles	R ²	AADM	B _f	A _{fl}
$Y_{SafTU}(X_1, X_2, X_3)$	0,995	0,032	1,030	1,060
$Y_{SafMTU}(X_1, X_2, X_3)$	0,933	0,056	1,000	1,070

Les valeurs de R², AADM, B_f et A_{fl} du Tableau 3.9 permettent de valider les modèles pour l'évolution de la turbidité des moûts du cultivar *Safrari* (non malté et malté), ceci conformément à la littérature (Ross, 1996, Dalgaard and Jorgensen, 1998, Baranyi *et al.*, 1999).

Les facteurs des modèles sont linéaires (X_1 , X_2 et X_3), quadratiques (X_1^2 , X_2^2 et X_3^2) et avec interactions (X_1X_2 , X_1X_3 et X_2X_3). Ils sont statistiquement considérés significatifs ou non pour l'augmentation de la turbidité des moûts si la probabilité (P) est de $\leq 0,05$ ou $\geq 0,05$ respectivement (Tableaux 3.10 et 3.11).

Tableau 3.10 : Estimation des coefficients des modèles pour l'évolution de la turbidité des moûts de *Safrari*.

Effets	Coefficient		Erreur Standard		t		Probabilité	
	Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté
CONSTANTE	7,904	31,284	0,147	1,299	58,688	24,074	0,000	0,000
X ₁	3,342	-1,178	0,151	1,337	22,067	-0,881	0,000	0,408
X ₂	2,904	5,239	0,132	1,166	19,045	3,892	0,000	0,006
X ₃	1,048	3,923	0,125	1,101	6,856	2,907	0,000	0,023
X ₁ ²	-2,384	-6,233	0,260	2,292	-9,181	-2,72	0,000	0,030
X ₂ ²	-1,646	0,489	0,189	1,668	-6,533	0,22	0,000	0,832
X ₃ ²	-0,384	-7,659	0,163	1,439	-1,567	-3,545	0,161	0,009
X ₁ *X ₂	3,563	-16,31	0,296	2,616	10,410	-5,399	0,000	0,001
X ₂ *X ₃	0,076	11,358	0,261	2,303	0,205	3,485	0,843	0,010
X ₁ *X ₃	-0,064	8,247	0,309	2,726	-0,169	2,468	0,870	0,043

Tableau 3.11 : Analyse de Variance pour l'évolution de la turbidité des mûts de *Safrari*.

Source	dl	Somme des carrés		Carrés moyens		F		Probabilité	
		Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté
Régression	9	142,255	730,894	15,806	81,21	163,358	10,772	0,000	0,002
Linéaire	3	121,248	320,329	40,416	106,776	417,706	14,163	0,000	0,002
Quadratique	3	6,907	129,669	2,302	43,223	23,794	5,733	0,000	0,027
Interactions	3	14,100	280,896	4,700	93,632	48,575	12,42	0,000	0,003
Erreur résiduelle	7	0,677	52,772	0,097	7,539				
Erreur totale	16	142,932	783,666						

La Figure 3.6A présente l'effet de Hitempase 2XL sur l'évolution de la turbidité (NTU) des moûts de *Safrari* non malté et *Safrari* malté. En absence de cette enzyme, la turbidité est respectivement de 0,40 NTU et 14,38 NTU. Après ajout de cette enzyme, on observe aussi bien pour *Safrari* non malté que pour *Safrari* malté, une augmentation de la turbidité jusqu'aux valeurs maximales respectives de 3,10 NTU et 28,38 NTU à 1597 U et 2248 U respectivement. Par la suite, on observe une réduction de la turbidité jusqu'aux valeurs respectives de 1,02 NTU et 26,82 NTU à 3000 U.

La Figure 3.6B présente l'effet de Hitempase 2XL sur l'évolution de la turbidité (NTU) des moûts de *Safrari* non malté et *Safrari* malté. Ceci, en présence de Bioglucanase TX (400BGU) et de Brewers Protease (60 mg). En absence de cette enzyme, la turbidité est respectivement de 2,40 NTU et 22,35 NTU. Après ajout de cette enzyme, on observe aussi bien pour *Safrari* non malté que pour *Safrari* malté, une augmentation de la turbidité jusqu'aux valeurs maximales respectives de 8,53 NTU et 31,02 NTU à 2405,60 U et 1769,40 U respectivement. Par la suite, on observe une réduction de la turbidité jusqu'aux valeurs respectives de 8,16 NTU et 26,83 NTU à 3000 U.

Les turbidités observées en l'absence d'Hitempase 2XL pour le cas de *Safrari* non malté, sont dues à la mouture qui libère et laisse passer des molécules colloïdales dans les moûts (Figures 3.6A & B). Pour ce qui est de *Safrari* malté (Figures 3.6A & B), en l'absence d'Hitempase 2XL, les turbidités élevées sont dues au matériel colloïdal (oligosaccharides et autres dextrans et peptides) que libèrent les enzymes lors de l'hydrolyse partielle des réserves nutritives du grain pendant le maltage et se dissolvent lors du brassage (Palmer, 1989, Briggs, 1998). L'augmentation par la suite de la turbidité serait due au fait que, l'Hitempase continuerait à hydrolyser l'amidon et libérerait d'avantage le matériel colloïdal de nature oligosaccharides et dextrans. La diminution de la turbidité des moûts au-delà des concentrations en enzymes (selon le cas) (Figures 3.6A & B) peut être attribuée à une action hydrolytique subséquente de celle-ci sur des résidus d'amidon (oligosaccharides) en sucres simples beaucoup plus solubles, réduisant ainsi le trouble des moûts. Il est néanmoins important de souligner qu'il serait difficile d'apprécier avec certitude l'effet de l'action de cette enzyme (en tant seul acteur enzymatique) lors du brassage sur la turbidité des moûts de *Safrari* non malté, pour la simple raison qu'un marécage efficace ne semblerait possible en absence du complexe enzymatique naturel.

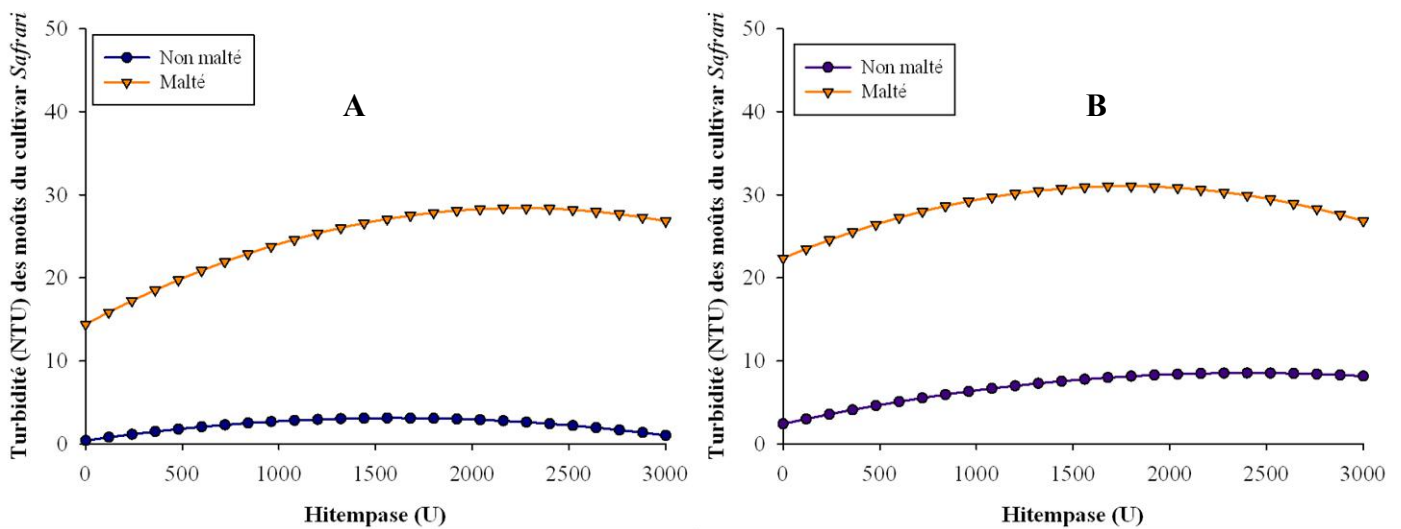


Figure 3.6. (A) : Effet de Hitempase 2XL sur l'évolution de la turbidité (NTU) des moûts de *Safrari*. (B) : Effet de Hitempase 2XL sur l'évolution de la turbidité (NTU) des moûts du cultivar *Safrari* en présence de Bioglucanase TX (400BGU) et de Brewers Protease (60 mg).

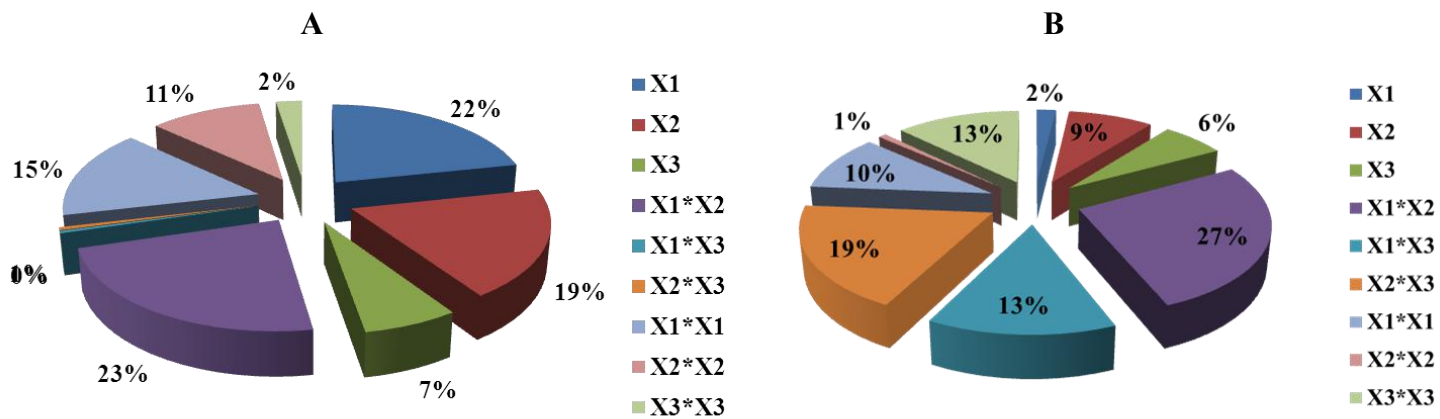


Figure 3.7. (A) : Contribution de chaque facteur sur le comportement général du modèle pour le suivi de la turbidité (NTU) du moût de *Safrari* non malté. (B) : Contribution de chaque facteur sur le comportement général du modèle pour le suivi de la turbidité (NTU) du moût de *Safrari* malté.

Les modèles mathématiques montrent que, sous sa forme linéaire (X_1), l'impact de Hitempase 2XL sur la turbidité est significatif ($P = 0,000$; Tableau 3.10) pour la maïsche de *Safrari* non malté et, non significatif ($P = 0,408$) pour la maïsche de *Safrari* malté (Tableau 3.10). Cette action contribue à 22 % et à 2 % pour le cultivar *Safrari* non malté et malté respectivement (Figures 3.7A et 3.7B). Sous sa forme quadratique (X_1^2), l'action de Hitempase 2XL est statistiquement significative pour les deux types de maïsche ($P = 0,000$ et $P = 0,030$ respectivement ; Tableau 3.10). Sa contribution à la turbidité sous cette forme

quadratique (X_1^2) est en effet de 15 % et 10 % pour *Safrari* non malté et malté respectivement (Figures 3.7A et 3.7B).

La Figure 3.8A présente l'effet de Bioglucanase TX sur l'évolution de la turbidité (NTU) des moûts de *Safrari* non malté et *Safrari* malté. En absence de cette enzyme, la turbidité est respectivement de 0,40 NTU et 14,38 NTU. Après ajout de cette enzyme, on observe pour *Safrari* non malté, une augmentation de la turbidité jusqu'à un maximum de 1,09 NTU à 350,20 BGU. Ensuite, cette turbidité diminue et s'annule à 791,45 BGU. Pour le cas de *Safrari* malté, on observe une augmentation quasi linéaire jusqu'à 35,66 NTU à 937,50 BGU.

La Figure 3.8B présente l'effet de Bioglucanase TX sur l'évolution de la turbidité (NTU) des moûts de *Safrari* non malté et *Safrari* malté. Ceci, en présence de Hitempase (2000 U) et de Brewers Protease (60 mg). En absence de cette enzyme, la turbidité est respectivement de 4,12 NTU et 30,01 NTU. Après ajout de cette enzyme, on observe une augmentation de la turbidité jusqu'aux valeurs respectives de 11,23 NTU et 32,88 NTU à 937,50 BGU.

Les raisons évoquées ci-dessus pour expliquer les observations obtenues pour l'action de l'Hitempase sur *Safrari* malté et non malté restent en grande partie valables pour les tendances observées pour l'action de Bioglucanase TX (Figures 3.8A & B).

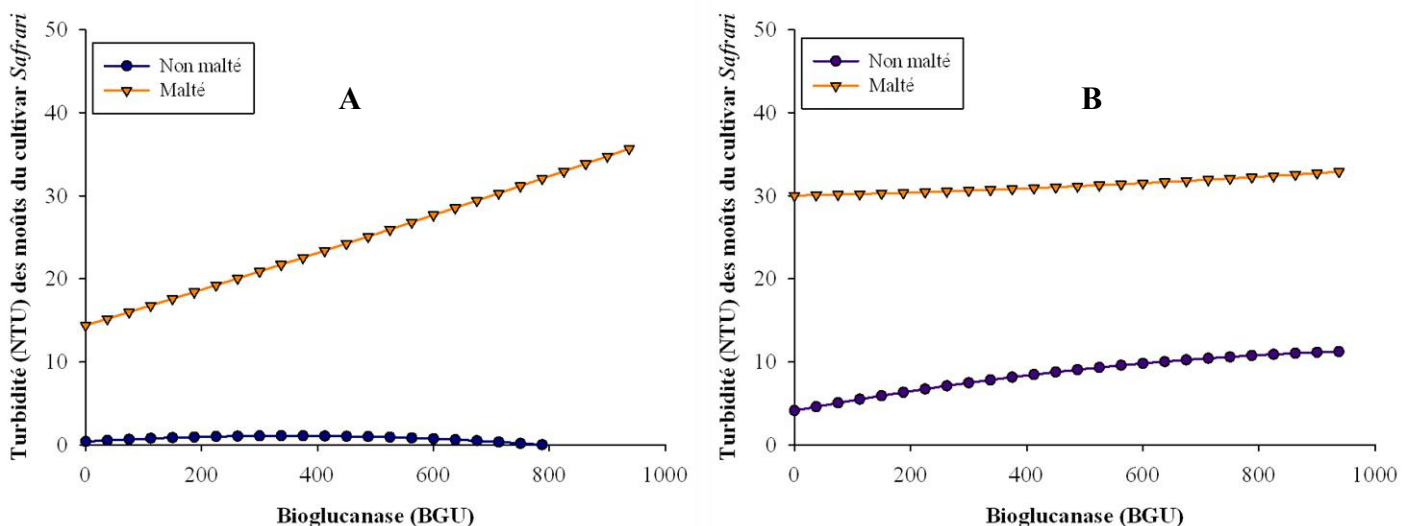


Figure 3.8. (A) : Effet de Bioglucanase TX sur l'évolution de la turbidité (NTU) des moûts de *Safrari*. (B) : Effet de Bioglucanase TX sur l'évolution de la turbidité (NTU) des moûts du cultivar *Safrari* en présence de Hitempase (2000 U) et de Brewers Protease (60 mg).

Les modèles mathématiques montrent que, sous sa forme linéaire (X_2), l'action de Bioglucanase TX est significative ($P = 0,000$ et $0,006$ pour *Safrari* non malté et malté respectivement ; Tableau 3.10). Les Figures 3.7A et 3.7B montrent que cette enzyme a contribué pour 19 % et 9 % pour *Safrari* non malté et malté respectivement. Sous sa forme quadratique (X_2^2), Bioglucanase TX a contribué pour 11 % et 1 % pour *Safrari* non malté et malté respectivement (Figures 3.7A & B). Ces contributions sont statistiquement significatives pour *Safrari* non malté, mais ne le sont pas pour *Safrari* malté ($P = 0,000$ et $0,832$; Tableau 3.10). La différence de turbidité entre les moûts de *Safrari* non malté et malté peut être une fois de plus attribuée aux enzymes synthétisées au cours du procédé de maltage.

La Figure 3.9A présente l'effet de Brewers Protease sur l'évolution de la turbidité (NTU) des moûts de *Safrari* non malté et *Safrari* malté. En absence de cette enzyme, la turbidité est respectivement de 0,40 NTU et 14,38 NTU. Après ajout de cette enzyme, on assiste à une augmentation de la turbidité des moûts de *Safrari* non malté ; on obtient ainsi la valeur maximale de 2,11 NTU à 100 mg de Brewers Protease ajoutée. Pour le cas de *Safrari* malté, l'ajout de cette enzyme conduit à une réduction de la turbidité jusqu'à une valeur nulle à 77,60 mg.

La Figure 3.9B présente l'effet de Brewers Protease sur l'évolution de la turbidité (NTU) des moûts de *Safrari* non malté et *Safrari* malté. Ceci, en présence d'Hitempase 2XL (2000 U) et de Bioglucanase TX (400 BGU). En absence de cette enzyme, la turbidité est respectivement de 7,12 NTU et 20,86 NTU. Après ajout de cette enzyme, on a une augmentation légère de la turbidité des moûts de *Safrari* non malté jusqu'à la valeur maximale de 8,78 NTU à 100 mg de Brewers Protease ajoutée. Pour le cas de *Safrari* malté, l'ajout de cette enzyme conduit à une augmentation de la turbidité jusqu'à un maximum de 31,12 NTU à 70,91 mg ajoutés puis, une réduction de celle-ci s'en suit jusqu'à 29,39 NTU à 100 mg.

Les résultats présentés aux Figures 3.9A & B montrent que l'enzyme Brewers Protease aurait un effet sur la turbidité des moûts de *Safrari* non malté. Pour le cas des moûts de *Safrari* malté, la turbidité maximale en absence de Brewers Protease et sa décroissance jusqu'à zéro avec augmentation en concentration de l'enzyme s'explique par le fait qu'elle hydrolyse le matériel colloïdal de nature protéique libéré par les enzymes intrinsèques développées pendant le maltage (Figure 3.9A). Il serait cependant utile de noter que cette diminution de la turbidité jusqu'à zéro donne l'impression qu'elle serait entièrement due à la présence des protéines. Quant au cas de *Safrari* malté, l'augmentation de la turbidité s'explique par le fait que les enzymes Hitempase 2XL et Bioglucanase TX auraient été

supplémentées en des quantités susceptibles soit de provoquer le trouble en libérant de la matière colloïdale, soit constituent elles-mêmes de la matière colloïdale (puisqu'elles sont protéiques) susceptibles à augmenter la turbidité, ou les deux effets à la fois (Figure 3.9B).

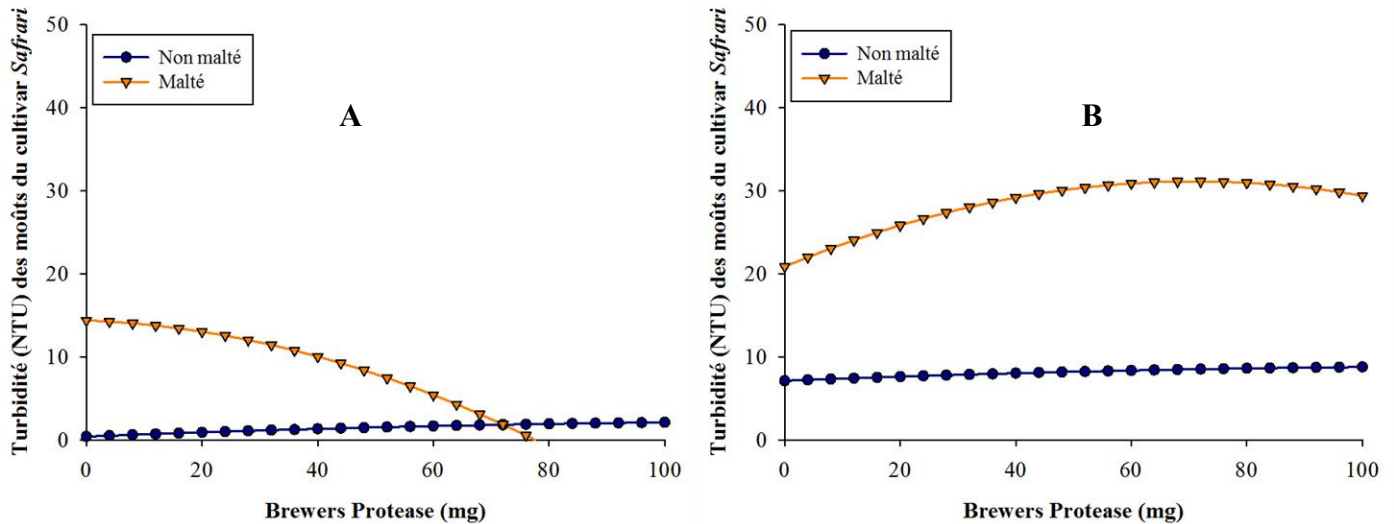


Figure 3.9. (A) : Effet de Brewers Protease sur l'évolution de la turbidité (NTU) des moûts de *Safrari*. (B) : Effet de Brewers Protease sur l'évolution de la turbidité (NTU) des moûts du cultivar *Safrari* en présence de Hitepase (2000 U) et de Bioglucanase (400 BGU).

Les modèles mathématiques montrent que, sous sa forme linéaire (X_3), l'impact de Brewers Protease est significatif aussi bien pour la turbidité des moûts de *Safrari* non malté que pour celle des moûts de *Safrari* malté ($P = 0,000$ et $0,023$ respectivement ; Tableau 3.10). Sa contribution pour la turbidité est de 7 % pour *Safrari* non malté et de 6 % pour *Safrari* malté (Figures 3.7A et 3.7B). L'impact de l'enzyme sous sa forme quadratique (X_3^2), n'est pas significatif pour *Safrari* non malté mais, est significatif pour *Safrari* malté ($P = 0,161$ et $0,009$ respectivement ; Tableau 3.10). Sa contribution pour la turbidité des moûts est de 2 % et 13 % respectivement (Figures 3.7A et 3.7B).

Les analyses statistiques (Tableau 3.11) présentent les impacts des interactions (X_1X_2 , X_1X_3 et X_2X_3) entre ces enzymes sur la turbidité des moûts. Les résultats sont présentés dans les Figures 3.7A et 3.7B. Globalement, elles sont statistiquement significatives aussi bien pour les maïsches de *Safrari* non malté ($P = 0,000$) que, pour les maïsches de *Safrari* malté ($P = 0,003$).

L'interaction X_1X_2 (annexe 6A), correspondant au couple Hitepase 2XL/Bioglucanase TX a un impact significatif, soient $P = 0,000$ et $P = 0,001$ sur la turbidité des moûts de *Safrari* non malté et malté respectivement (Tableau 3.10). Pour ce qui est de

Safrari non malté, les enzymes utilisées ne permettraient pas une dégradation suffisante au cours du brassage. Ainsi, les moûts obtenus sont troubles. La contribution de cette interaction est de 23 % (Figure 3.7A). Pour ce qui est de *Safrari* malté, la désagrégation n'étant pas complète au cours du maltage, ceci permettrait au couple Hitempase 2XL/Biogluconase TX de poursuivre l'hydrolyse et de libérer de façon significative plus de résidus insolubles présents dans la céréale, et qui augmenteraient la turbidité des moûts (annexe 6A). Sa contribution est de 27 % (Figure 3.7B).

L'interaction X_1X_3 (annexe 6B) correspondant au couple Hitempase 2XL/Brewers Protease n'a pas d'impact significatif ($P = 0,804$) sur la turbidité des moûts de *Safrari* non malté (Tableau 3.10). En effet, l'enzyme Brewers Protease n'hydrolyserait qu'une partie des protéines et, les résidus de protéines insolubles qui en résultent ne sont pas en quantité suffisante pour engendrer une augmentation significative du trouble. Quant à l'Hitempase 2XL, le nombre de granules d'amidon supplémentaires n'étant pas libérés par Brewers Protease, son action est non significative, le résultat étant un synergisme non significatif pour *Safrari* non malté. La contribution de cette interaction est de 0 % (Figure 3.7A). Pour ce qui est de *Safrari* malté, l'interaction X_1X_3 a un impact significatif ($P = 0,043$) sur l'augmentation de la turbidité des moûts (Tableau 3.10). *Safrari* malté est plus riche en protéines (Nso *et al.*, 2003). Une hydrolyse incomplète de ces protéines par ces enzymes au cours du brassage peut donc expliquer cela. Malgré l'action d'Hitempase 2XL et des autres enzymes du malt de *Safrari*, cette augmentation du trouble dans les moûts de *Safrari* malté peut être attribuée majoritairement aux protéines (annexe 6B). La contribution de cette interaction est de 13 % (Figure 3.7B).

L'interaction X_2X_3 (annexe 6C) correspondant au couple Biogluconase TX/Brewers Protease n'a pas d'impact significatif ($P = 0,942$) sur l'augmentation de la turbidité des moûts de *Safrari* non malté (Tableau 3.10). En effet, il s'agit de deux enzymes qui n'ont pas d'impact direct sur l'hydrolyse de l'amidon et donc sur la production du moût. Soit par ricochet une synergie non significative. La contribution de cette interaction est de 1 % (Figure 3.7A). Pour ce qui est de *Safrari* malté, cette interaction est significative ($P = 0,010$; Tableau 3.10). Tout se passerait comme si le supplément en enzymes exogènes (Brewers Protease et Biogluconase TX) poursuivait l'hydrolyse des protéines et β -glucanes et, la conséquence étant un ajout significatif en résidus responsables du trouble dans le moût (annexe 6C). Sa contribution est de 19 % (Figure 3.7B).

Le tableau 3.12 confirme statistiquement l'observation selon laquelle les échantillons de *Safrari* malté associés aux enzymes ont des moûts plus troubles que ceux de *Safrari* non malté associés aux enzymes (P = 0,000).

Tableau 3.12 : Analyse de Variance pour comparaison entre les turbidités des moûts de *Safrari* non malté et malté.

Source	Ddl	Somme des carrés	Carrés moyens	F	Probabilité
Inter-groupes	1	3651,76	3651,76	123,77	0,000
Intra-groupes	32	929,109	29,034		
Total	33	4580,86			

III-3-2-3) La teneur en sucres réducteurs.

L'objectif de la fermentation en brasserie est de convertir les sucres en alcool et CO₂, les composants majeurs de la bière. La teneur en sucres, notamment les sucres réducteurs, constitue une donnée importante qui permet au brasseur de prédire la teneur finale en alcool dans sa bière au terme de la fermentation (Briggs *et al.*, 2004). Une modélisation mathématique autour de l'action des enzymes brassicoles qui facilitent et assurent la conversion de l'amidon en sucres réducteurs fermentescibles et autres matières solubles lors du brassage, permettrait de comprendre l'impact de chaque enzyme sur le profil ces sucres dans le moût.

Les modèles mathématiques obtenus tiennent compte des variables codées (section II-2-6-1) et se présentent comme suit respectivement pour *Safrari* non malté et *Safrari* malté :

$$Y_{SafSRed}(X_1, X_2, X_3) = 99,804 + 29,007X_1 + 10,153X_2 - 4,522X_3 + 3,376X_1X_2 - 5,800X_1X_3 - 13,731X_2X_3 - 41,448X_1^2 - 3,968X_2^2 - 0,818X_3^2 \quad [3.5]$$

$$Y_{SafMSRed}(X_1, X_2, X_3) = 131,976 + 9,344X_1 - 10,252X_2 - 9,124X_3 + 19,873X_1X_2 + 80,639X_1X_3 + 10,301X_2X_3 - 31,406X_1^2 - 31,500X_2^2 - 11,548X_3^2 \quad [3.6]$$

Avec

$Y_{SafSRed}(X_1, X_2, X_3)$ = Modèle mathématique pour le cultivar *Safrari* non malté dont la réponse est la teneur en sucres réducteurs.

$Y_{SafMSRed}(X_1, X_2, X_3)$ = Modèle mathématique pour le cultivar *Safrari* malté dont la réponse est la teneur en sucres réducteurs.

X_1 = Hitempase (α -amylase), X_2 = Bioglucanase (β -glucanase) et X_3 = Brewers Protease (Protéase).

Il s'agit des modèles mathématiques polynomiaux à plusieurs variables. Ces modèles sont du second degré avec interactions et leurs caractéristiques sont consignées dans le tableau 3.13.

Tableau 3.13 : Caractéristiques des modèles mathématiques pour l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des moûts du cultivar *Safrari* (non malté et malté)

Modèles	R^2	AADM	B_f	A_{f1}
$Y_{SafSRed}(X_1, X_2, X_3)$	0,975	0,101	1,040	1,080
$Y_{SafMSRed}(X_1, X_2, X_3)$	0,990	0,021	1,000	1,020

Les valeurs de R^2 , AADM, B_f et A_{f1} du Tableau 3.13 permettent de valider les modèles pour l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des moûts du cultivar *Safrari* (non malté et malté), ceci conformément à la littérature (Ross, 1996, Dalgaard and Jorgensen, 1998, Baranyi *et al.*, 1999).

Les facteurs des modèles sont linéaires ou du premier degré (X_1 , X_2 et X_3), quadratique ou du second degré (X_1^2 , X_2^2 et X_3^2) et sous forme d'interactions (X_1X_2 , X_1X_3 , X_2X_3). Ils sont statistiquement considérés significatifs ou pas si la probabilité (P) est ≤ 0.05 ou le ≥ 0.05 respectivement (Tableaux 3.14 et 3.15).

Tableau 3.14 : Estimation des coefficients de régression pour l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des moûts de *Safrari*.

Effets	Coefficient		Erreur Standard		t		Probabilité	
	Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté
CONSTANTE	99,804	131,976	3,197	1,938	31,217	68,108	0,000	0,000
X ₁	29,007	9,344	3,289	1,993	8,82	4,688	0,000	0,002
X ₂	10,153	-10,252	2,868	1,738	3,066	-5,108	0,018	0,001
X ₃	-4,522	-9,124	2,71	1,642	-1,362	-4,533	0,216	0,003
X ₁ ²	-41,448	-31,406	5,638	3,417	-7,351	-9,19	0,000	0,000
X ₂ ²	-3,968	-31,5	4,103	2,487	-0,725	-9,499	0,492	0,000
X ₃ ²	-0,818	-11,548	3,54	2,145	-0,154	-3,584	0,882	0,009
X ₁ *X ₂	3,376	19,873	6,437	3,901	0,454	4,411	0,663	0,003
X ₂ *X ₃	-13,731	10,301	5,665	3,434	-1,713	2,12	0,130	0,072
X ₁ *X ₃	-5,8	80,639	6,707	4,065	-0,706	16,186	0,503	0,000

Tableau 3.15 : Analyse de Variance pour l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des moutés de *Safrari*.

Source	dl	Somme des carrés		Carrés moyens		F		Probabilité	
		Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté
Régression	9	12650,765	11623,844	1405,641	1291,538	30,804	77,047	0,000	0,000
Linéaire	3	8527,165	2482,605	2842,388	827,535	62,29	49,367	0,000	0,000
Quadratique	3	3941,669	583,306	1313,89	194,435	28,793	11,599	0,000	0,004
Interactions	3	181,932	8557,933	60,644	2852,644	1,329	170,175	0,339	0,000
Erreur résiduelle	7	319,423	117,341	45,632	16,763				
Erreur totale	16	12970,188	11741,185						

La Figure 3.10A présente l'effet de Hitempase 2XL sur l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des moûts de *Safrari* non malté et *Safrari* malté. En absence de cette enzyme, les teneurs en sucres réducteurs sont respectivement de 9,65 g/L et 166,53 g/L. Pour le cas de *Safrari* non malté, un ajout de cette enzyme conduit à une teneur en sucres réducteurs maximale de 87,65 g/L à 2057,70 U. On note par la suite une diminution de cette teneur en sucres réducteurs jusqu'à 71,29 g/L à 3000 U. Pour le cas de *Safrari* malté, l'ajout d'Hitempase 2XL entraîne une diminution de la teneur en sucres réducteurs jusqu'à 19,19 g/L à 3000 U. Un ajout de 2133,70 U conduit aussi bien pour *Safrari* non malté que pour *Safrari* malté à une teneur en sucres réducteurs de 87,54 g/L.

La Figure 3.10B présente l'effet de Hitempase 2XL sur l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des moûts de *Safrari* non malté et *Safrari* malté. Ceci, en présence de Bioglucanase TX (400 BGU) et de Brewers Protease (60 mg). En absence de cette enzyme, les teneurs en sucres réducteurs sont respectivement de 28,90 g/L et 79,38 g/L. Un ajout de cette enzyme conduit aussi bien pour *Safrari* non malté que pour *Safrari* malté à, une augmentation de la teneur en sucres réducteurs jusqu'aux valeurs maximales respectives de 102,59 g/L et 133,94 g/L à 2000 U et 1977,1 U respectivement. On note par la suite pour les deux cas, une diminution de cette teneur en sucres réducteurs jusqu'aux valeurs respectives de 84,17 g/L et 119,34 g/L à 3000 U.

Dans les deux types de maïsche, la mouture faciliterait la dissolution des sucres réducteurs, d'où leur présence dans les moûts en l'absence d'Hitempase 2XL (Figures 3.10A et 3.10B). Pour le cas de *Safrari* non malté, Hitempase 2XL contribue aux quantités les plus élevées de sucres réducteurs dans les moûts, résultant de son action sur l'amidon (Goode *et al.*, 2003, Phiarais *et al.*, 2006, Desobgo *et al.*, 2010). La diminution régulière de la teneur en sucres réducteurs de la maïsche pourrait être attribuée aux réactions de Maillard entre les composés azotés solubles et les sucres réducteurs (Hough *et al.*, 1982), obtenus en raison plus tôt de l'action des enzymes hydrolytiques synthétisées pendant le maltage (Figures 3.10A et 3.10B). Le contenu maximal de sucres réducteurs observé pour le moût de *Safrari* malté en l'absence de Hitempase 2XL est cependant attribué aux vertus normales que le procédé de maltage donne au cours du brassage des céréales, en termes de synthèse et développement des enzymes hydrolytiques. Ceci explique pourquoi bien que connu pour être l'enzyme principale du brassage, les suppléments de Hitempase 2XL (α -amylase) semblent être inutiles dans la production des sucres réducteurs, les enzymes synthétisées pendant le maltage seraient en quantité suffisante pour assurer l'hydrolyse de l'amidon et le système enzymatique semble

déséquilibré. Un système enzymatique équilibré expliquerait un meilleur brassage pour le cas de *Safrari* malté (Figure 3.10B).

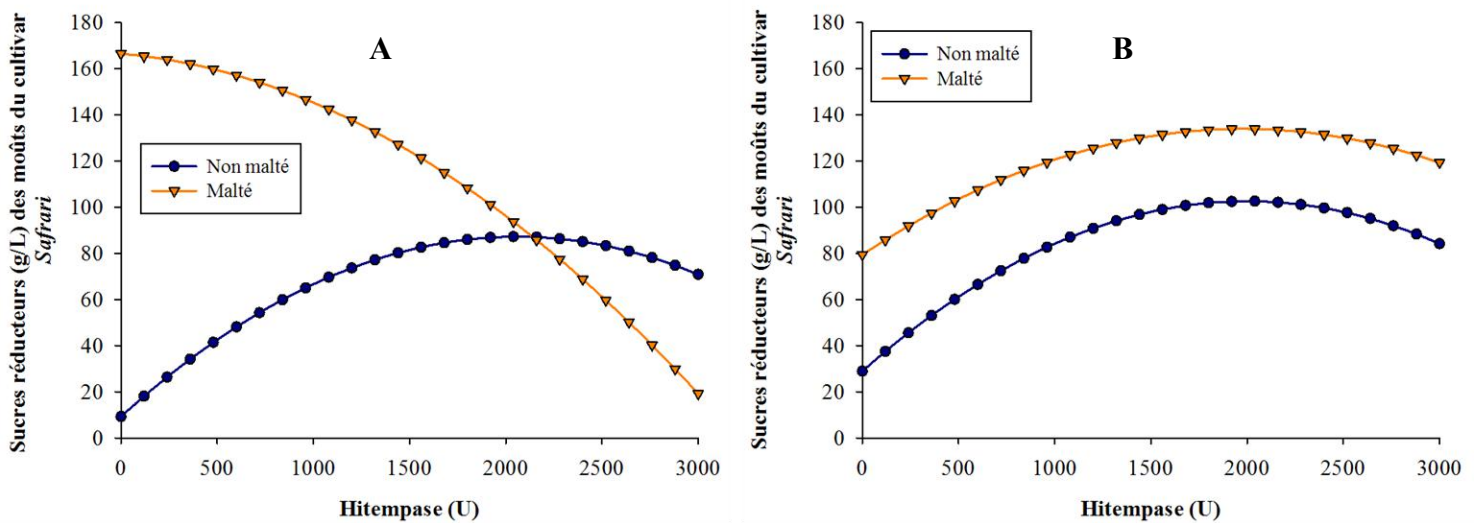


Figure 3.10. (A) : Effet de Hitempase sur l'évolution de la teneur en sucres réducteurs (g/L) des moûts de *Safrari*. (B) : Effet de Hitempase sur l'évolution de la teneur en sucres réducteurs (g/L) des moûts de *Safrari* en présence de Bioglucanase (400BGU) et de Brewers Protease (60 mg).

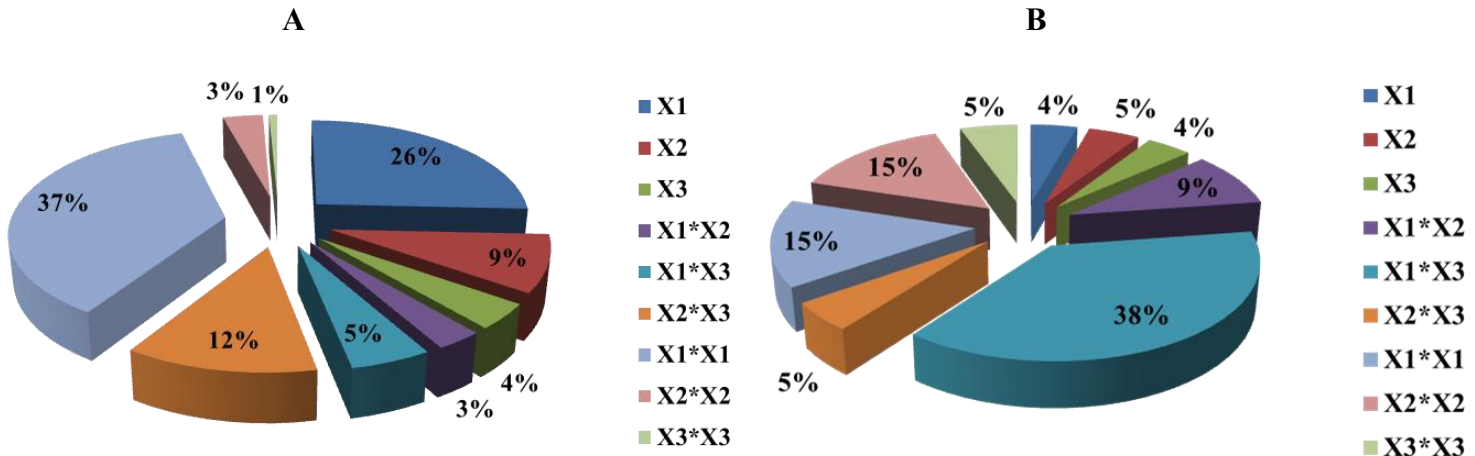


Figure 3.11. (A) : Contribution de chaque facteur sur le comportement général du modèle pour le suivi de la teneur en sucres réducteurs des moûts de *Safrari* non malté. (B) : Contribution de chaque facteur sur le comportement général du modèle pour le suivi de la teneur en sucres réducteurs des moûts de *Safrari* malté.

Les modèles mathématiques montrent que, sous sa forme linéaire (X_1), l'impact de Hitempase 2XL sur la teneur en sucres réducteurs est significatif ($P = 0,000$ et $0,002$; Tableau 3.14) pour les moûts de *Safrari* non malté et malté. Cette action contribue à 26 % et à 4 %

pour *Safrari* non malté et malté respectivement (Figures 3.11A et 3.11B). Sous sa forme quadratique (X_1^2), l'action de Hitempase 2XL est statistiquement significative pour les deux types de maïsche ($P = 0,000$; Tableau 3.14). Sa contribution à la teneur en sucres réducteurs sous cette forme quadratique (X_1^2) est en effet de 37 % et de 15 % pour *Safrari* non malté et malté respectivement (Figures 3.11A et 3.11B).

La Figure 3.12A montre l'effet de Bioglucanase TX sur l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des moûts de *Safrari* non malté et *Safrari* malté. En absence de cette enzyme, les teneurs en sucres réducteurs sont respectivement de 9,65 g/L et 166,53 g/L. Pour le cas de *Safrari* non malté, l'ajout de cette enzyme entraîne une augmentation de la teneur en sucres réducteurs jusqu'à 40,80 g/L à 937,50 BGU. Pour le cas de *Safrari* malté, l'addition de cette même enzyme entraîne, dans un premier temps, une augmentation de la teneur en sucres réducteurs des moûts, jusqu'à atteindre un maximum à 168,57 g/L à 137,71 BGU. Ensuite, une diminution de la teneur en sucres réducteurs s'en suit jusqu'à 99,79 g/L à 937,50 BGU.

La Figure 3.12B montre l'effet de Bioglucanase TX sur l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des moûts de *Safrari* non malté et *Safrari* malté, en présence de Hitempase 2XL (2000 U) et de Brewers Protease (60 mg). En absence de cette enzyme, les teneurs en sucres réducteurs sont respectivement de 93,43 g/L et 112,26 g/L. Pour le cas de *Safrari* non malté, l'ajout de cette enzyme conduit à une augmentation de la teneur en sucres réducteurs jusqu'à 109,09 g/L à 937,50 BGU. Pour le cas de *Safrari* malté, l'introduction de cette même enzyme entraîne d'abord, une augmentation de la teneur en sucres réducteurs des moûts, jusqu'à atteindre un maximum à 134,23 g/L à 452,04 BGU. Ensuite, une diminution de la teneur en sucres réducteurs s'en suit jusqu'à 108,89 g/L à 937,50 BGU.

Comme pour les cas précédents, la mouture et le maltage justifient la teneur en sucres réducteurs présents en absence de Bioglucanase TX (Figure 3.12A). Dans la Figure 3.12B, les mêmes raisons sont valables sauf que, on doit y associer l'action des enzymes supplémentaires (Hitempase 2XL et Brewers Protease). L'augmentation en sucres réducteurs due à l'action de Bioglucanase TX sur la maïsche de *Safrari* non malté peut être attribuée à sa capacité d'hydrolyser les β -glucanes en glucose et d'autres hydrates de carbone solubles (Briggs, 1998). Contrairement à Hitempase 2XL, Bioglucanase n'est donc pas une enzyme primordiale pour la production de sucres réducteurs pendant le brassage. La diminution quant à elle s'explique par les réactions de Maillard.

Les modèles mathématiques montrent que, sous sa forme linéaire (X_2), l'action de Bioglucanase TX est significative ($P = 0,018$ et $0,001$ pour *Safrari* non malté et malté respectivement ; Tableau 3.14). Les Figures 3.11A et 3.11B montrent que cette enzyme a

contribué pour 9 % et 5 % des sucres réducteurs pour *Safrari* non malté et malté respectivement. Sous sa forme quadratique (X_2^2), Bioglucanase TX contribue pour 3 % et 15 % des sucres réducteurs pour *Safrari* non malté et malté respectivement (Figures 3.11A et 3.11B). Ces contributions ne sont pas statistiquement significatives pour *Safrari* non malté, mais le sont pour *Safrari* malté ($P = 0,492$ et $0,000$; Tableau 3.14). La différence de teneur en sucres réducteurs entre les moûts de *Safrari* non malté et malté peut être attribuée aux vertus normales du procédé de maltage.

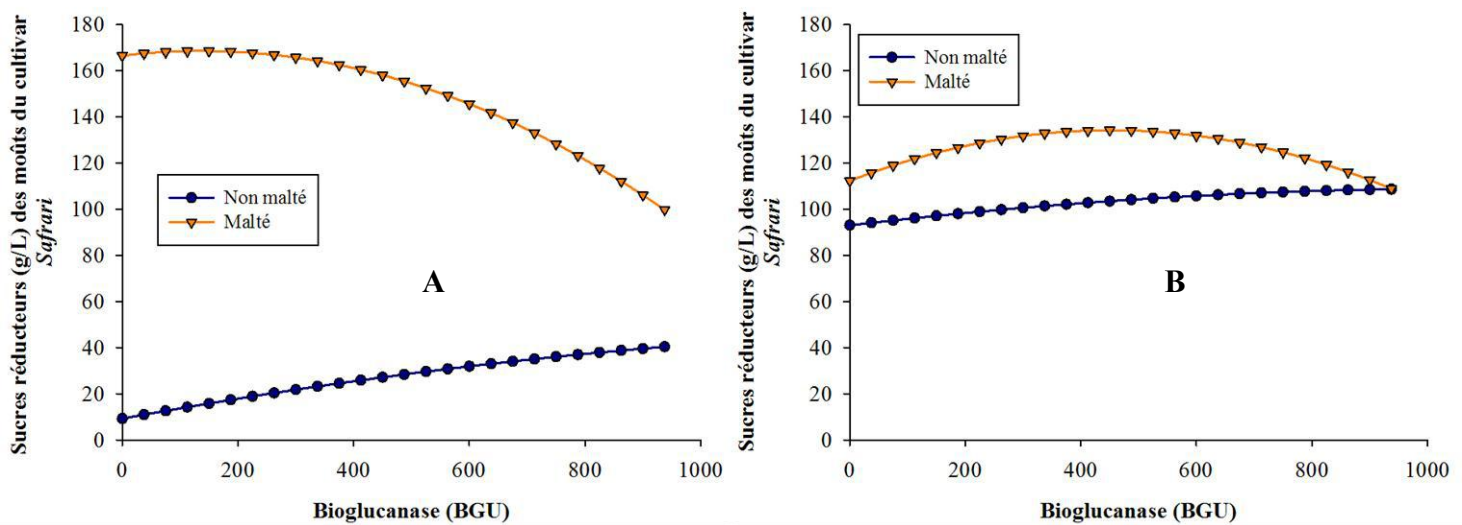


Figure 3.12. (A) : Effet de Bioglucanase TX sur l'évolution de la teneur en sucres réducteurs (g/L) des moûts de *Safrari*. (B) : Effet de Bioglucanase sur l'évolution de la teneur en sucres réducteurs (g/L) des moûts de *Safrari* en présence de Hitempase 2XL (2000 U) et de Brewers Protease (60 mg).

La Figure 3.13A montre l'effet de Brewers Protease sur l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des moûts de *Safrari* non malté et *Safrari* malté. En absence de cette enzyme, les teneurs en sucres réducteurs sont respectivement de 9,65 g/L et 166,53 g/L. Pour le cas de *Safrari* non malté, l'ajout de cette enzyme entraîne une augmentation de la teneur en sucres réducteurs jusqu'à 31,15 g/L à 100 mg. Pour le cas de *Safrari* malté, l'addition de cette même enzyme entraîne une diminution de la teneur en sucres réducteurs jusqu'à 5,48 g/L à 100 mg. Après ajout de 87,63 mg de Brewers Protease, on obtient aussi bien pour *Safrari* non malté que pour *Safrari* malté, une teneur en sucres réducteurs de 28,72 g/L.

La Figure 3.13B montre l'effet de Brewers Protease sur l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des moûts de *Safrari* non malté et *Safrari* malté en présence de Hitempase 2XL (2000 U) et de Bioglucanase TX (400 BGU). En absence de cette enzyme, les teneurs en

sucres réducteurs sont respectivement de 106,68 g/L et 110,45 g/L. Pour le cas de *Safrari* non malté, l'ajout de cette enzyme entraîne une diminution de la teneur en sucres réducteurs jusqu'à 98,99 g/L à 100 mg. Pour le cas de *Safrari* malté, l'addition de cette enzyme entraîne une augmentation de la teneur en sucres réducteurs jusqu'à 137,42 g/L à 93,64 mg ; A 100 mg de Brewers Protease ajoutée, on obtient une teneur en sucres réducteurs de 137,30 g/L.

Comme observées pour Bioglucanase TX, les quantités maximales en sucres réducteurs sont obtenues en brassant avec *Safrari* malté, même en l'absence de Brewers Protease. Ceci est attribué aux vertus connues du procédé de maltage comme expliqué plus haut. On observe une diminution de la teneur en sucres réducteurs avec l'augmentation des concentrations de Brewers Protease. Ceci peut être expliqué par le fait que cette enzyme a déchargé dans le milieu des substances azotées solubles (acides aminés et d'autres) qui ont réagi avec les sucres réducteurs (produits pendant le procédé de maltage).

Les modèles mathématiques montrent que, sous sa forme linéaire (X_3), l'impact de Brewers Protease n'est pas significatif pour la maïsche de *Safrari* non malté, mais il l'est pour la maïsche de *Safrari* malté ($P = 0,216$ et $0,003$ respectivement ; Tableau 3.14). Sa contribution pour les sucres réducteurs est à peine de 4 % pour les deux types de moûts (Figures 3.11A et 3.11B). L'impact de l'enzyme sous sa forme quadratique (X_3^2), n'est pas significatif pour la maïsche de *Safrari* non malté mais, il l'est pour la maïsche de *Safrari* malté ($P = 0,882$ et $0,009$ respectivement ; Tableau 3.14). Sa contribution pour les sucres réducteurs est de 1 % et 5% respectivement (Figures 3.11A et 3.11B).

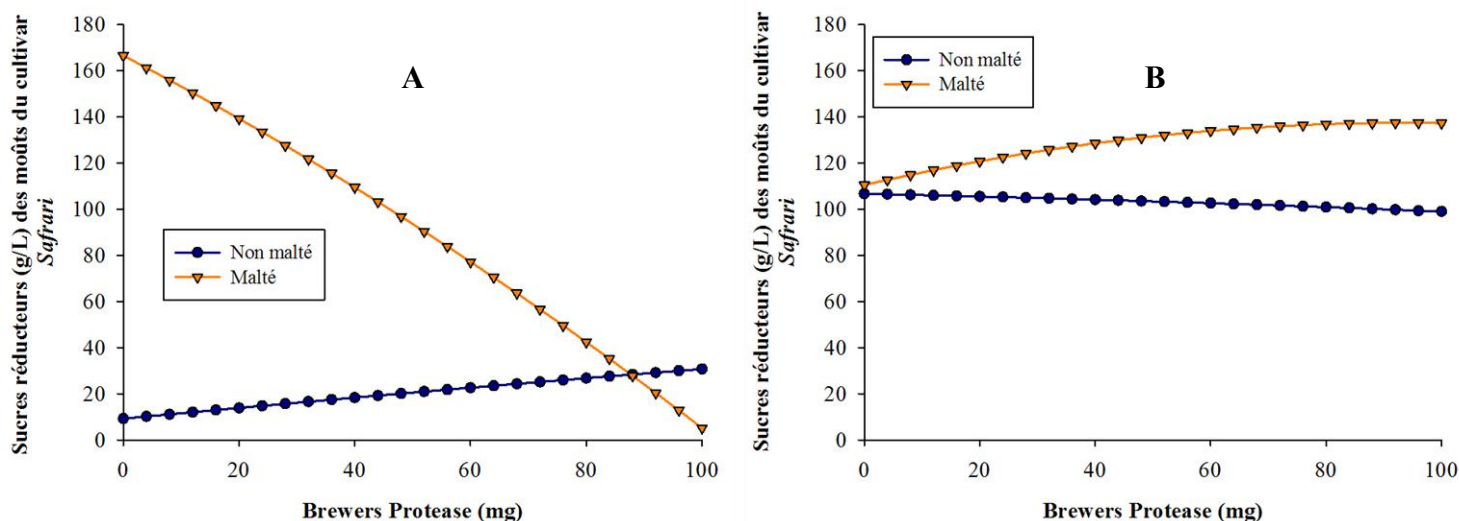


Figure 3.13. (A) : Effet de Brewers Protease sur l'évolution de la teneur en sucres réducteurs (g/L) des moûts de *Safrari*. (B) : Effet de Brewers Protease sur l'évolution de la teneur en sucres réducteurs (g/L) des moûts de *Safrari* en présence de Hitempase (2000 U) et de Bioglucanase (400 BGU).

Les impacts des interactions (X_1X_2 , X_1X_3 et X_2X_3) entre ces enzymes sur la teneur en sucres réducteurs. Les résultats sont présentés dans les Figures 3.11A et 3.11B. Globalement, ils ne sont pas statistiquement significatifs pour les maïsches de *Safrari* non malté ($P = 0,339$; Tableau 3.15), mais le sont pour les maïsches de *Safrari* malté ($P = 0,000$; Tableau 3.15).

L'interaction X_1X_2 (annexe 7A) correspondant au couple Hitempase 2XL/Bioglucanase TX n'a aucun impact significatif sur les maïsches de *Safrari* non malté, mais l'a pour les maïsches de *Safrari* malté ($P = 0,663$ et $0,003$ respectivement ; Tableau 3.14). Elle contribue pour simplement 3 % de sucres réducteurs pour la maïsche de *Safrari* non malté et 9 % pour la maïsche de *Safrari* malté (Figures 3.11A et 3.11B).

L'interaction X_1X_3 (annexe 7B) correspondant au couple Hitempase 2XL/Brewers Protease, n'a également aucun impact significatif sur la teneur en sucres réducteurs de *Safrari* non malté, mais en a sur la teneur en sucres réducteurs de *Safrari* malté ($P = 0,503$ et $0,000$ respectivement ; Tableau 3.14). Sa contribution pour la teneur en sucres réducteurs est simplement de 5 % pour *Safrari* non malté, mais pas moins de 38 % pour *Safrari* malté (Figures 3.11A et 3.11B). Cette différence remarquée est attribuée en grande partie aux vertus du procédé de maltage et pas simplement à l'interaction Hitempase 2XL/Brewers Protease en soi. L'hydrolyse efficace de l'amidon par l' α -amylase se produit en effet seulement après hydrolyse des β -glucanes des céréales par la β -glucanase, suivie de la libération des granules d'amidon dus à la protéolyse de la matrice de protéines les enrobant. Ceci devrait être les séquences d'opérations normales qui expliqueraient les résultats obtenus pour *Safrari* malté par rapport à *Safrari* non malté.

L'interaction X_2X_3 (annexe 7C) correspondant au couple Bioglucanase TX/Brewers Protease n'a aucun impact significatif sur la teneur en sucres réducteurs pour les moûts de *Safrari* non malté et malté ($P = 0,130$ et $0,072$ respectivement ; Tableau 3.14). Sa contribution pour la teneur en sucres réducteurs est de 12 % et 5 % respectivement pour les deux types de maïsches (Figures 3.11A et 3.11B). Le couple Bioglucanase TX/Brewers Protease joue un rôle de soutien pour l'hydrolyse de l'amidon pendant le brassage (Desobgo *et al.*, 2010).

Le Tableau 3.16 confirme statistiquement l'observation selon laquelle les échantillons de *Safrari* malté associés aux enzymes ont un potentiel plus important pour la production des sucres réducteurs que ceux de *Safrari* non malté associés aux enzymes ($P = 0,001$).

Tableau 3.16 : Analyse de Variance pour comparaison entre les sucres réducteurs des moûts de *Safrari* non malté et malté.

Source	Ddl	Somme des carrés	Carrés moyens	F	Probabilité
Inter-groupes	1	9200,22	9200,22	11,91	0,0016
Intra-groupes	32	24711,4	772,23		
Total	33	33911,6			

III-3-2-4) La teneur en acides aminés libres.

Une des fonctions du malt est de procurer une source en azote assimilable par les levures pendant la fermentation. Au cours du maltage, les enzymes nécessaires pour achever la solubilisation des protéines en azote assimilable par la levure pendant le brassage se développent. Ces azotes assimilables sont notamment les acides aminés libres et peptides qui, entre autres, sont également critiques pour la qualité de la bière (Jones and Marinac, 2002). Il est donc important de modéliser et optimiser l'action de ces enzymes sur cette réponse.

Les modèles mathématiques obtenus tiennent compte des variables codées (section II-2-6-1) et se présentent comme suit respectivement pour *Safrari* non malté et *Safrari* malté :

$$Y_{SafAAL}(X_1, X_2, X_3) = 91,781 + 24,992X_1 - 19,234X_2 + 35,693X_3 + 2,892X_1X_2 + 12,142X_1X_3 + 14,822X_2X_3 - 26,014X_1^2 + 20,723X_2^2 - 11,921X_3^2 \quad [3.7]$$

$$Y_{SafMAAL}(X_1, X_2, X_3) = 136,969 + 38,884X_1 - 23,975X_2 + 51,247X_3 + 12,243X_1X_2 + 15,682X_1X_3 + 31,393X_2X_3 - 44,536X_1^2 + 28,806X_2^2 - 17,579X_3^2 \quad [3.8]$$

Avec

$Y_{SafAAL}(X_1, X_2, X_3)$ = Modèle mathématique pour le cultivar *Safrari* non malté dont la réponse est la teneur en acides aminés libres (AAL).

$Y_{SafMAAL}(X_1, X_2, X_3)$ = Modèle mathématique pour le cultivar *Safrari* malté dont la réponse est la teneur en acides aminés libres (AAL).

X_1 = Hitempase 2XL (α -amylase), X_2 = Bioglucanase TX (β -glucanase) et X_3 = Brewers Protease (Protéase).

Il s'agit des modèles mathématiques polynomiaux à plusieurs variables. Ces modèles sont du second degré avec interactions et leurs caractéristiques sont consignées dans le tableau 3.17.

Tableau 3.17 : Caractéristiques des modèles mathématiques pour l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts du cultivar *Safrari* (non malté et malté)

Modèles	R²	AADM	B_f	A_{fl}
Y _{SafAAL} (X ₁ , X ₂ , X ₃)	0,944	0,073	1,000	1,080
Y _{SafMAAL} (X ₁ , X ₂ , X ₃)	0,955	0,060	1,000	1,060

Les valeurs de R², AADM, B_f et A_{fl} du Tableau 3.17 permettent de valider les modèles pour l'évolution de la teneur en sucres réducteurs des moûts du cultivar *Madjeru* (non malté et malté), ceci conformément à la littérature (Ross, 1996, Dalgaard and Jorgensen, 1998, Baranyi *et al.*, 1999).

Les facteurs des modèles sont linéaires (X₁, X₂ et X₃), quadratiques (X₁², X₂² et X₃²) et avec interactions (X₁X₂, X₁X₃ et X₂X₃). Ils sont statistiquement considérés significatifs ou non pour l'enrichissement du moût en acides aminés libres (AAL) si la probabilité (P) est de ≤ 0,05 ou ≥ 0,05 respectivement (Tableaux 3.18 et 3.19).

Tableau 3.18 : Estimation des coefficients des modèles pour l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts de *Safrari*.

Effets	Coefficient		Erreur Standard		t		Probabilité	
	Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté
CONSTANTE	91,781	136,969	4,75	6,148	19,321	22,278	0,000	0,000
X ₁	24,992	38,884	4,886	6,325	5,115	6,148	0,001	0,000
X ₂	-19,234	-23,975	4,261	5,515	-3,909	-3,765	0,006	0,007
X ₃	35,693	51,247	4,026	5,211	7,234	8,025	0,000	0,000
X ₁ ²	-26,014	-44,536	8,377	10,843	-3,105	-4,107	0,017	0,005
X ₂ ²	20,723	28,806	6,097	7,891	2,549	2,738	0,038	0,029
X ₃ ²	-11,921	-17,579	5,259	6,807	-1,509	-1,72	0,175	0,129
X ₁ *X ₂	2,892	12,243	9,563	12,378	0,262	0,857	0,801	0,420
X ₂ *X ₃	14,822	31,393	8,418	10,895	1,244	2,036	0,253	0,081
X ₁ *X ₃	12,142	15,682	9,966	12,899	0,994	0,992	0,353	0,354

Tableau 3.19 : Analyse de Variance pour l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts de *Safrari*.

Source	dl	Somme des carrés		Carrés moyens		F		Probabilité	
		Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté	Non malté	Malté
Régression	9	11814,795	25319,503	1312,755	2813,278	13,032	16,671	0,001	0,001
Linéaire	3	9794,014	20169,469	3264,671	6723,156	32,408	39,841	0,000	0,000
Quadratique	3	1577,067	3427,379	525,689	1142,46	5,218	6,77	0,033	0,018
Interactions	3	443,714	1722,655	147,905	574,218	1,468	3,403	0,303	0,083
Erreur résiduelle	7	705,153	1181,253	100,736	168,75				
Erreur totale	16	12519,948	26500,756						

La Figure 3.14A présente l'effet de l'Hitempase 2XL (α -Amylase) sur l'évolution de la teneur en acides aminés libres (AAL) des moûts de *Safrari* non malté et *Safrari* malté. En l'absence de cette enzyme, la teneur en AAL est respectivement de 58,79 mg/L et 87,97 mg/L. Un ajout de cette enzyme conduit aussi bien pour *Safrari* non malté que pour *Safrari* malté à une augmentation de la teneur en AAL des moûts, jusqu'aux valeurs respectives de 98,91 mg/L et 149,34 mg/L à 1862,70 U et 1760,80 U respectivement. Par la suite, on observe pour les deux cas, une réduction de la teneur en AAL jusqu'aux valeurs respectives de 83,95 mg/L et 118,94 mg/L à 3000 U.

La Figure 3.14B montre l'effet de Hitempase 2XL sur l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts de *Safrari* non malté et *Safrari* malté, en présence de Bioglucanase TX (400 BGU) et de Brewers Protease (60 mg). En l'absence de cette enzyme, la teneur en AAL est respectivement de 47,13 mg/L et 63,30 mg/L. L'addition de cette enzyme conduit d'abord aussi bien pour *Safrari* non malté que pour *Safrari* malté à une augmentation de la teneur en AAL des moûts, jusqu'aux valeurs respectives de 106,56 mg/L et 156,66 mg/L à 2267 U et 2171,70 U respectivement. Ensuite, on obtient pour les deux cas, une réduction de la teneur en AAL jusqu'aux valeurs respectives de 100,35 mg/L et 143,08 mg/L à 3000 U.

Les Figures 3.14A et 3.14B montrent que, aussi bien pour *Safrari* non malté que pour *Safrari* malté, la teneur en AAL à l'origine est bien au-dessus de zéro. Ceci suggère que la mouture et le maltage sont à la base de la présence d'une bonne quantité d'AAL au début du brassage. Bien que Hitempase 2XL ne soit pas une enzyme qui hydrolyse les protéines, il expose des fonctions aminées lors de son action sur les granules d'amidon. Ceci peut expliquer l'augmentation de la teneur en AAL observée avec l'augmentation de la concentration en Hitempase 2XL (Figures 3.14A et 3.14B). La teneur plus élevée d'AAL pour les moûts de *Safrari* malté par rapport à ceux de *Safrari* non malté, est attribuée aux vertus normales que les grains encourent pendant le procédé de maltage. Un équilibre entre les quantités d'enzymes afin d'obtenir une teneur maximale en AAL, et sa diminution due aux réactions avec des sucres dans le milieu (Hough *et al.*, 1982) doit être connu pour comprendre clairement cette indifférence d'allures.

Les modèles mathématiques montrent que, sous sa forme linéaire (X_1), Hitempase 2XL contribue pour 15 % de la teneur en AAL des moûts aussi bien de *Safrari* non malté que de *Safrari* malté (Figures 3.15A et 3.15B). Cette contribution est statistiquement significative pour les deux types de moûts ($P = 0,001$ et $0,000$ respectivement ; Tableau 3.18). De même, sous sa forme quadratique (X_1^2), l'effet de Hitempase 2XL est significatif pour les deux types

de moûts ($P = 0,017$ et $0,005$ respectivement ; Tableau 3.18). Sa contribution sous cette forme est de 16 % et 17 % respectivement (Figures 3.15A et 3.15B). La petite différence dans la contribution sur la teneur en AAL (± 2 %) entre ses formes linéaires et quadratiques (enzyme supplémentée en excès), suggère que la supplémentation en excès de Hitempase 2XL est pour ce cas sans intérêt technologique.

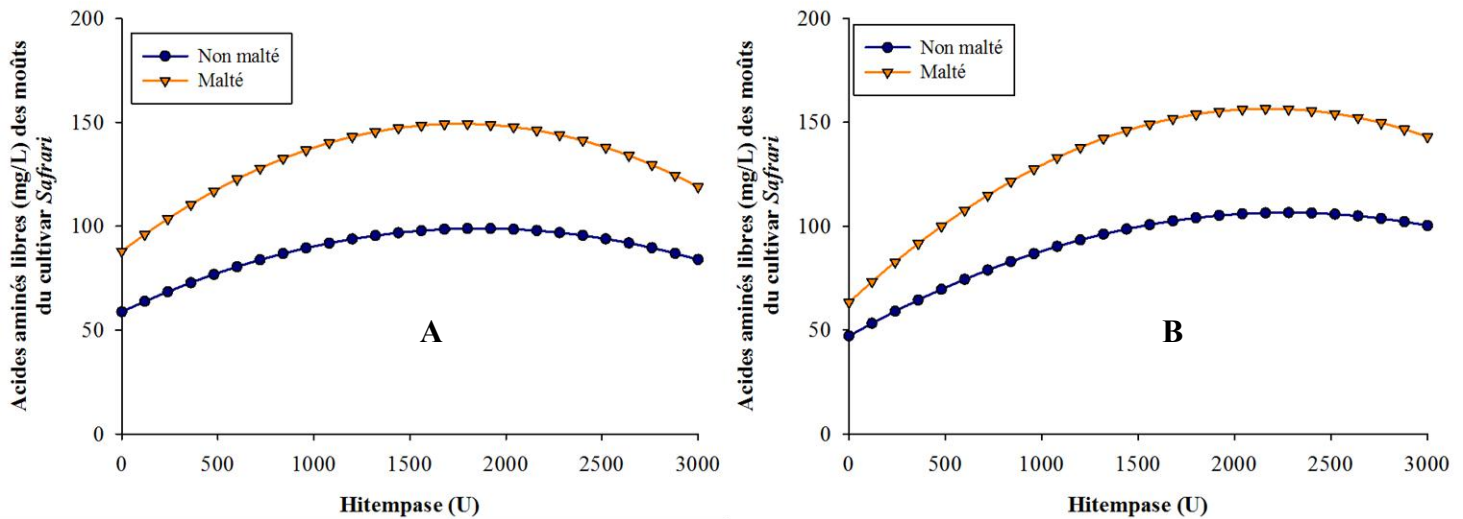


Figure 3.14. (A) : Effet de l'Hitempase (α -Amylase) sur l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts du cultivar *Safdari*. (B) : Effet de Hitempase sur l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts du cultivar *Safdari* en présence de Bioglucanase (400 BGU) et de Brewers Protease (60 mg).

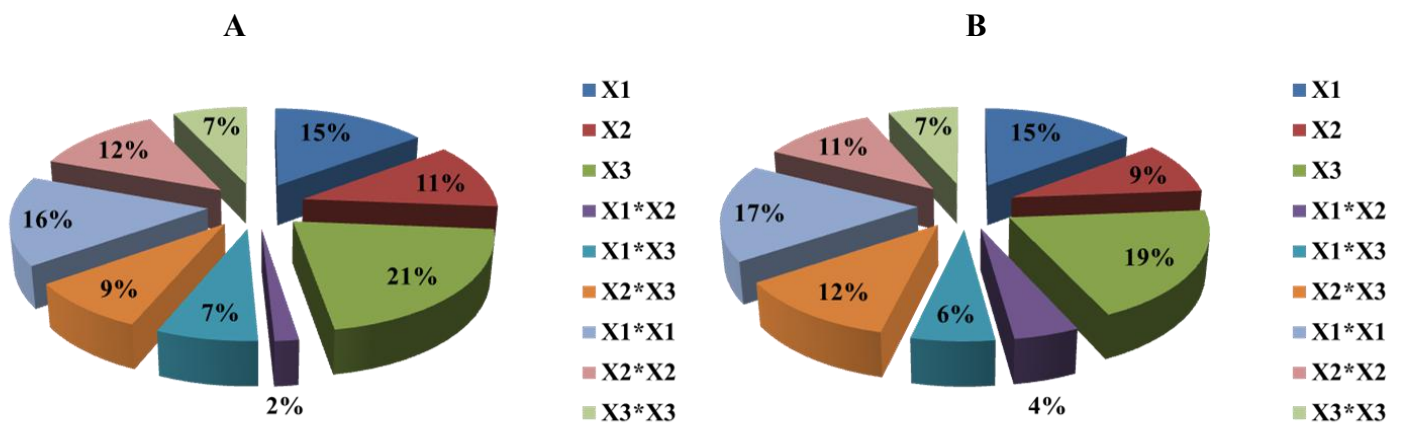


Figure 3.15. (A) : Contribution de chaque facteur sur le comportement général du modèle pour le suivi de la teneur en acides aminés libres des moûts de *Safdari* non malté. (B) : Contribution de chaque facteur sur le comportement général du modèle pour le suivi de la teneur en acides aminés libres des moûts de *Safdari* malté.

La Figure 3.16A présente l'effet de Bioglucanase TX (β -Glucanase) sur l'évolution de la teneur en acides aminés libres (AAL) des moûts de *Safrari* non malté et *Safrari* malté. En l'absence de cette enzyme, la teneur en AAL est respectivement de 58,79 mg/L et 87,97 mg/L. Un ajout de l'enzyme conduit aussi bien pour *Safrari* non malté que pour *Safrari* malté à une réduction de la teneur en AAL des moûts, jusqu'aux valeurs nulles à 831 BGU et 594,65 BGU respectivement. Par la suite, on observe qu'une addition de 453,27 BGU conduit à la même teneur en AAL de 14,61 mg/L.

La Figure 3.16B montre l'effet de Bioglucanase TX sur l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts de *Safrari* non malté et *Safrari* malté, en présence de Hitempase 2XL (2000 U) et de Brewers Protease (60 mg). En l'absence de cette enzyme, la teneur en AAL est respectivement de 132,66 mg/L et 188,12 mg/L. L'addition de cette enzyme conduit d'abord aussi bien pour *Safrari* non malté que pour *Safrari* malté à une réduction de la teneur en AAL des moûts, jusqu'aux valeurs minimales respectives de 100,36 mg/L et 151,83 mg/L à 675,76 BGU et 607,51 BGU respectivement. Ensuite, on obtient pour les deux cas, une augmentation de la teneur en AAL jusqu'aux valeurs respectives de 105,21 mg/L et 162,54 mg/L à 937,50 BGU.

La teneur en AAL observée à l'origine s'explique par la mouture et le maltage d'une part (Figure 3.16A) et, par la mouture, le supplément en enzymes exogènes (Hitempase 2XL et Brewers Protease) et le maltage d'autre part (Figure 3.16B). La teneur en AAL qui diminue avec l'augmentation de la concentration en Bioglucanase TX dans les maïsches, indique que cette enzyme n'est pas une enzyme qui hydrolyse les protéines. Le brassage avec cette enzyme semble inutile pour obtenir les AAL du moment où, ces AAL sont exposés aux réactions de Maillard et par conséquent diminuent. La Figure 3.16B confirme la nécessité d'avoir toutes les enzymes brassicoles dans des proportions appropriées pendant le brassage, avec pour intention d'obtenir des quantités convenables d'AAL.

Selon les modèles mathématiques, l'enzyme Bioglucanase TX (X_2), sous sa forme linéaire, contribue à 11 % de la teneur en AAL des moûts de *Safrari* non malté et à 9 % pour les moûts de *Safrari* malté (Figures 3.15A et 3.15B). Cette contribution est statistiquement significative pour les deux types de moûts ($P = 0,006$ et $0,007$ respectivement ; Tableau 3.18). De même, sous sa forme quadratique (X_2^2), l'effet de l'enzyme est demeuré significatif pour les deux types de moûts ($P = 0,038$ et $0,029$ respectivement ; Tableau 3.18). Sa contribution sous cette forme est de 12 % et 11 % respectivement (Figures 3.15A et 3.15B).

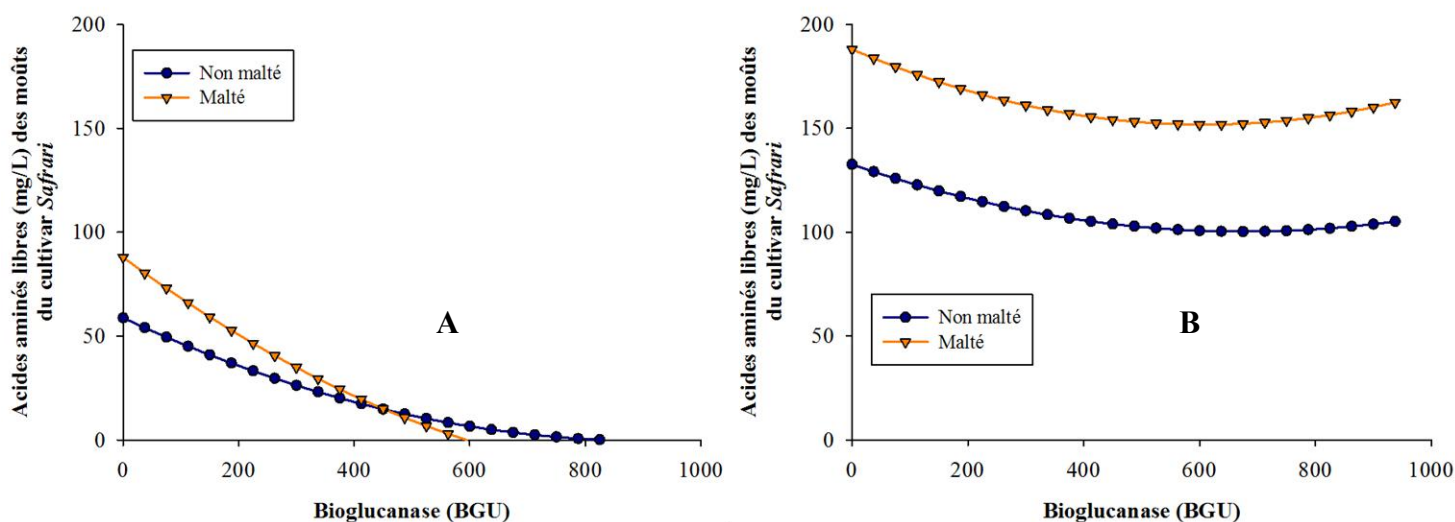


Figure 3.16. (A) : Effet de la Bioglucanase (β -Glucanase) sur l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts du cultivar *Safrari*. (B) : Effet de la Bioglucanase sur l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts du cultivar *Safrari* en présence de Hitempase (2000 U) et de Brewers Protease (60 mg).

La Figure 3.17A présente l'effet de Brewers Protease (protéase) sur l'évolution de la teneur en acides aminés libres (AAL) des moûts de *Safrari* non malté et *Safrari* malté. En l'absence de cette enzyme, la teneur en AAL est respectivement de 58,79 mg/L et 87,97 mg/L. Un ajout de cette enzyme conduit aussi bien pour *Safrari* non malté que pour *Safrari* malté à une augmentation de la teneur en AAL des moûts, jusqu'aux valeurs maximales respectives de 77,88 mg/L et 107,52 mg/L à 77,53 mg et 64,60 mg de Brewers Protease ajoutée respectivement. Par la suite, on observe pour les deux cas, une réduction de la teneur en AAL jusqu'aux valeurs respectives de 76,28 mg/L et 101,65 mg/L à 100 mg de protéase ajoutée.

La Figure 3.17B montre l'effet de Brewers Protease sur l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts de *Safrari* non malté et *Safrari* malté, en présence de Hitempase 2XL (2000 U) et de Bioglucanase TX (400 BGU). En l'absence de cette enzyme, la teneur en AAL est respectivement de 61,04 mg/L et 93,43 mg/L. L'addition de cette enzyme conduit aussi bien pour *Safrari* non malté que pour *Safrari* malté à une augmentation de la teneur en AAL des moûts, jusqu'aux valeurs maximales respectives de 122,83 mg/L et 179,10 mg/L à 100 mg ajoutés.

La teneur en AAL observée au départ s'explique par la mouture et le maltage d'une part (Figure 3.17A) et, par la mouture, le supplément en enzymes (Hitempase 2XL et Bioglucanase TX) et le maltage d'autre part (Figure 3.17B). L'augmentation de la teneur en AAL s'explique par le fait que, cette enzyme hydrolyse les protéines avec production des

acides aminés et des peptides à courtes chaînes (Briggs *et al.*, 2004), d'où l'enrichissement des moûts en acides aminés libres. La Figure 3.17B indique le besoin de toutes les enzymes brassicoles afin d'obtenir de plus grande teneur en AAL. La teneur additionnelle en AAL observée pour les moûts de *Safrari* malté par rapport aux moûts de *Safrari* non malté, peut être attribuée au maltage.

Les modèles mathématiques montrent que, sous sa forme linéaire (X_3), l'influence de Brewers Protease est significative pour les deux types de moûts ($P = 0,000$ pour tous les deux ; Tableau 3.18). Sa contribution sur la teneur en AAL sous cette forme est de 21 % et 19 % pour les moûts de *Safrari* non malté et *Safrari* malté respectivement (Figures 3.15A et 3.15B). L'effet de cette enzyme sous sa forme quadratique (X_3^2) est cependant non significatif pour les deux types de moûts ($P = 0,175$ et $0,129$ respectivement ; Tableau 3.18). Sa contribution est de 7 % pour les deux types de moûts (Figures 3.15A et 3.15B). Les doses excessives de cette enzyme pendant le brassage semblent donc être sans importance technologique.

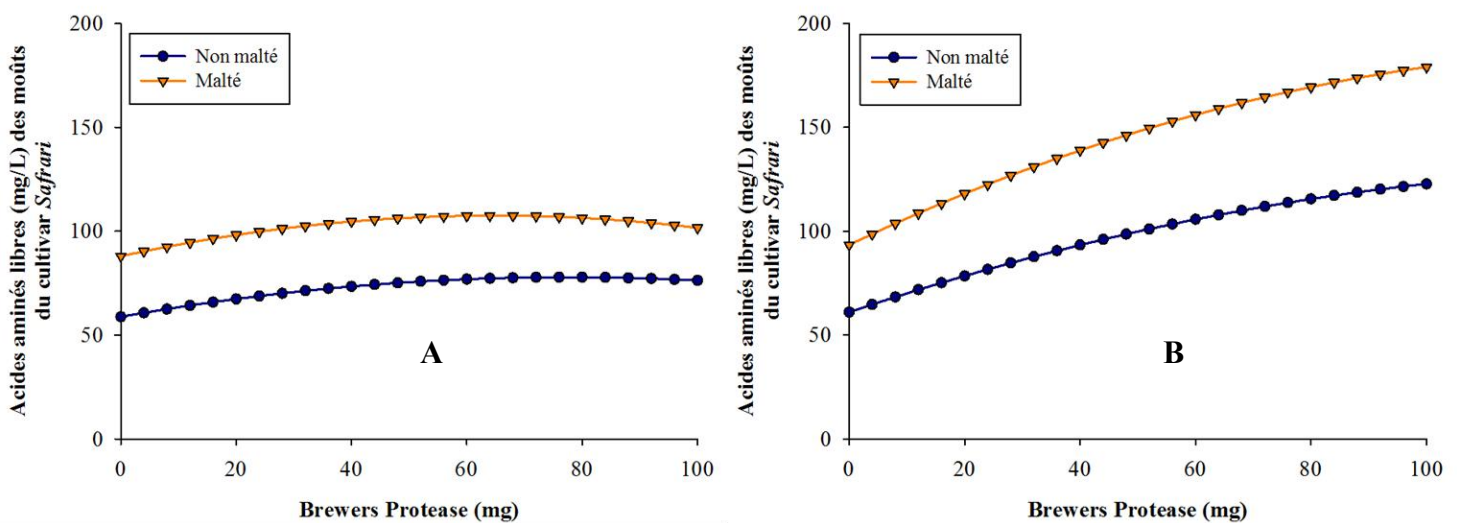


Figure 3.17. (A) : Effet de Brewers Protease sur l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts du cultivar *Safrari*. (B) : Effet de Brewers Protease sur l'évolution de la teneur en acides aminés libres des moûts du cultivar *Safrari* en présence de Hitempase (2000 U) et de Bioglucanase (400 BGU).

L'analyse statistique des modèles montre que globalement les interactions entre ces enzymes (X_1X_2 , X_1X_3 et X_2X_3) sur la teneur en AAL ne sont pas significatives ($P = 0,303$ pour le cultivar *Safrari* non malté et $P = 0,083$ pour le cultivar *Safrari* malté Tableau 3.19). Leurs contributions la teneur en AAL sont présentées dans les (Figures 3.15A et 3.15B).

L'effet de l'interaction X_1X_2 (annexe 8A), correspondant au couple Hitempase 2XL/Bioglucanase TX n'est pas significative pour les deux types de moûts ($P = 0,801$ pour le cultivar *Safrari* non malté et $P = 0,420$ pour le cultivar *Safrari* malté ; Tableau 3.18). Sa contribution sur la teneur en AAL dans les deux types de moûts est de 2 % et 4 % respectivement (Figures 3.15A et 3.15B).

De même, l'interaction X_1X_3 (annexe 8B) correspondant au couple Hitempase 2XL/Brewers Protease, n'est également pas significative pour les deux types de moûts ($P = 0,353$ pour le cultivar *Safrari* non malté et $P = 0,354$ pour le cultivar *Safrari* malté ; Tableau 3.18). Sa contribution sur la teneur en AAL dans les deux types de moûts est de 7 % et 6 % respectivement (Figures 3.15A et 3.15B).

Pour l'interaction X_2X_3 (annexe 8C) correspondant au couple Bioglucanase TX/Brewers Protease, l'impact de l'interaction est également non significatif pour les deux types de moûts ($P = 0,253$ pour le cultivar *Safrari* non malté et $P = 0,081$ pour le cultivar *Safrari* malté ; Tableau 3.18), Sa contribution sur la teneur en AAL dans les deux types de moûts est de 9% et 12 % respectivement (Figures 3.15A et 3.15B).

Le Tableau 3.20 a statistiquement confirmé après comparaison l'observation selon laquelle, *Safrari* malté a un meilleur potentiel en AAL que *Safrari* non malté ($P = 0,001$).

Tableau 3.20 : Analyse de Variance pour comparaison entre les acides aminés libres des moûts de *Safrari* non malté et malté.

Source	Ddl	Somme des carrés	Carrés moyens	F	Probabilité
Inter-groupes	1	13916,3	13916,3	11,41	0,0019
Intra-groupes	32	39020,7	1219,4		
Total	33	52937			

III-4) CONCLUSION PARTIELLE.

L'objectif de ce chapitre a été d'investiguer sur l'impact des enzymes par le biais de la modélisation mathématique des caractéristiques physico-chimiques de *Safrari*. Ce travail a clairement prouvé que bien que Hitempase 2XL est l'enzyme la plus importante pour améliorer les caractéristiques physico-chimiques des moûts de *Safrari* non malté, il ne semble pas être indispensable pour le brassage de *Safrari* malté. Les enzymes Bioglucanase TX et Brewers Protease se sont avérées être simplement des enzymes de soutien d'Hitempase 2XL

au cours du brassage de *Safrari* sauf pour le cas des acides aminés libres (Brewers Protease), car ils ont montré peu ou pas de rôles au cours de leur participation au brassage de *Safrari*. Leur présence est néanmoins nécessaire pour un brassage efficace. Globalement, les synthèses enzymatiques ont semblé suffisantes au cours du maltage de *Safrari*.

CHAPITRE IV : OPTIMISATION DE L'ACTION DES HYDROLASES SUR QUELQUES CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES MOÛTS DE *MADJERU* ET *SAFRARI*.

IV-1) INTRODUCTION.

L'optimisation est une branche des mathématiques, cherchant à analyser et à résoudre analytiquement ou numériquement les problèmes qui consistent à déterminer le meilleur élément d'un ensemble, au sens d'un critère quantitatif donné. Le système étant représenté par un modèle mathématique décrivant son état ou son contrôle à l'aide de variables (inconnues liées par des équations), le problème consiste à trouver des solutions satisfaisant un objectif quantitatif tout en respectant d'éventuelles contraintes. L'optimisation joue un rôle important en recherche opérationnelle (donc en économie et microéconomie), dans les mathématiques appliquées (fondamentales pour l'industrie et l'ingénierie), en analyse et en analyse numérique, en statistique pour l'estimation du maximum de vraisemblance d'une distribution, pour la recherche de stratégies dans le cadre de la théorie des jeux, ou encore en théorie du contrôle et de la commande. Aujourd'hui, tous les systèmes susceptibles d'être décrits par un modèle mathématique sont optimisés. La qualité des résultats et des prédictions dépend de la pertinence du modèle, de l'efficacité de l'algorithme et des moyens pour le traitement numérique. En pratique, quel que soit l'arsenal mathématique sous-jacent, on ne fera pas l'économie de l'intuition, du bon sens, de l'esprit critique et de l'expérience (Floudas *et al.*, 2009). Dans le domaine brassicole, l'optimisation via la méthodologie de surfaces de réponses a été abordée. En effet, des travaux révèlent entre autres : l'utilisation de la MSR pour évaluer l'efficacité de l'utilisation des enzymes commerciales sur le malt de blé dans le but brassicole (Phiarais *et al.*, 2006) ; Une application de la MSR pour l'évaluation des conditions optimales de croissance des microorganismes (*Pediococcus damnosus*) responsables de la destruction de la bière (Taskila *et al.*, 2010) ; une application des ultrasons pour accélérer la germination des grains d'orge a été optimisée via la méthode de Taguchi (Yaldagard *et al.*, 2008). Pour ce qui est du sorgho, la MSR a été utilisée pour optimiser le rendement en filtrat des maïsches des cultivars non maltés (Desobgo *et al.*, 2010).

Dans ce chapitre, on a optimisé chaque réponse (extrait, turbidité, sucres réducteurs et acides aminés libres) individuellement pour chacun des cultivars non malté et malté. Ensuite,

un cahier de charges a été défini pour les caractéristiques physico chimiques des moûts et, une optimisation de toutes les réponses pour chacun des cultivars a été effectuée. Enfin, la possibilité d'optimisation intra et inter-cultivar (*Madjeru* non malté et *Safrari* non malté puis, *Madjeru* malté et *Safrari* malté) a été vérifiée pour envisager des combinaisons enzymatiques permettant de brasser efficacement, aussi bien le cultivar *Madjeru* que le cultivar *Safrari*.

IV-2) MATERIEL ET METHODES

Le matériel a été constitué essentiellement des logiciels : Scientific WorkPlace 5.5 Build 2890 (MacKichan Software, Inc.) et Mathcad[®] version 14 (Parametric Technology Corporation, Massachusetts, USA). Logiciels qui sont spécialisés dans les calculs et les opérations mathématiques. On peut également citer le logiciel Sigmaplot[®] version 11 build 11.0.0.77 (wpcubed, GmbH, Germany) qui, a permis de tracer les graphes et, de faire des superpositions de ceux-ci ; l'on a également l'outil Paint de Windows XP qui a permis d'hachurer les zones optimales.

Après la modélisation effectuée sur les caractéristiques physico-chimiques retenues, on a procédé à une optimisation des réponses. Pour y arriver, on a dans un premier temps fixé les conditions optimales pour chaque réponse puis utilisé le logiciel Mathcad[®] version 14 (Parametric Technology Corporation, Massachusetts, USA). En effet, ce logiciel a permis d'obtenir l'optimum théorique suivant les étapes : On a entré dans un premier temps le modèle, ensuite on a précisé le point de départ de chaque facteur. On a donné également l'intervalle dans lequel le logiciel doit faire son balayage, il faut signaler que ceci a été fait pour chaque facteur. Une fois toutes ces données entrées, le logiciel a sorti comme réponse la combinaison qui a donné un meilleur comportement du modèle. Cette réponse obtenue a été fonction de la commande passée c'est à dire une maximisation ou une minimisation.

Une fois l'optimum obtenu, les facteurs les moins significatifs ont été fixés à des valeurs convenables en fonction des observations faites. Les modèles ont été ainsi réécrits en tenant compte des variables fixées. Ces modèles ont été introduits dans Sigmaplot[®] version 11 build 11.0.0.77 (wpcubed, GmbH, Germany) et les courbes ont été tracées. A l'aide de ce même logiciel (Sigmaplot 11) les graphes ont été superposés. Par la suite, grâce à l'outil Paint de Windows, la zone optimale d'intersection des courbes a été hachurée.

IV-3) RESULTATS ET DISCUSSION.

IV-3-1) Optimisation des caractéristiques physico-chimiques des moûts des cultivars de sorgho maltés et non maltés.

L'extrait est une réponse qui ressort la richesse du moût en matières sèches solubles. Une maximisation de cet extrait est donc importante. La turbidité est une réponse qui ressort la richesse du moût en substances insolubles. Il s'agit d'un élément qualitatif. En effet, un moût extrêmement trouble devient problématique ; ainsi, l'optimisation dans ce cas sera une minimisation. Une maximisation de la turbidité est également envisagée pour déterminer les enzymes responsables du trouble au cours du brassage. Les sucres sont des composés primordiaux pour le moût et pour la future bière. En effet, ceux-ci sont les substrats des levures dans le cadre de la fermentation alcoolique. Il peut être dans ce cas de figure logique de songer à une maximisation de cette teneur en sucres. Généralement, il est connu dans la littérature que, la teneur en acides aminés libres obtenue au cours du brassage du sorgho est insuffisante pour une fermentation. En effet, des teneurs en AAL de l'ordre de 100 à 140 mg/L sont un prérequis pour une bonne fermentation (Bajomo and Young, 1992, Bajomo and Young, 1994). Nous exploiterons au maximum l'action des enzymes pour obtenir ces acides aminés libres. C'est donc la raison qui pousse à songer à une maximisation de cette réponse.

Pour le moût, il est surtout question de trouver les plages enzymatiques permettant de remplir de façon satisfaisante toutes les conditions suivantes :

- Teneur en extrait : ≥ 12 °P
- Turbidité : ≤ 15 NTU
- Teneur en sucres réducteurs : ≥ 100 g/L pour *Madjeru* et, ≥ 90 g/L pour *Safrari*.
- Teneur en acides aminés libres : ≥ 80 mg/L

Les choix opérés précédemment, tiennent compte pour certains, des éléments de la littérature. En effet, pour le cas de l'extrait (°P), les moûts destinés à la fermentation devraient être aux alentours de 12 °P (Briggs *et al.*, 2004). Pour ce qui est de la teneur en acides aminés libres, on situe pour une bonne fermentation des moûts du sorgho une teneur aux alentours de 100 mg/L (Briggs *et al.*, 2004). Il a été retenu une teneur en acides aminés libres supérieure à 80 mg/L. Les autres facteurs ont fait l'objet d'un choix jugé acceptable, la littérature n'étant pas précise (pour la turbidité et la teneur en sucres réducteurs).

IV-3-1-1) Optimisation des caractéristiques physico-chimiques des moûts de *Madjeru* et *Safrari* maltés et non maltés.

IV-3-1-1-1) Optimisation de l'extrait (°P).

Les modèles mathématiques obtenus pour le suivi de l'extrait des moûts de *Madjeru* et *Safrari* non maltés et maltés sont mentionnés dans les chapitres 2 et 3. Ils sont représentés par les équations 2.33, 2.34, 3.1 et 3.2.

Les caractéristiques maximales pour l'extrait des moûts de *Madjeru* et *Safrari* sont consignées dans les Tableaux 4.1 et 4.2.

Tableau 4.1 : Caractéristiques maximales pour l'extrait des moûts de *Madjeru* et *Safrari* non maltés.

Sorghos	Facteurs	Combinaisons optimales		Réponse
		Valeurs codées	Valeurs réelles correspondantes	Extrait (°P)
<i>Madjeru</i> non malté	Hitempase 2XL	0,307	1960,50 U	16,55
	Bioglucanase TX	-0,621	132,61 BGU	
	Brewers Protease	-0,345	28,86 mg	
<i>Safrari</i> non malté	Hitempase 2XL	0,415	2122,50 U	17,92
	Bioglucanase TX	0,866	937,50 BGU	
	Brewers Protease	-0,816	0 mg	

Tableau 4.2 : Caractéristiques maximales pour l'extrait des moûts de *Madjeru* et *Safrari* maltés.

Sorghos	Facteurs	Combinaisons optimales		Réponse
		Valeurs codées	Valeurs réelles correspondantes	Extrait (°P)
<i>Madjeru</i> malté	Hitempase 2XL	0,740	2610 U	16,35
	Bioglucanase TX	-0,866	0 BGU	
	Brewers Protease	-0,156	40,44 mg	
<i>Safrari</i> malté	Hitempase 2XL	-1	0 U	18,82
	Bioglucanase TX	-0,813	28,68 BGU	
	Brewers Protease	-0,816	0 mg	

Les tableaux 4.1 et 4.2 permettent de dire que les combinaisons optimales d'enzymes sont différentes, mais elles conduisent à une teneur en extrait comparable aussi bien pour le cultivar *Madjeru* (16,81 °P et 16,35 °P, respectivement pour *Madjeru* non malté et malté) que pour le cultivar *Safrari* (17,92 °P et 18,82 °P, respectivement pour le cultivar *Safrari* non malté et malté). Une observation plus précise permet de se rendre compte qu'aussi bien pour le cultivar *Madjeru* malté que pour le cultivar *Safrari* malté, une introduction de Bioglucanase TX au cours du brassage ne s'avère pas indispensable pour avoir un extrait optimal.

Pour obtenir un moût dont l'extrait serait supérieur ou égal à 12°P aussi bien pour le cultivar *Madjeru* que pour le cultivar *Safrari*, il est dès lors nécessaire de superposer les courbes de surfaces de réponses. L'apport en Bioglucanase à 0 BGU (- 0,866) a tenu compte des optimisations faites au paragraphe précédent et de son importance pour le brassage du sorgho. Les expressions des équations 2.33, 2.34, 3.1 et 3.2 deviennent :

$$Y_{MadEX}(X_1, X_3) = 15,621 + 3,6283X_1 - 1,9853X_3 - 2,155X_1X_3 - 7,507X_1^2 - 3,732X_3^2 [4.1]$$

$$Y_{MadMEX}(X_1, X_3) = 15,632 + 1,7652X_1 - 0,84352X_3 + 0,784X_1X_3 - 1,11X_1^2 - 0,843X_3^2 [4.2]$$

$$Y_{SafEX}(X_1, X_3) = 12,857 + 5,021X_1 + 0,858X_3 + 0,589X_1X_3 - 6,569X_1^2 - 0,496X_3^2 [4.3]$$

$$Y_{SafMEX}(X_1, X_3) = 15,421 - 3,0583X_1 + 0,67932X_3 + 2,338X_1X_3 - 0,901X_1^2 - 0,18X_3^2 [4.4]$$

Le tracé des courbes d'iso réponses après transformation des variables codées en variables réelles permet de dire que, pour obtenir un moût de teneur en extrait d'au moins 12 °P, aussi bien pour le cultivar *Madjeru* que pour le cultivar *Safrari*, il faudrait manipuler dans les plages concernées par l'aire hachurée (Figures 4.1 et 4.2).

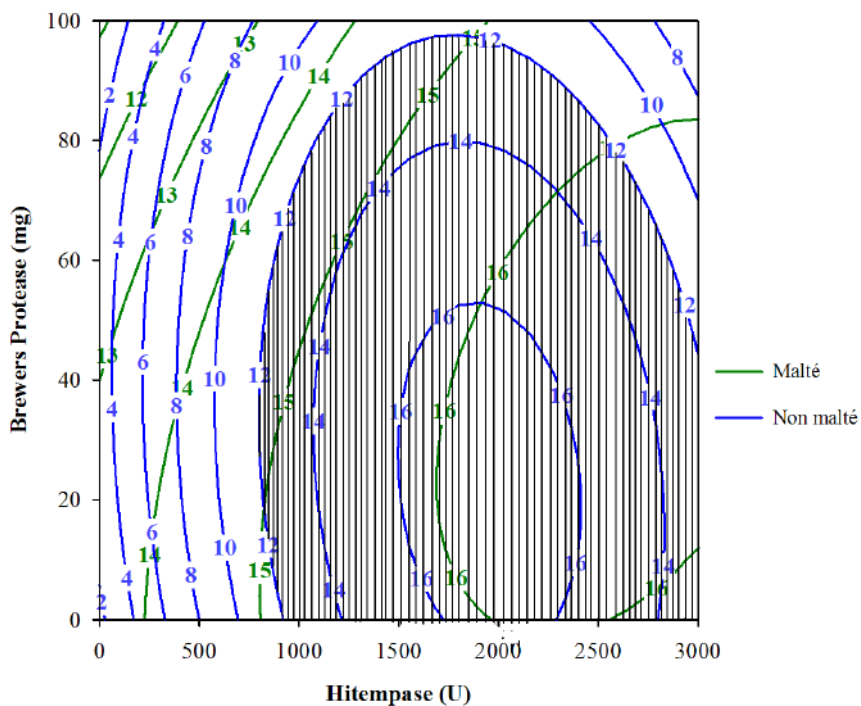


Figure 4.1 : Aire de combinaisons enzymatiques induisant une teneur optimale en extrait ($^{\circ}$ P) des moûts du cultivar *Madjeru*.

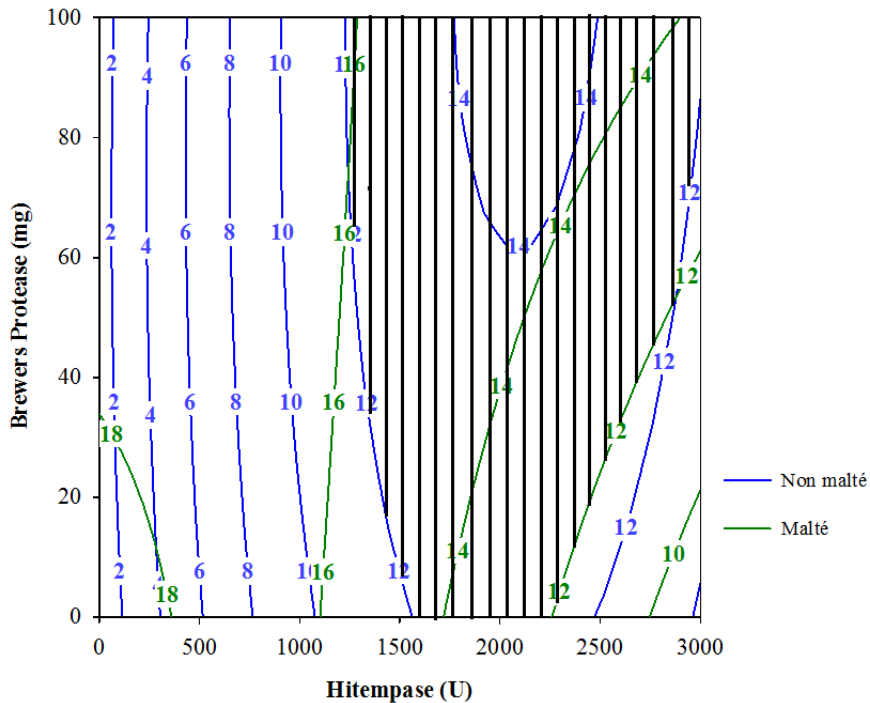


Figure 4.2 : Aire de combinaisons enzymatiques induisant une teneur optimale en extrait ($^{\circ}$ P) des moûts du cultivar *Safrari*.

IV-3-1-1-2) Optimisation de la turbidité.

Les modèles mathématiques obtenus pour le suivi de la turbidité des moûts de *Madjeru* et *Safrari* non maltés et maltés sont mentionnés dans les chapitres 2 et 3. Ils sont représentés par les équations 2.35, 2.36, 3.3 et 3.4.

Les caractéristiques minimales pour la turbidité des moûts de *Madjeru* et *Safrari* sont consignées dans les Tableaux 4.3 et 4.4.

Tableau 4.3 : Caractéristiques minimales pour la turbidité des moûts de *Madjeru* et *Safrari* non maltés.

Sorghos	Facteurs	Combinaisons optimales		Réponse
		Valeurs codées	Valeurs réelles correspondantes	Turbidité (NTU)
<i>Madjeru</i> non malté	Hitempase 2XL	-1	0 U	0
	Bioglucanase TX	-0,315	298,25 BGU	
	Brewers Protease	-0,816	0 mg	
<i>Safrari</i> non malté	Hitempase 2XL	-1	0 U	0,40
	Bioglucanase TX	-0,866	0 BGU	
	Brewers Protease	-0,816	0 mg	

Tableau 4.4 : Caractéristiques minimales pour la turbidité des moûts de *Madjeru* et *Safrari* maltés.

Sorghos	Facteurs	Combinaisons optimales		Réponse
		Valeurs codées	Valeurs réelles correspondantes	Turbidité (NTU)
<i>Madjeru</i> malté	Hitempase 2XL	-0,075	1387,50 U	5,27
	Bioglucanase TX	-0,866	0 BGU	
	Brewers Protease	-0,290	32,23 mg	
<i>Safrari</i> malté	Hitempase 2XL	-1	0 U	1,00
	Bioglucanase TX	-0,866	0 BGU	
	Brewers Protease	0,402	74,63 mg	

La turbidité n'est pas une réponse très importante parmi les caractéristiques physico-chimiques des moûts. En effet, grâce à certains procédés, on est capable de réduire ce trouble du moût. Bioglucanase TX ne s'avèrerait pas indispensable pour le paramètre suivi (Tableaux 4.3 et 4.4). Néanmoins, afin de brasser les cultivars *Madjeru* et *Safrari* non malté et malté, un compromis s'impose pour une application technologique.

Les combinaisons permettant d'obtenir une maximisation de la turbidité des moûts donnent une idée sur l'enzyme responsable de ce trouble. Elles sont consignées dans les Tableaux 4.5 et 4.6.

Tableau 4.5 : Caractéristiques maximales pour la turbidité des moûts de *Madjeru* et *Safrari* non maltés.

Sorghos	Facteurs	Combinaisons optimales		Réponse
		Valeurs codées	Valeurs réelles correspondantes	Turbidité (NTU)
<i>Madjeru</i> non malté	Hitempase 2XL	1	3000 U	17,08
	Bioglucanase TX	-0,866	0 BGU	
	Brewers Protease	-0,118	42,77 mg	
<i>Safrari</i> non malté	Hitempase 2XL	-1	0 U	12,57
	Bioglucanase TX	0,613	800,56 BGU	
	Brewers Protease	0,816	100 mg	

Tableau 4.6 : Caractéristiques maximales pour la turbidité des moûts de *Madjeru* et *Safrari* maltés.

Sorghos	Facteurs	Combinaisons optimales		Réponse
		Valeurs codées	Valeurs réelles correspondantes	Turbidité (NTU)
<i>Madjeru</i> malté	Hitempase 2XL	1	3000 U	13,82
	Bioglucanase TX	0,866	937,50 BGU	
	Brewers Protease	0,816	100 mg	
<i>Safrari</i> malté	Hitempase 2XL	-0,984	24 U	46,25
	Bioglucanase TX	0,866	937,50 BGU	
	Brewers Protease	0,369	72,61 mg	

Une comparaison entre les Tableaux 4.3, 4.4, 4.5 et 4.6, permet de dire que, Hitempase 2XL est l'enzyme responsable de la turbidité des moûts pour le cultivar *Madjeru* non malté. Quant à *Madjeru* malté, Brewers Protease puis Bioglucanase TX apparaissent comme les enzymes responsables du trouble. Toutes les enzymes contribueraient à la turbidité des moûts du cultivar *Safrari* non malté. Par contre, seule Bioglucanase TX paraîtrait l'enzyme responsable de la turbidité des moûts du cultivar *Safrari* malté.

Pour obtenir un moût dont la turbidité est en dessous de 15 NTU aussi bien pour le cultivar *Madjeru* que pour le cultivar *Safrari*, il est dès lors nécessaire de superposer les courbes de surfaces de réponses. On a maintenu l'apport en Bioglucanase à 0 BGU (-0,866). Ainsi, les expressions des équations 2.35, 2.36, 3.3 et 3.4 deviennent :

$$Y_{MadTU}(X_1, X_3) = 11,268 + 7,790X_1 - 1,822X_3 + 0,774X_1X_3 - 2,036X_1^2 - 4,449X_3^2 \quad [4.5]$$

$$Y_{MadMTU}(X_1, X_3) = 5,434 - 0,372X_1 + 1,182X_3 - 2,407X_1X_3 + 2,164X_1^2 - 2,35X_3^2 \quad [4.6]$$

$$Y_{SafTU}(X_1, X_3) = 7,904 + 3,342X_1 + 1,048X_3 - 0,064X_1X_3 - 2,384X_1^2 - 0,384X_3^2 \quad [4.7]$$

$$Y_{SafMTU}(X_1, X_3) = 27,114 + 12,946X_1 - 5,913X_3 + 8,247X_1X_3 - 6,233X_1^2 - 7,659X_3^2 \quad [4.8]$$

Le tracé des courbes d'iso réponses après transformation des variables codées en variables réelles permet de dire que, pour obtenir un moût de turbidité inférieure à 15 NTU, aussi bien pour le cultivar *Madjeru* que pour le cultivar *Safrari*, il faudrait manipuler dans les plages concernées par l'aire hachurée (Figures 4.3 et 4.4).

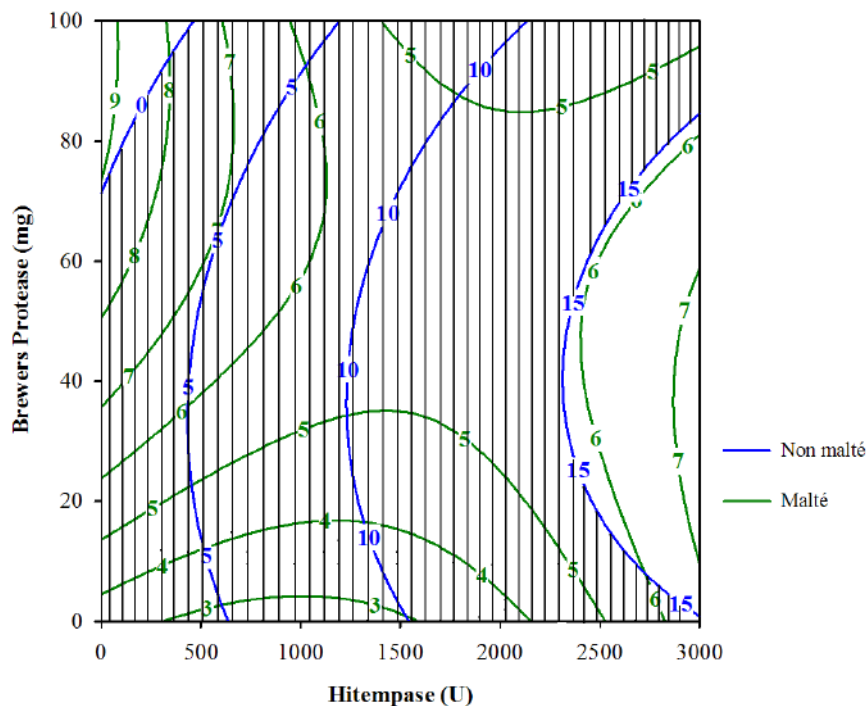


Figure 4.3 : Aire de combinaisons enzymatiques induisant une turbidité (NTU) optimale des moûts du cultivar *Madjeru*.

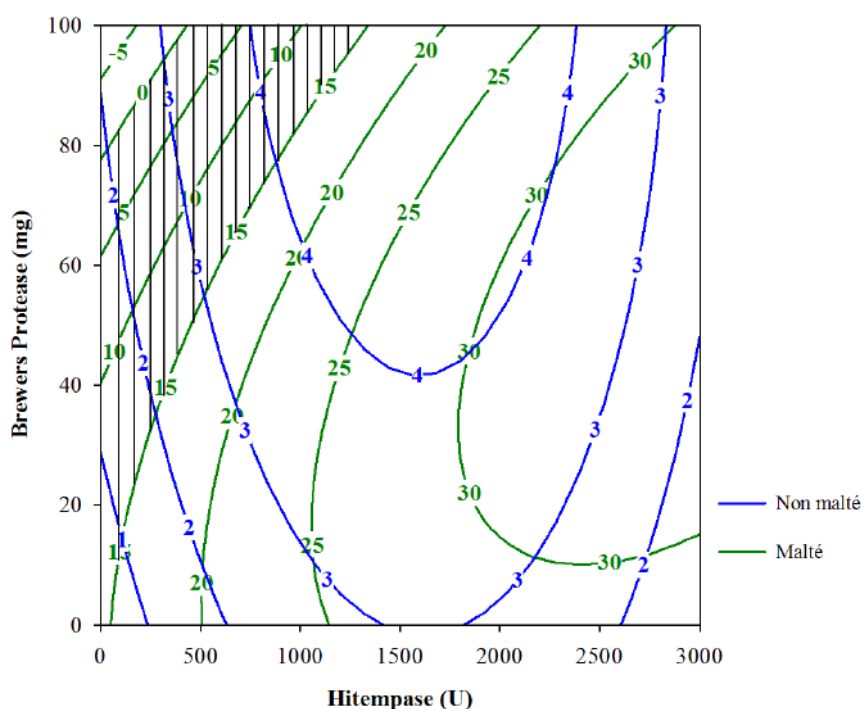


Figure 4.4 : Aire de combinaisons enzymatiques induisant une turbidité (NTU) optimale des moûts du cultivar *Safrari*.

IV-3-1-1-3) Optimisation de la teneur en sucres réducteurs.

Les modèles mathématiques obtenus pour le suivi des sucres réducteurs du moût de *Madjeru* et *Safrari* non maltés et maltés sont mentionnés dans les chapitres 2 et 3. Ils sont représentés par les équations 2.37, 2.38, 3.5 et 3.6.

Les caractéristiques maximales pour la teneur en sucres réducteurs des moûts de *Madjeru* et *Safrari* sont consignées dans les Tableaux 4.7 et 4.8.

Tableau 4.7 : Caractéristiques maximales pour la teneur en sucres réducteurs des moûts de *Madjeru* et *Safrari* non maltés.

Sorghos	Facteurs	Combinaisons optimales		Réponse
		Valeurs codées	Valeurs réelles correspondantes	Sucres réducteurs (g/L)
<i>Madjeru</i> non malté	Hitempase 2XL	0,330	1995 U	108,78
	Bioglucanase TX	-0,701	89,31 BGU	
	Brewers Protease	-0,345	28,86 mg	
<i>Safrari</i> non malté	Hitempase 2XL	0,442	2163 U	126,57
	Bioglucanase TX	0,866	937,5 BGU	
	Brewers Protease	-0,816	0 mg	

Tableau 4.8 : Caractéristiques maximales pour la teneur en sucres réducteurs des moûts de *Madjeru* et *Safrari* maltés.

Sorghos	Facteurs	Combinaisons optimales		Réponse	
		Valeurs codées	Valeurs réelles correspondantes	Sucres réducteurs (g/L)	
<i>Madjeru</i>	malté	Hitempase 2XL	1	3000 U	153,15
		Bioglucanase TX	-0,866	0 BGU	
		Brewers Protease	-0,005	49,69 mg	
<i>Safrari</i>	malté	Hitempase 2XL	-1	0 U	168,56
		Bioglucanase TX	-0,612	137,48 BGU	
		Brewers Protease	-0,816	0 mg	

Des Tableaux 4.7 et 4.8, on en déduit que l'optimisation conduit quel que soit le cultivar de sorgho à une teneur en sucres réducteurs supérieure à 100 g/L.

Dans le but de maximiser la teneur en sucres au cours du brassage, la Bioglucanase est maintenue à 0 BGU (– 0,866) pour le cultivar *Madjeru* puis, Brewers Protease à 0 mg (– 0,816) pour le cultivar *Safrari*. Pour obtenir un moût de teneur en sucres réducteurs d'au moins 100 g/L pour le cultivar *Madjeru* et, d'au moins 90 g/L pour le cultivar *Safrari*, il est dès lors nécessaire de superposer les courbes de surfaces de réponses. Ainsi, les expressions des équations 2.37, 2.38, 3.5 et 3.6 deviennent :

$$Y_{MadSRed}(X_1, X_3) = 100,78 + 31,564X_1 - 12,238X_3 - 0,378X_1X_3 - 45,031X_1^2 - 16,534X_3^2 \quad [4.9]$$

$$Y_{MadMSRed}(X_1, X_3) = 117,72 + 65,27X_1 - 33,98X_3 + 33,63X_1X_3 - 29,835X_1^2 - 34,32X_3^2 \quad [4.10]$$

$$Y_{SafSRed}(X_1, X_3) = 99,804 + 26,083X_1 + 7,369X_3 - 5,8X_1X_3 - 41,448X_1^2 - 0,818X_3^2 \quad [4.11]$$

$$Y_{SafMSRed}(X_1, X_3) = 117,23 - 7,866X_1 - 18,045X_3 + 80,64X_1X_3 - 31,406X_1^2 - 11,55X_3^2 \quad [4.12]$$

Pour obtenir un moût de teneur en sucres supérieure à 100 g/L pour le cultivar *Madjeru* et 90 g/L pour le cultivar *Safrari*, il faudrait manipuler dans les plages concernées par l'aire hachurée (Figures 4.5 et 4.6).

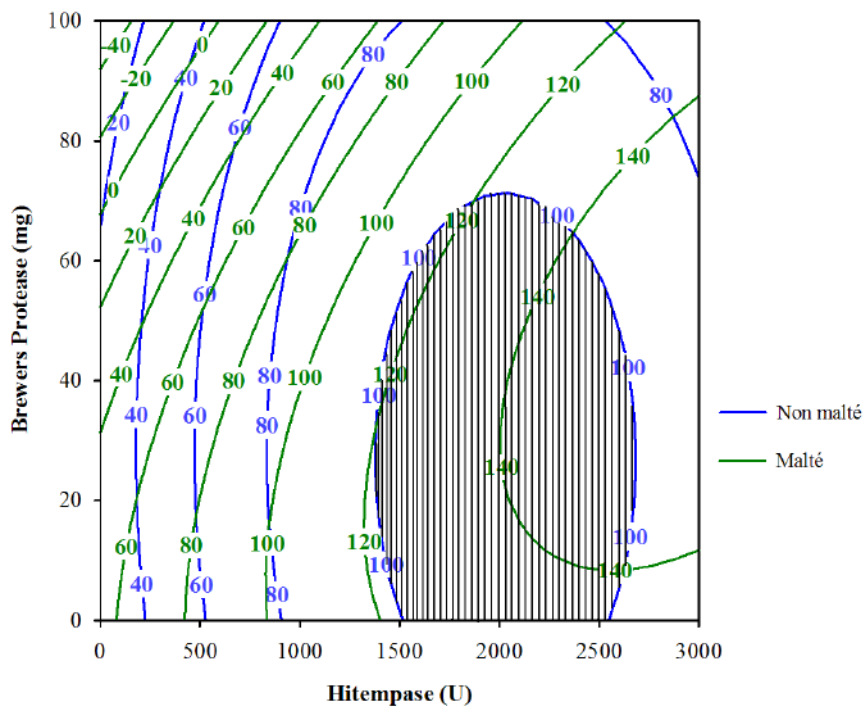


Figure 4.5 : Aire de combinaisons enzymatiques induisant une teneur optimale en sucres réducteurs des moûts du cultivar *Madjeru*.

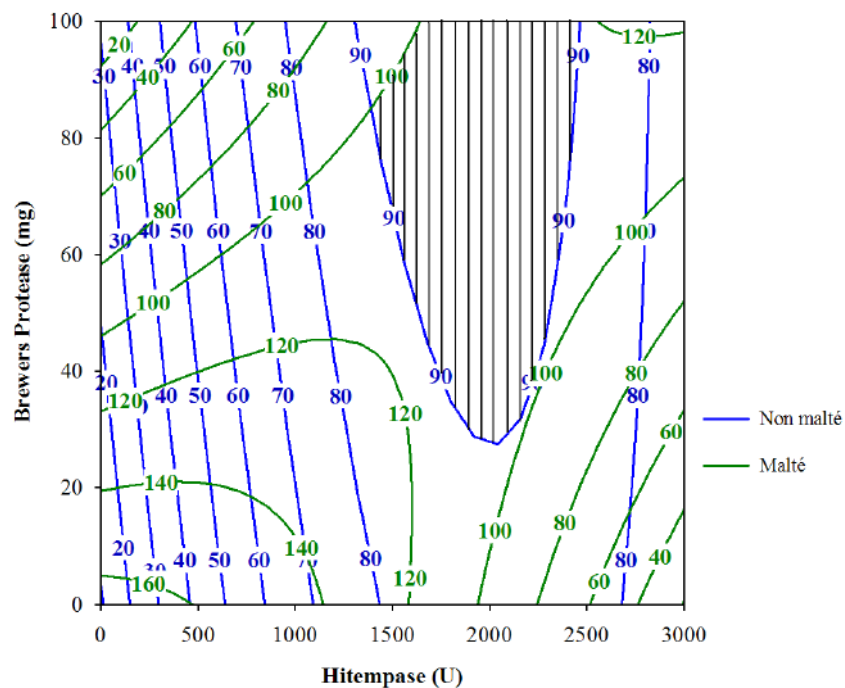


Figure 4.6 : Aire de combinaisons enzymatiques induisant une teneur optimale en sucres réducteurs des moûts du cultivar *Safrari*.

Une simulation tenant compte des valeurs optimales obtenues dans les Tableaux 4.7 et 4.8 pour le cultivar *Safrari*, conduit à une fixation de la teneur en Brewers Protease à 0 mg soit - 0,816 en valeur codée. Cette simulation permet d'obtenir les équations suivantes :

$$Y_{SafSRed}(X_1, X_2) = 102,95 + 33,74X_1 + 21,357X_2 + 3,376X_1X_2 - 41,448X_1^2 - 3,968X_2^2 \quad [4.13]$$

$$Y_{SafMSRed}(X_1, X_2) = 116,84 + 75,145X_1 - 1,846X_2 + 19,873X_1X_2 - 31,406X_1^2 - 31,5X_2^2 \quad [4.14]$$

Le tracé de ces équations tenant compte d'une teneur en sucres réducteurs inférieure ou égale à 90 g/L, conduit à la Figure 4.7. La zone hachurée représentant la plage où les combinaisons donneraient des moûts satisfaisant en termes de sucres réducteurs.

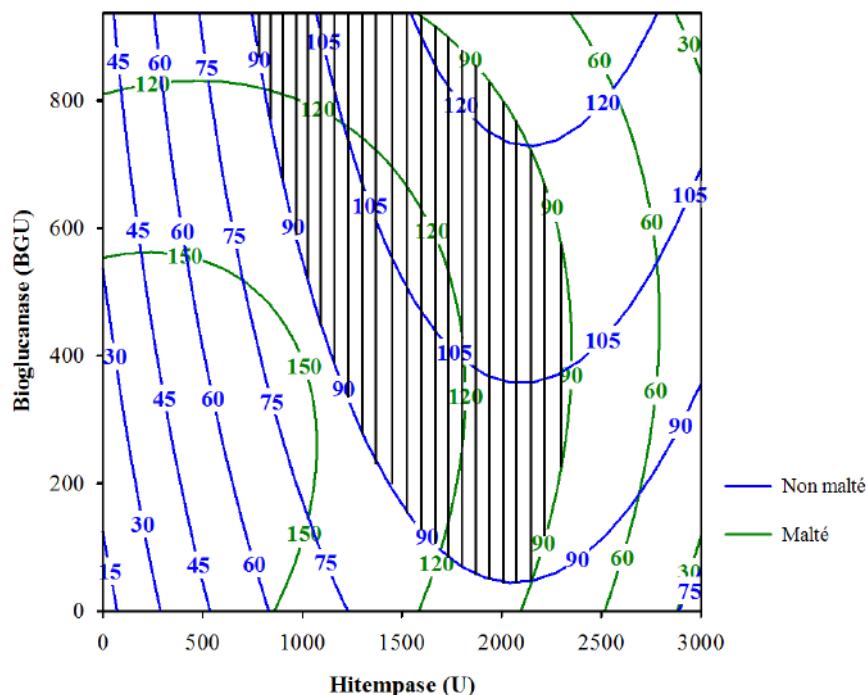


Figure 4.7 : Aire de combinaisons enzymatiques induisant une teneur optimale en sucres réducteurs des moûts du cultivar *Safrari*.

IV-3-1-1-4) Optimisation de la teneur en acides aminés libres.

Les modèles mathématiques obtenus pour le suivi de la teneur en acides aminés libres des moûts de *Madjeru* et *Safrari* non maltés et maltés sont mentionnés dans les chapitres 2 et 3. Ils sont représentés par les équations 2.39, 2.40, 3.7 et 3.8.

Les caractéristiques maximales pour la teneur en acides aminés libres des moûts de *Madjeru* et *Safrari* sont consignées dans les Tableaux 4.9 et 4.10.

Des Tableaux 4.9 et 4.10, on en déduit que Bioglucanase TX n'est une enzyme indispensable (quel que soit le cultivar de sorgho) pour l'obtention des quantités satisfaisantes d'acides aminés libres dans les moûts. On obtient en effet des quantités qui vont de 93,55 mg/L à 196,73 mg/L.

Tableau 4.9 : Caractéristiques maximales pour la teneur en acides aminés libres des moûts de *Madjeru* et *Safrari* non maltés.

Sorghos	Facteurs	Combinaisons optimales		Réponse
		Valeurs codées	Valeurs réelles correspondantes	Acides aminés libres (mg/L)
<i>Madjeru</i> non malté	Hitempase 2XL	1	3000 U	93,55
	Bioglucanase TX	-0,866	0 BGU	
	Brewers Protease	0,816	100 mg	
<i>Safrari</i> non malté	Hitempase 2XL	0,623	2434,50 U	144,77
	Bioglucanase TX	-0,866	0 BGU	
	Brewers Protease	0,816	100 mg	

Tableau 4.10 : Caractéristiques maximales pour la teneur en acides aminés libres des moûts de *Madjeru* et *Safrari* maltés.

Sorghos	Facteurs	Combinaisons optimales		Réponse
		Valeurs codées	Valeurs réelles correspondantes	Acides aminés libres (mg/L)
<i>Madjeru</i> malté	Hitempase 2XL	1	3000 U	144,48
	Bioglucanase TX	-0,866	0 BGU	
	Brewers Protease	0,816	100 mg	
<i>Safrari</i> malté	Hitempase 2XL	0,461	2191,50 U	196,73
	Bioglucanase TX	-0,866	0 BGU	
	Brewers Protease	0,816	100 mg	

Pour maximiser la teneur en acides aminés libres (AAL) et brasser indépendamment avec les cultivars *Madjeru* et *Safrari*, le compromis à faire qui tient compte des paragraphes précédents, permet de fixer l'activité de la Bioglucanase à 0 BGU soit en variable codée la valeur $-0,866$. La teneur en acides aminés libres quant à elle devra être supérieure à 80 mg/L. Ainsi, les expressions des équations 2.39, 2.40, 3.7 et 3.8 deviennent :

$$Y_{MadAAL}(X_1, X_3) = 75,595 + 18,7X_1 + 11,657X_3 + 3,976X_1X_3 - 7,747X_1^2 - 8,636X_3^2 [4.15]$$

$$Y_{MadMAAL}(X_1, X_3) = 113,5 + 29,725X_1 + 17,646X_3 + 7,478X_1X_3 - 11,261X_1^2 - 11,98X_3^2 [4.16]$$

$$Y_{SafAAL}(X_1, X_3) = 123,98 + 22,488X_1 + 22,86X_3 + 12,142X_1X_3 - 26,014X_1^2 - 11,92X_3^2 [4.17]$$

$$Y_{SafMAAL}(X_1, X_3) = 179,33 + 28,282X_1 + 24,06X_3 + 15,68X_1X_3 - 44,536X_1^2 - 17,58X_3^2 [4.18]$$

Le tracé des courbes d'iso réponses après transformation des variables codées en variables réelles permet de dire que, pour obtenir un goût de teneur en AAL supérieure à 80 mg/L, aussi bien pour le cultivar *Madjeru* que pour le cultivar *Safrari*, il faudrait manipuler dans les plages concernées par l'aire hachurée (Figures 4.8 et 4.9).

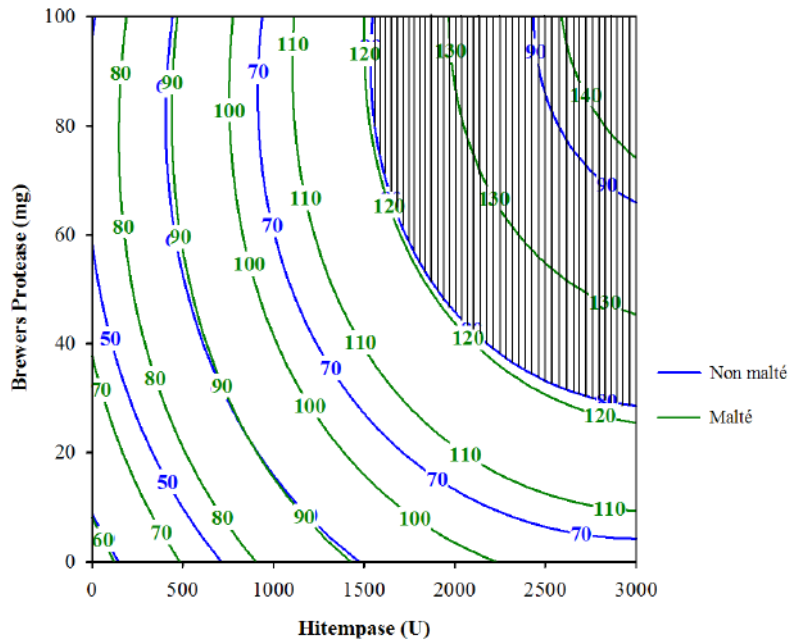


Figure 4.8 : Aire de combinaisons enzymatiques induisant une teneur optimale en acides aminés libres des moûts du cultivar *Madjeru*.

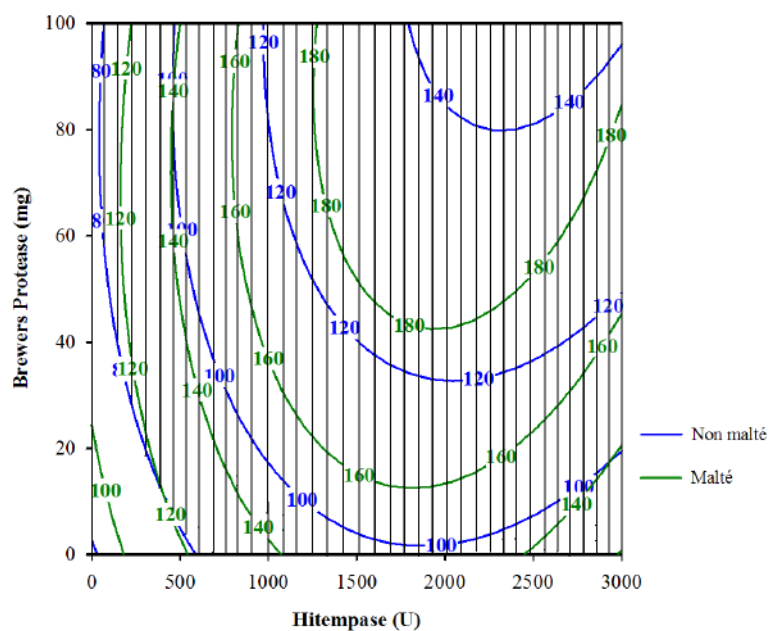


Figure 4.9 : Aire de combinaisons enzymatiques induisant une teneur optimale en acides aminés libres des moûts du cultivar *Safrari*.

IV-3-1-1-5) Optimisation de l'ensemble des caractéristiques physico-chimiques des moûts des cultivars *Madjeru* et *Safrari*.

Les conditions à respecter sont les suivantes : Extrait : ≥ 12 °P ; Turbidité : ≤ 15 NTU ; Sucres réducteurs : ≥ 100 g/L pour le cultivar *Madjeru* et, ≥ 90 g/L pour le cultivar *Safrari* ; Acides aminés libres : ≥ 80 mg/L.

Avec Bioglucanase TX à 0 BGU c'est-à-dire à $-0,866$ en variables codées.

Il est question dans ce cas de figure de superposer les courbes d'isorréponses représentant chaque réponse aussi bien pour le cultivar *Madjeru* que pour le cultivar *Safrari* et, d'en hachurer l'intersection. En effet, les différentes équations engagées dans ce processus sont les équations 4.1, 4.5, 4.9 et 4.15 pour le cultivar *Madjeru* non malté, les équations 4.2, 4.6, 4.10 et 4.16 pour le cultivar *Madjeru* malté, les équations 4.3, 4.7, 4.11 et 4.17 pour le cultivar *Safrari* non malté et enfin, les équations 4.4, 4.8, 4.12 et 4.18 pour le cultivar *Safrari* malte. Les Figures 4.10, 4.11, 4.12 et 4.13 sont respectivement représentatives de ces cultivars. Les zones hachurées sont les domaines dans lesquels toute manipulation entrainerait le respect des conditions fixées au départ.

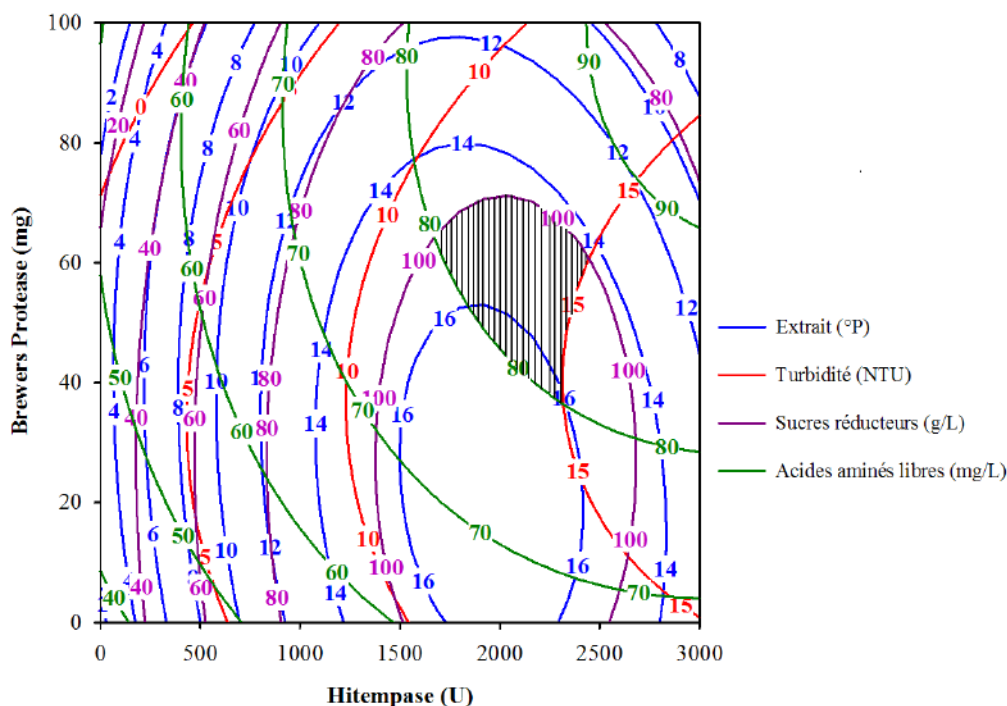


Figure 4.10 : Aire de combinaisons enzymatiques induisant des caractéristiques physico-chimiques fixées pour les moûts du cultivar *Madjeru* non malté.

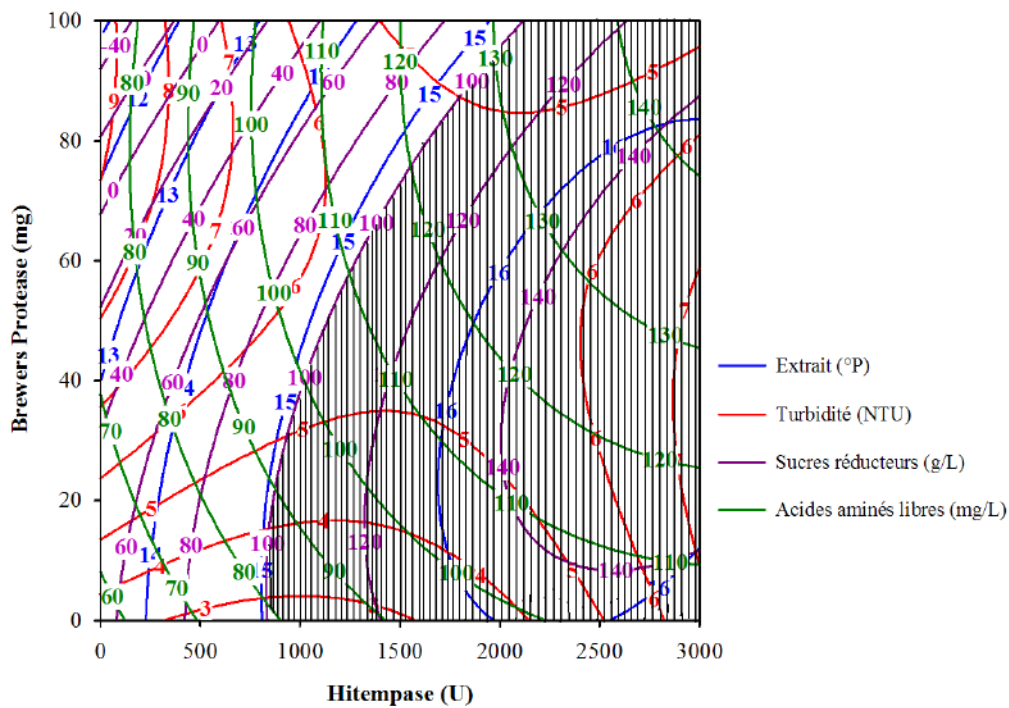


Figure 4.11 : Aire de combinaisons enzymatiques induisant des caractéristiques physico-chimiques fixées pour les moûts du cultivar *Madjeru* malté.

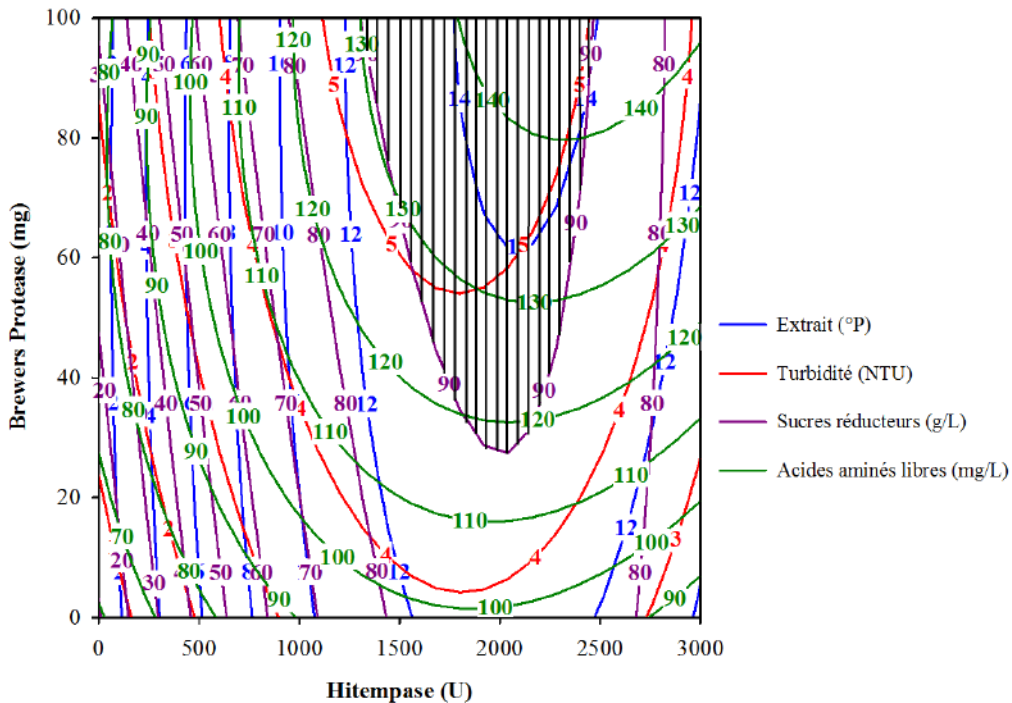


Figure 4.12 : Aire de combinaisons enzymatiques induisant des caractéristiques physico-chimiques optimales des moûts du cultivar *Safrari* non malté.

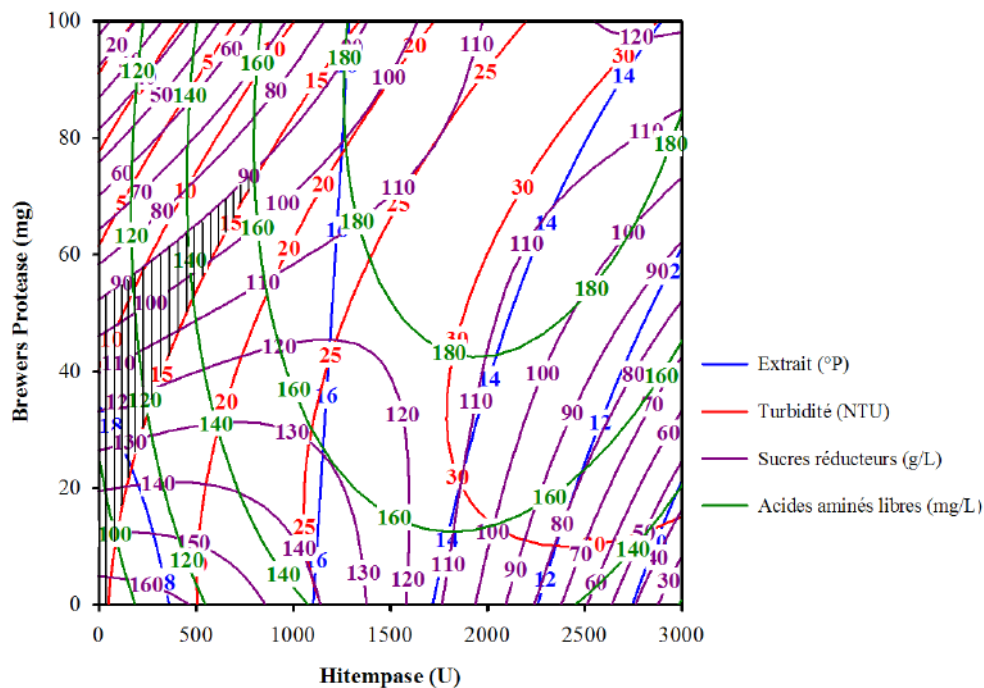


Figure 4.13 : Aire de combinaisons enzymatiques induisant des caractéristiques physico-chimiques optimales des moûts du cultivar *Safrari* malté.

IV-3-2) Optimisation intra et inter cultivar des caractéristiques physico-chimiques des moûts des sorghos non maltés et maltés.

Le but de l'optimisation entre ces deux cultivars non maltés et maltés est de vérifier s'il serait possible de trouver des combinaisons enzymatiques qui permettraient de brasser de façon indifférente d'une part le cultivar *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté, le cultivar *Safrari* non malté et *Safrari* malté et, d'autre part *Safrari* non et *Madjeru* malté, ainsi que *Safrari* malté et *Madjeru* malté. Les spécifications des moûts sont identiques à celles précisées plus haut.

IV-3-2-1) Optimisation des caractéristiques physico-chimiques de *Madjeru* (entre *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté).

La superposition des courbes issues des équations 4.1, 4.2, 4.5, 4.6, 4.9, 4.10, 4.15 et 4.16, conduit à la Figure 4.14. Ceci permettrait de dire que, il est possible de brasser de façon indépendante aussi bien *Madjeru* non malté que *Madjeru* malté et, obtenir un moût respectant les conditions fixées. Il suffirait dès lors de choisir toute combinaison enzymatique qui se retrouverait dans la zone hachurée (Figure 4.14).

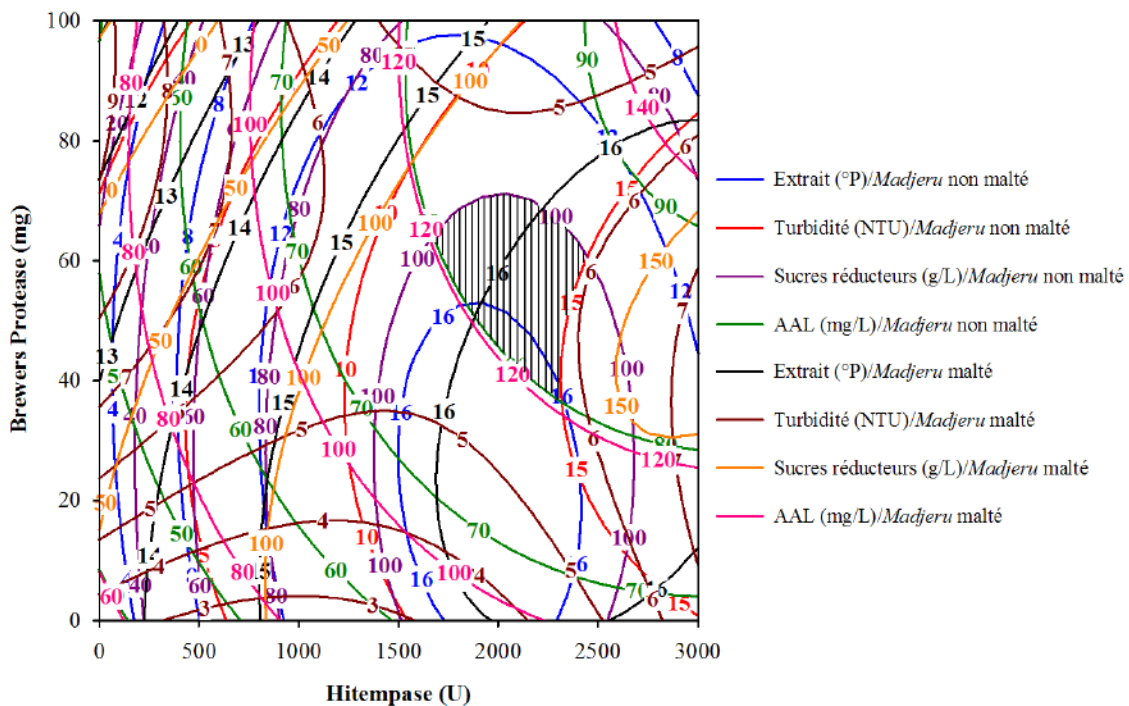


Figure 4.14 : Aire de combinaisons enzymatiques induisant des caractéristiques physico-chimiques optimales des moûts de *Madjeru* non malté et *Madjeru* malté.

IV-3-2-2) Optimisation des caractéristiques physico-chimiques de Safrari (entre Safrari non malté et Safrari malté).

Les Figures 4.12 et 4.13 permettent de dire qu'il n'existerait pas de combinaison enzymatique permettant de brasser aussi bien le cultivar *Safrari* non malté que le cultivar *Safrari* malté afin, d'obtenir un moût de caractéristiques fixées au départ. Le maltage de *Safrari* entrainant un comportement différent par rapport à *Safrari* non malté.

IV-3-2-3) Optimisation inter cultivar (entre Madjeru et Safrari non maltés).

Une superposition des Figures 4.10 et 4.12, conduit à la délimitation de la zone optimale permettant de brasser de façon indifférente les cultivars *Madjeru* et *Safrari* non maltés, et d'obtenir un moût dont les caractéristiques physico-chimiques respecteraient les spécifications (Figure 4.15). Une observation permettrait de dire qu'une combinaison enzymatique choisie dans l'aire hachurée engendrerait, de façon indépendante, des moûts de *Safrari* et *Madjeru* non maltés dont les caractéristiques physico-chimiques seraient satisfaisantes et respecteraient les conditions fixées.

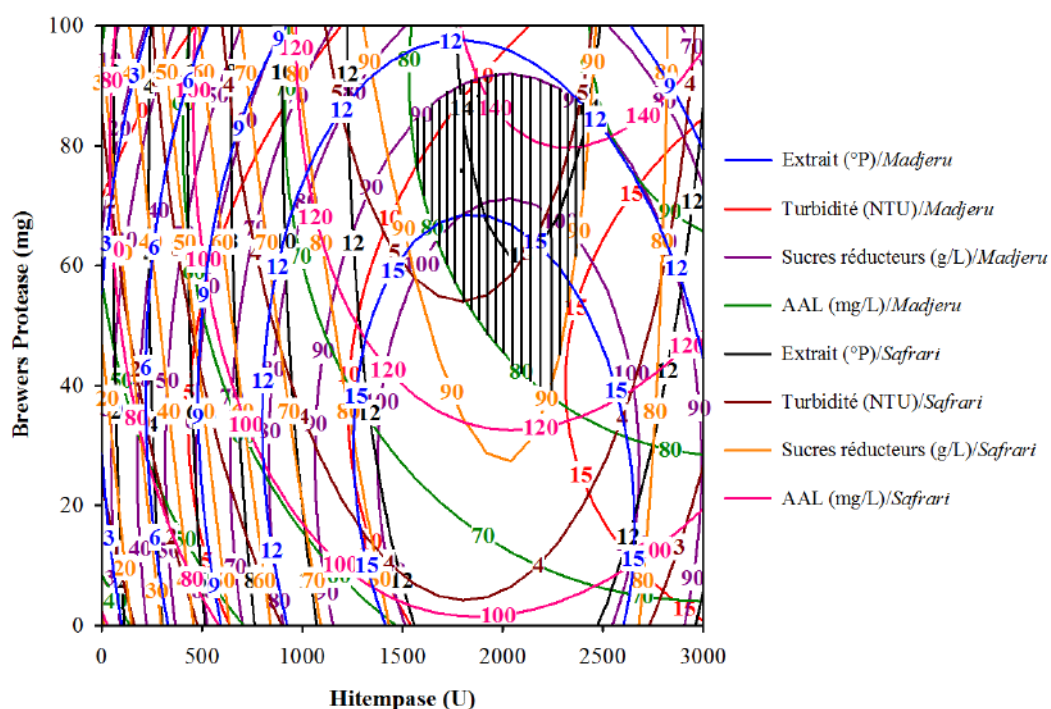


Figure 4.15 : Aire de combinaisons enzymatiques induisant indifféremment des caractéristiques physico-chimiques optimales des moûts des cultivars *Safrari* et *Madjeru* non maltés.

IV-3-2-4) Optimisation inter cultivar (entre *Madjeru* et *Safrari* maltés).

Le constat qui se dégage des Figures 4.11 et 4.13, est qu'il ne serait pas possible d'utiliser une combinaison enzymatique afin de brasser indépendamment les cultivars maltés *Safrari* et *Madjeru* et, d'obtenir les résultats correspondants aux objectifs. On pourrait postuler un comportement différent des deux cultivars au cours du maltage.

IV-4) CONCLUSION PARTIELLE.

Il existe au sein d'un même cultivar des compromis de combinaisons enzymatiques permettant de les brasser efficacement aussi non maltés que maltés. Il a été également montré qu'un compromis est indispensable pour atteindre les objectifs fixés pour les caractéristiques physico-chimiques (cahier de charges) des moûts de sorgho. Bioglucanase TX est une enzyme de moindre importance lors du brassage du sorgho par rapport à Hitempase 2XL et Brewers Protease. Il existe des compromis de combinaisons enzymatiques permettant de brasser efficacement aussi bien le cultivar *Madjeru* non malté que le cultivar *Safrari* non malté.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

L'objectif de cette étude a été de valoriser le sorgho par le biais de la modélisation et l'optimisation des caractéristiques physico-chimiques cruciales des moûts. Malgré le fait que les cultivars de sorgho (*Madjeru* et *Safrari* utilisés dans ce travail) possèdent une potentialité brassicole, la synthèse enzymatique (notamment amylase et protéase) au cours du maltage est insuffisante. Ceci a justifié la supplémentation enzymatique lors du brassage de ces deux cultivars. Les modèles mathématiques obtenus pour le suivi des caractéristiques physico-chimiques des moûts de sorghos non maltés et maltés sont polynomiaux multi variables et, tous du second degré avec interaction. Au cours de la modélisation, il s'est avéré que l'Hitempase 2XL et la Brewers Protease sont indispensables pour le brassage des deux cultivars de sorgho. L'ajout de ces enzymes brassicoles commerciales améliore considérablement les caractéristiques physico-chimiques des moûts provenant des cultivars de sorghos maltés. L'optimisation a permis de trouver des aires de combinaisons enzymatiques pour brasser individuellement et en combinaisons les différents cultivars de sorghos. Tout ceci faciliterait désormais le brassage de ces cultivars de sorgho très populaires dans le Cameroun septentrional et contribuerait à la valorisation de cette céréale dans la fabrication des boissons. Comme perspectives et afin de compléter ce travail, certaines études devraient être conduites à savoir :

Evaluer l'impact de ces enzymes sur le profil des sucres et d'acides aminés libres des moûts.

Faire une modélisation et une optimisation de la fermentation des moûts de sorgho en utilisation la MSR puis, conduire le travail jusqu'à l'obtention d'une bière.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adejemilua, F., 1995. Processing and profile of sorghum malt. *Technical Quarterly Master Brewers Association of the Americas*, 32, 15-18.
- Agu, R.C. & Palmer, G.H., 1997. The effect of temperature on the modification of sorghum and barley during malting. *Process Biochemistry*, 32, 501-507.
- Agu, R.C. & Palmer, G.H., 1998a. Effect of mashing with commercial enzymes on the properties of sorghum worts. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 14, 43-48.
- Agu, R.C. & Palmer, G.H., 1998b. Enzymic modification of endosperm of barley and sorghum of similar total nitrogen. *Brewer's Digest*, 30-35.
- Agu, R.C., Ugwu, A.H., Okenchi, M.U., Aneke, I.B. & Anyanwu, T.U., 1995. Effect of low kilning temperatures on diastase and cellulase development of Nigerian malted sorghum (*Sorghum bicolor*). *Process Biochemistry*, 31, 63-68.
- Aisien, A.O., 1982. Enzymic modification of sorghum endosperm during seedling growth and malting. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 33, 754-759.
- Aisien, A.O., 1988. Sorghum: A suitable source for brewing beer? *Brewing and Distilling International*, 2, 20-22.
- Aisien, A.O. & Muts, G.C.J., 1987. Micro-scale malting and brewing studies of some sorghum varieties. *Journal of the Institute of Brewing*, 93, 328-333.
- Analytica-Ebc, 1998. *European Brewery convention* Nürnberg: Fachverlag Hans Carl.
- Aniche, G.N. & Palmer, G.H., 1990. Development of amylolytic activities in sorghum and barley malt. *Journal of the Institute of Brewing*, 96, 377-379.
- Armad, R., Andersson, H., Bardocz, S. & Serra, F., 1998. Polyphenols in Food. *Office for Official Publications of the European Communities*. Luxembourg.
- Arri, B.K., 1989. Problems associated with the use of sorghum for lager beer production. Industrial Utilization of sorghum. *Symposium on the Current Status and Potential of Industrial Uses of Sorghum*. Kano, Nigeria: ICRISAT.
- Bajomo, M.F. & Young, T.W., 1992. Development of a mashing profile for the use of microbial enzymes in brewing with raw sorghum (80%) and malted barley or sorghum malt (20%). *Journal of the Institute of Brewing*, 98, 515-523.
- Bajomo, M.F. & Young, T.W., 1994. Fermentation of worts made from 100% raw sorghum and enzymes. *Journal of the Institute of Brewing*, 100, 79-84.

- Baranyi, J., Pin, C. & Ross, T., 1999. Validating and comparing predictive models. *International Journal of Food Microbiology*, 48, 159-166.
- Barredo Moguel, L.H., Rojas De Gante, C. & Serna Saldivar, S.O., 2001. Alpha amino nitrogen and fusel alcohols of sorghum worts fermented into lager beer. *Journal of the Institute of Brewing*, 107, 367-372.
- Baş, D. & Boyac, I.H., 2007. Modeling and optimization I: Usability of response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 78, 836-845.
- Bernfeld, P., 1955. Amylases, alpha and beta. *Methods in Enzymology*, 1, 149-158.
- Brandam, C., Meyer, X.M., Proth, J., Strehaiano, P. & Pingaud, H., 2003. An original kinetic model for the enzymatic hydrolysis of starch during mashing. *Biochemical Engineering Journal*, 13, 43-52.
- Briggs, D.E., 1998. *Malts and malting*, 1 ed. London: Blackie Academic & Professional.
- Briggs, D.E., Boulton, C.A., Brookes, P.A. & Stevens, R., 2004. *Brewing science and practice* Cambridge: Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC.
- Buleon, A., 2001. Caractéristiques structurales des amidons. *Formation Adria*. Nantes: Adria.
- Chandrashekar, A. & Kirleis, A.W., 1988. Influence of protein on starch gelatinization in sorghum. *Cereal Chemistry*, 65, 457-462.
- Daiber, K.H. & Taylor, J.R.N., 1995. Opaque beers. In David-Av-Dendy (ed.) *Sorghum and Millets: Chemistry and Technology*. St. Paul: American Association of Cereal Chemists, 299-323.
- Dalgaard, P. & Jorgensen, L.V., 1998. Predicted and observed growth of *Listeria monocytogenes* in seafood challenge tests and in naturally contaminated cold smoked salmon. *International Journal of Food Microbiology*, 40, 105 - 115.
- David, D.P.I., Diana, U.L., Carmen, H.B. & Sergio, O.S., 2004. Effect of amyloglucosidase on wort composition and fermentable carbohydrate depletion in sorghum lager beers. *Journal of the Institute of Brewing*, 110, 124-132.
- Declan, L.G., Catherine, H. & Elke, K.A., 2002. Mashing studies with unmalted sorghum and malted barley. *Journal of the Institute of Brewing*, 108, 465-473.
- Del Pozo-Insfran, D., Urias-Lugo, D., Hernandez-Brenes, C. & Serna Saldivar, S.O., 2004. Effect of amyloglucosidase on wort composition and fermentable carbohydrate depletion in sorghum lager beers. *Journal of the Institute of Brewing*, 110, 124-132.
- Desobgo, Z.S.C., Nso, E.J., Tenin, D. & Kayem, G.J., 2010. Modelling and optimizing of mashing enzymes-effect on yield of filtrate of unmalted sorghum by use of response surface methodology. *Journal of the Institute of Brewing*, 116, 62-69.

- Dewar, J., Taylor, J.R.N. & Berjak, P., 1997a. Effect of germination conditions, with optimised steeping, on malt quality with a particular reference to free amino nitrogen. *Journal of the Institute of Brewing*, 103, 171-175.
- Dewar, J., Taylor, J.R.N. & Orovan, E., 1997b. Effect of alkaline steeping on water uptake and malt quality in sorghum. *Journal of the Institute of Brewing*, 103, 283-285.
- Dufour, J.P., Melotte, L. & Srebrnik, S., 1992. Sorghum malts for the production of a lager beer. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 50, 110-119.
- Duodu, K.G., Taylor, J.R.N., Belton, P.S. & Hamaker, B.R., 2003 Factors affecting sorghum protein digestibility. *Journal of Cereal Science*, 38, 117-131.
- Emmambux, M. & Taylor, J.R.N., 2003. Sorghum kafirin interaction with various phenolic compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, 402-407.
- Eneje, L., Obiekezie, S., Aloh, C. & Agu, R.C., 2001. Effect of milling and mashing procedures on millet (*Pennisetum maiwa*) malt wort properties. *Process Biochemistry*, 36, 723-727.
- Etokakpan, O.U., 1992. Amylolytic potentials and wort fermenting components of nigerian sorghums and barley. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 8, 287-289.
- Etokakpan, O.U., 2004. Convertibility of IOB, EBC and SABS methods for sorghum DP measurements using correlation coefficients. *Journal of the Institute of Brewing*, 110, 335-339.
- Etokakpan, O.U. & Palmer, G.H., 1990. Comparative studies of the development of endosperm-degrading enzymes in malting sorghum and barley. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 6, 408-417.
- Evans, D.J. & Taylor, J.R.N., 1990a. Extraction and assay of proteolytic activities in sorghum malt. *Journal of the Institute of Brewing*, 96, 201-207.
- Evans, D.J. & Taylor, J.R.N., 1990b. Influence of cultivar and germination conditions on proteolytic activities in sorghum malt. *Journal of the Institute of Brewing*, 96, 399-402.
- Ezeogu, L.I. & Okolo, B.N., 1994. Effects of final warm steeping and air-rest cycles on malt quality parameters of three improved nigerian sorghum cultivars. *Journal of the Institute of Brewing*, 100, 335-338.
- Ezeogu, L.I. & Okolo, B.N., 1995. Effects of air rest period on the mobilization of sorghum reserve proteins. *Journal of the Institute of Brewing*, 101, 463-468.

- Ezeogu, L.I. & Okolo, B.N., 1999. Relationship between some sorghum malt quality characteristics and nature of alkaline steep liquor. *Journal of the Institute of Brewing*, 105, 49-54.
- Ezeogu, L.I., Taylor, J.R.N. & Duodu, K.G., 2005. Effects of endosperm texture and cooking conditions on the in vitro starch digestibility of sorghum and maize flours. *Journal of Cereal Science*, 42, 33-44.
- Fao, 2010. *Production de sorgho au Cameroun (tonnes)* [online]. FAOSTAT. Available from: <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor> [Accessed Access Date 2010].
- Floudas, Christodoulos, A., Pardalos & Panos, M., 2009. Encyclopedia of optimization. In Floudas, A. Christodoulos, Pardalos & M. Panos (eds.) 2 ed.: Springer, 4626.
- Gervais, G., 2007. Modélisation et réalité : la rencontre des mathématiques et des sciences. *Spectre thématique*, 37, 19-24.
- Giovanni, M., 1983. Response surface methodology and product optimization. *Food Technology*, 37, 41-45.
- Goldiner, F., Klemann, H. & Kämpf, W., 1966. *Sugar table*. Berlin.
- Goode, D.L. & Arendt, E.K., 2003. Pilot scale production of lager beer from grist containing 50% unmalted sorghum. *Journal of the Institute of Brewing*, 109, 208-217.
- Goode, D.L., Halbert, C. & Arendt, E.K., 2002. Mashing studies with unmalted sorghum and malted barley. *Journal of the Institute of Brewing*, 108, 465-473.
- Goode, D.L., Halbert, C. & Arendt, E.K., 2003. Optimisation of mashing conditions when mashing with unmalted sorghum and commercial enzymes. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 61, 69-78.
- Goupy, J. & Creighton, L., 2006. *Introduction aux plans d'expériences*, 3 ed. Paris: Dunod.
- Hämäläinen, J.J. & Reinikainen, P., 2007. A simulation model for malt enzyme activities in kilning. *Journal of the Institute of Brewing*, 113, 159-167.
- Holmberg, J.E., Hämäläinen, J.J., Reinikainen, P. & Olkku, J., 2002. A model for predicting the effects of a steeping program on the germination of barley with different water sensitivities. *Journal of the Institute of Brewing*, 108, 416-423.
- Hoseney, R.C., Davis, A.B. & Harbers, L.H., 1974. Pericarp and endosperm structure of sorghum grain shown by scanning electron microscopy. *American Association of Cereal Chemists*, 51, 552-558.
- Hough, J.S., Briggs, D.E., Stevens, R. & Young, T.W., 1982. *Malting and brewing science*, University Press ed. London: Chapman and Hall.

- Ilori, M.O., Ogundiwin, J.O. & Adewusi, S.R., 1991. Sorghum malt brewing with sorghum/maize adjuncts. *Brewing and Distilling International*, 3, 10-31.
- Jones, B. & Marinac, L., 2002. The effect of mashing on malt endoproteolytic activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 858-864.
- Kettunen, A., Hämäläinen, J.J., Stenholm, K. & Pietilä, K., 1996. A model for the prediction of beta-glucanase activity and beta-glucan concentration during malting. *Journal of Food Engineering*, 29, 185-200.
- Koljonen, T., Hämäläinen, J.J., Stenholm, K. & Pietilä, K., 1995. A model for the prediction of fermentable sugar concentrations during mashing. *Journal of Food Engineering*, 26, 329-350.
- Koulandi, J., 1999. *Le bili-bili et la « libération » de la femme tupuri (idées et réflexions pour un débat constructif sur l'avenir de la communauté tupuri du Tchad et du Cameroun)*, Editions et Média ed. Guider: Ka'arang.
- Kurz, T., Mieleitner, J., Becker, T. & Delgado, A., 2002. A model based simulation of brewing yeast propagation. *Journal of the Institute of Brewing*, 108, 248-255.
- Kuusela, P., Hämäläinen, J.J., Reinikainen, P. & Olkku, J., 2004. A simulation model for the control of beta-glucanase activity and beta-glucan degradation during germination in malting. *Journal of the Institute of Brewing*, 110, 309-319.
- Larreta-Garde, V., 1997. *Enzymes en agroalimentaire*, Lavoisier ed. Paris: Technique & Documentation
- Letsididi, R., Bulawayo, B., Kebakile, M. & Ezeogu, L.I., 2008. Evaluation of indigenous Botswana sorghum cultivars with respect to their diastatic power, α -amylase, β -amylase, and limit dextrinase potentials for malting. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 66, 29-36.
- Letters, 1985. The complexity of beer beta glucans. *EBC Proceedings*. Helsinki, 395-402.
- Lopez, E. & Muchnik, J., 2001. Des systèmes agroalimentaires dans la ville? Le cas de Maroua au Nord-Cameroun. *Etud. Rech. Syst. Agraires Dév.*, 32, 145-163.
- Mathieu, D., Feneuille, D. & Phan-Tan-Luu, R., 1977. Méthodologie de la recherche expérimentale: Etude des surfaces de réponse. IUT de l'Université d'Aix-Marseille.
- Mccleary, B.V., 1986. Enzymatic hydrolysis and industrial importance of barley beta-glucans and wheat flour pentosan. *Starch/Starke*, 12, 433-437.
- Miller, G.L., 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31, 426-428.

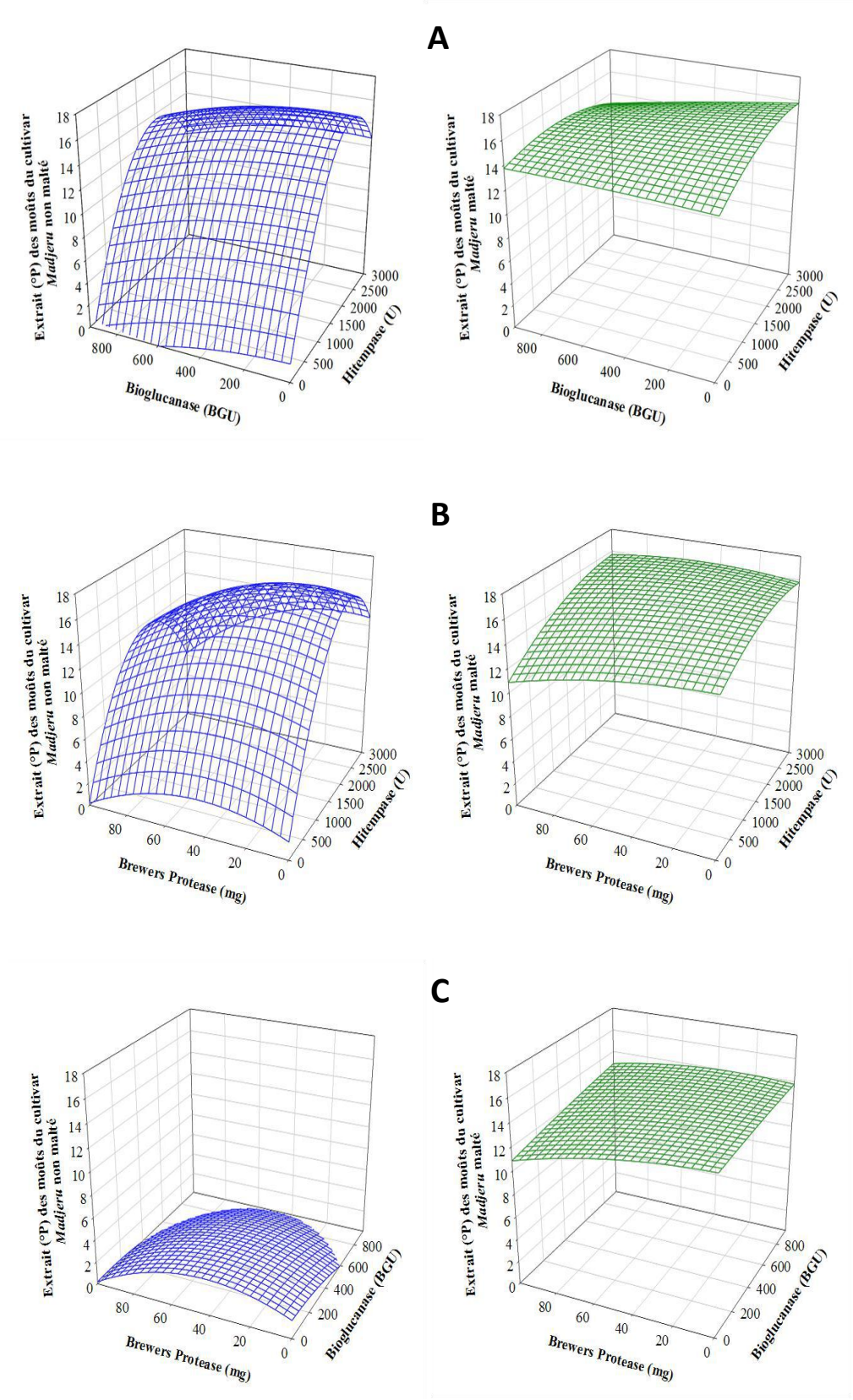
- Muller, R., 2000. A mathematical model of the formation of fermentable sugars from starch hydrolysis during high-temperature mashing. *Enzyme and Microbial Technology*, 27, 337-344.
- Murty, D. & Kumar, K., 1995. Traditional uses of sorghum and millets. In David-Av-Dendy (ed.) *Sorghum and Millets: Chemistry and Technology*. Saint Paul, USA: American Association of Cereal Chemists.
- Myers, R.H. & Montgomery, D.C., 1995. *Response surface methodology: Process and product optimization using designed experiments* New York: John Wiley & Sons.
- Narziss, L. & Friedrich, G., 1970. The influence of the malting process on increasing the enzyme activity of malt. *Brauwelt*, 110, 652-655.
- Nso, E.J., Ajebesone, P.E., Mbofung, C.M. & Palmer, G.H., 2003. Properties of three sorghum cultivars used for the production of *Bili-Bili* beverage in Northern Cameroon. *Journal of the Institute of Brewing*, 109, 245-250.
- Nso, E.J., Nanadoum, M. & Palmer, G.H., 2006. The effect of formaldehyde on enzyme development in sorghum malts. *Technical Quarterly Master Brewers Association of the Americas*, 43, 177-182.
- Odunfa, S.A., 1985. African Fermented Foods. In B.J.B. Wood (ed.) *Microbiology of fermented foods*. Elsevier Appl. Sci. Publ. Lond., 155-191.
- Okolo, B.N. & Ezeogu, L.I., 1996. Enhancement of amylolytic potential of sorghum malts by alkaline steep treatment. *Journal of the Institute of Brewing*, 102, 79-85.
- Okolo, B.N., Ezeogu, L.I. & Ugwuanyi, K.E., 1997. Amylolysis of sorghum starch as influenced by cultivar, germination time and gelatinisation temperature. *Journal of the Institute of Brewing*, 103, 371-376.
- Okungbowa, J., Obeta, J.a.N. & Ezeogu, L.I., 2002. Sorghum β -amylase production: Relationship with grain cultivar, steep regime, steep liquor composition and kilning temperature. *Journal of the Institute of Brewing*, 108, 362-370.
- Olatunji, O., Jibogun, A.C., Anibaba, T.S., Oliyide, V.O., Ozumba, A.U., Oniwinde, A.B. & Koleoso, O., 1993. Effect of different mashing procedures on the quality of sorghum beer. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 51, 67-70.
- Ortega-Villicana, T. & Serna Saldivar, S.O., 2004. Production of lager beer from sorghum malt and waxy grits. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 62, 131-139.
- Owuama, C.I., 1999. Brewing beer with sorghum. *Journal of the Institute of Brewing*, 105, 23-34.

- Palmer, G.H., 1989. Cereal for malting and brewing. In G. Palmer (ed.) *Cereal science and technology*. Aberdeen, Scotland: Aberdeen University Press, 61-242.
- Pathirana, R., Shivayogasundaram, K. & Jayatissa, P., 1983. Optimisation of conditions for malting sorghum. *Journal of Food Science and Technology*, 20, 108-112.
- Phiarais, N.B., Schehl, B.D., Oliveira, J.C. & Arendt, E.K., 2006. Use of surface response methodology to investigate the effectiveness of commercial enzymes on buckwheat malt for brewing purpose. *Journal of the Institute of Brewing*, 112, 324-332.
- Purseglove, J.W., 1988. *Tropical Crops Monocotyledons* Longman group limited.
- Robert, M., 2000. A mathematical model of the formation of fermentable sugars from starch hydrolysis during high-temperature mashing. *Enzyme and Microbial Technology*, 27, 337-344.
- Rooney, L. & Waniska, R., 2000. Sorghum food and industrial utilization. In S. Wayne & R. Frederiksen (eds.) *Sorghum: Origin, History, Technology, and Production*. New York: John-Wiley & Sons.
- Ross, T., 1996. Indices for performance evaluation of predictive models in food microbiology. *Journal of Applied Bacteriology*, 81, 501-508.
- Seignobos, C., 1976. La bière de mil dans le Nord-Cameroun : un phénomène de mini-économie. *Recherches sur l'approvisionnement des villes et la croissance urbaine dans les pays tropicaux*. Mémoires du Ceget – CNRS, 1-39.
- Seignobos, C. & Tourneux, H., 2002. *Le Nord-Cameroun à travers ses mots. Dictionnaire de termes anciens et modernes. Province de l'extreme Nord* Paris: IRD/Karthala.
- Serna-Saldivar, S. & Rooney, L., 1995. Structure and chemistry of sorghum and millets. In David-Av-Dendy (ed.) *Sorghum and Millets: Chemistry and Technology*. Saint. Paul, USA: American Association of Cereal Chemists.
- Speers, A.R., Rogers, P. & Smith, B.D., 2003. Non-linear modelling of industrial brewing fermentations. *Journal of the Institute of Brewing*, 109, 229-235.
- Taskila, S., Tuomola, M., Kronlöf, J., Ruuska, J. & Neubauer, P., 2010. Note – preliminary applications of response surface modelling to the evaluation of optimal growth conditions for beer-spoiling *Pediococcus damnosus*. *Journal of the Institute of Brewing*, 116, 211–214.
- Taylor, J.R.N., 1983. Effect of malting on the protein and free amino nitrogen composition of sorghum. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 34, 885-892.

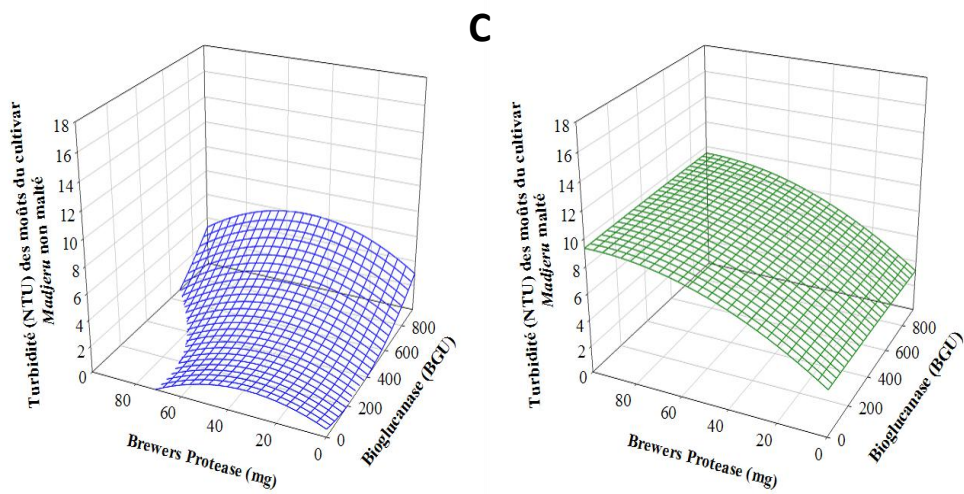
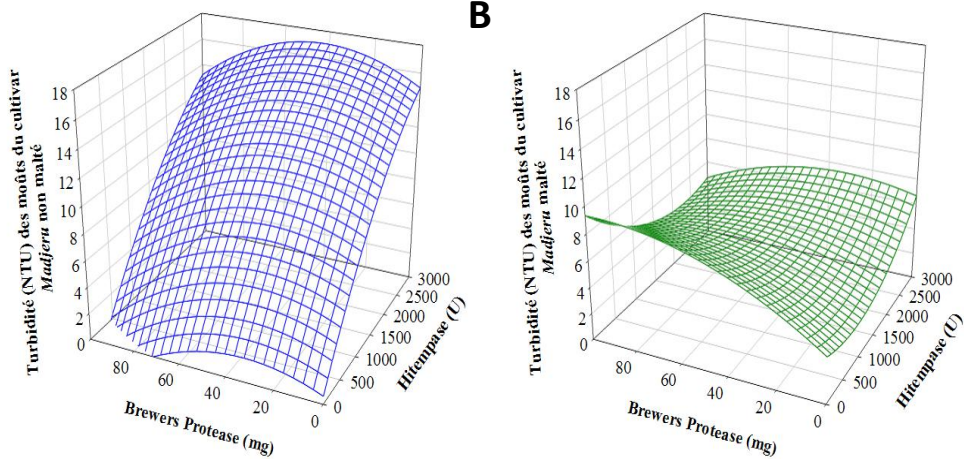
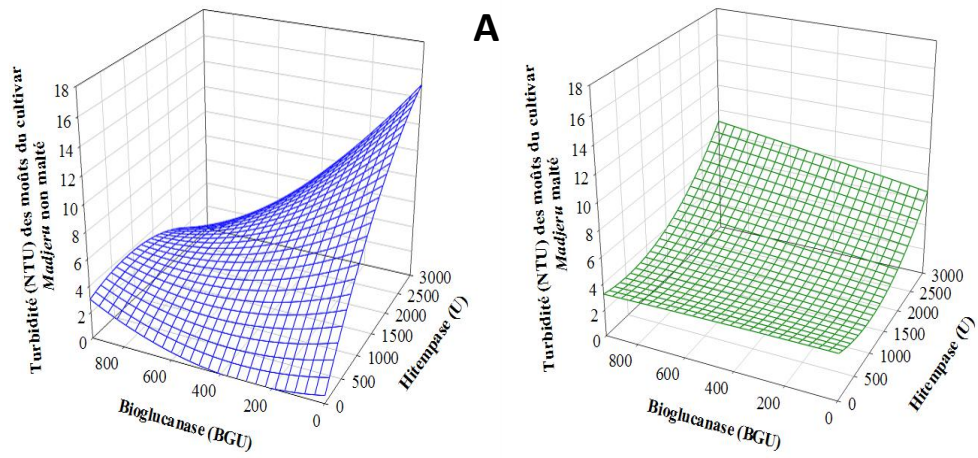
- Taylor, J.R.N., 1991. Proteolysis in sorghum maltings. *Proceedings of the Third Scientific and Technical Convention, Institute of Brewing, Central and South African Section*. Johannesburg, 18-24.
- Taylor, J.R.N., 2004. Overview: Importance of sorghum in Africa. University of Pretoria.
- Taylor, J.R.N. & Dewar, J., 2001. Developments in sorghum food technologies. In J. Taylor (ed.) *Advances in Food and Nutrition Research*. San Diego, USA: Academic Press, 217-264.
- Taylor, J.R.N. & Robbins, D., 1993. Factors affecting beta-amylase activity in sorghum malt. *Journal of the Institute of Brewing*, 99, 413-416.
- Taylor, J.R.N., Schober, J.T. & Bean, S.R., 2006. Novel food and non-food uses for sorghum and millets. *Journal of Cereal Science*, 44, 252-271.
- Wet, J.M. & Harlan, J.R., 1971. The origin and domestication of *Sorghum bicolor*. *Econ. Bot.*, 25, 128-135.
- Yaldagard, M., Mortazavi, A.S. & Tabatabaie, F., 2008. Application of ultrasonic waves as a priming technique for accelerating and enhancing the germination of barley seed: Optimization of method by the Taguchi approach. *Journal of the Institute of Brewing*, 114, 14-21.
- Zhang, G. & Hamaker, B.R., 1998. Low α -Amylase Starch Digestibility of Cooked Sorghum Flours and the Effect of Protein. *Cereal Chemistry*, 75, 710-713.

ANNEXES

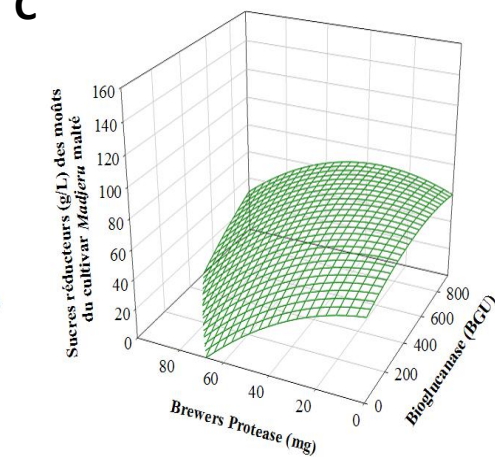
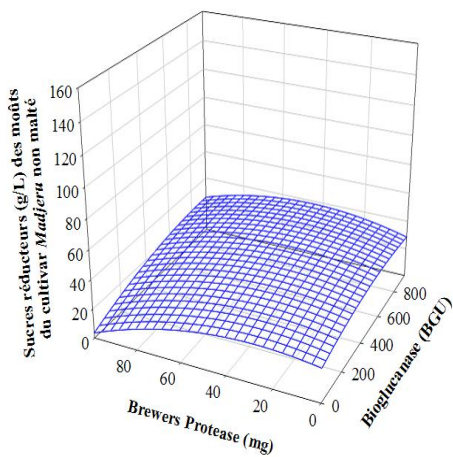
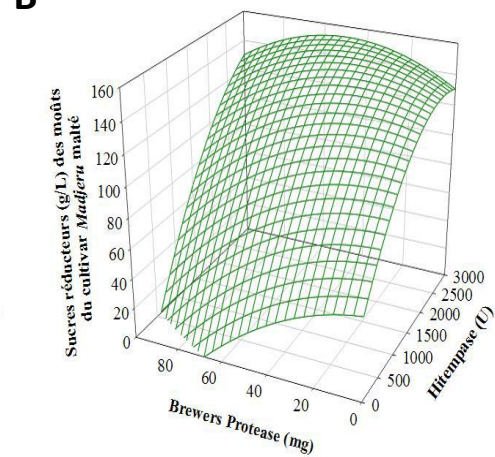
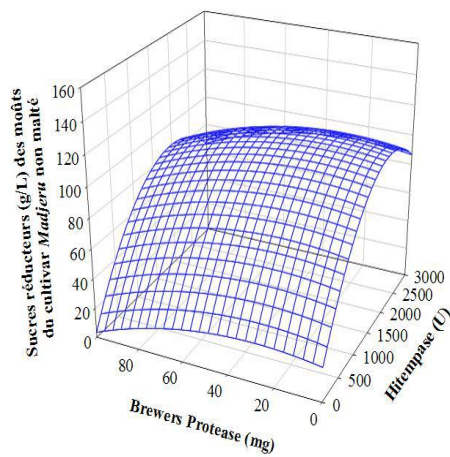
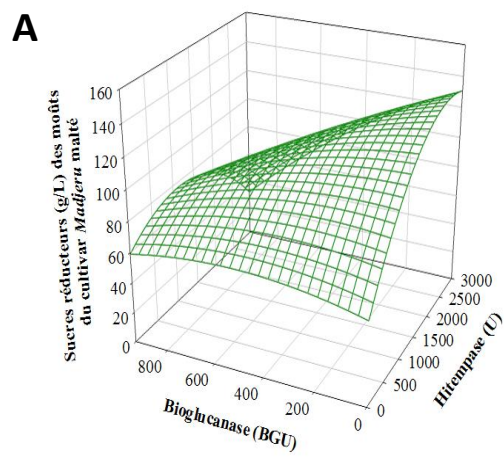
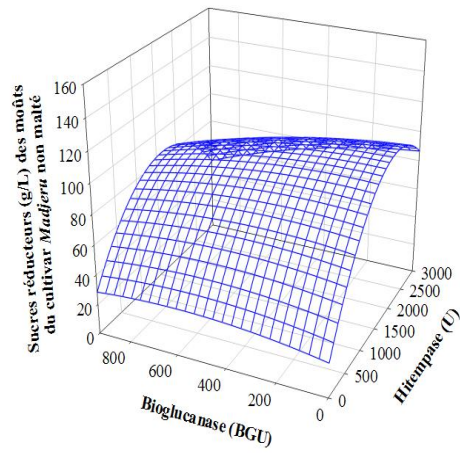
Annexe 1 : Impact des interactions sur l'extrait des moûts de *Madjeru* (A : Interaction X_1X_2 ; B : Interaction X_1X_3 ; C : Interaction X_2X_3).



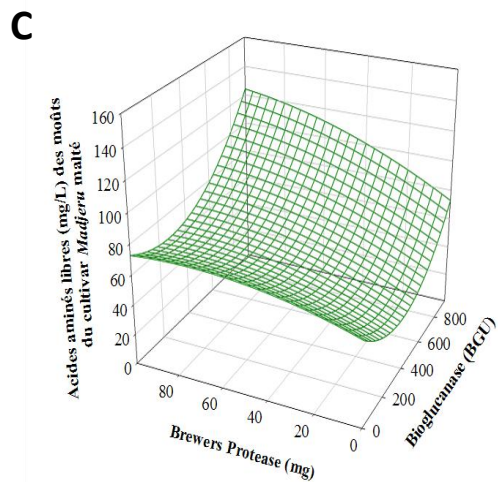
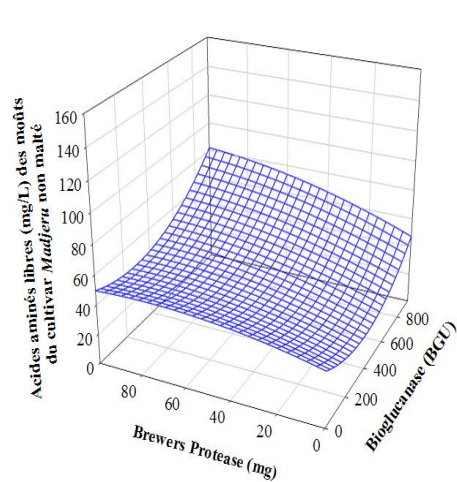
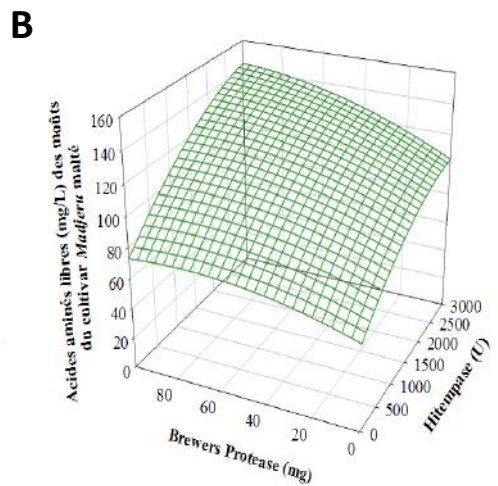
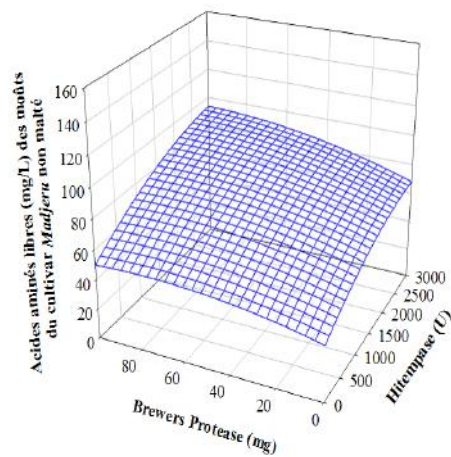
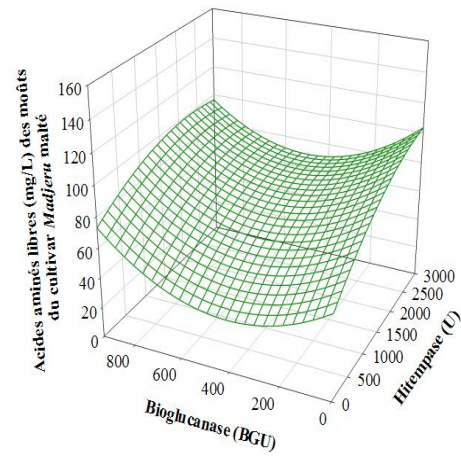
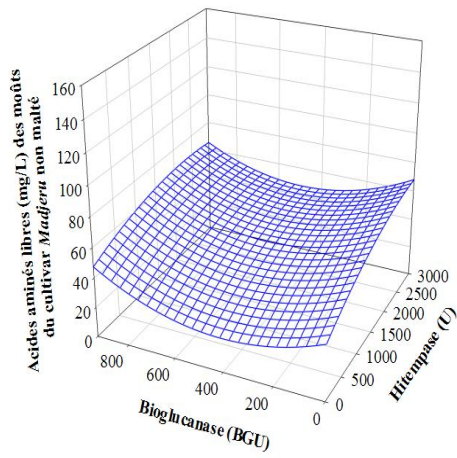
Annexe 2 : Impact des interactions sur la turbidité des moûts de *Madjeru* (A : Interaction X_1X_2 ; B : Interaction X_1X_3 ; C : Interaction X_2X_3).



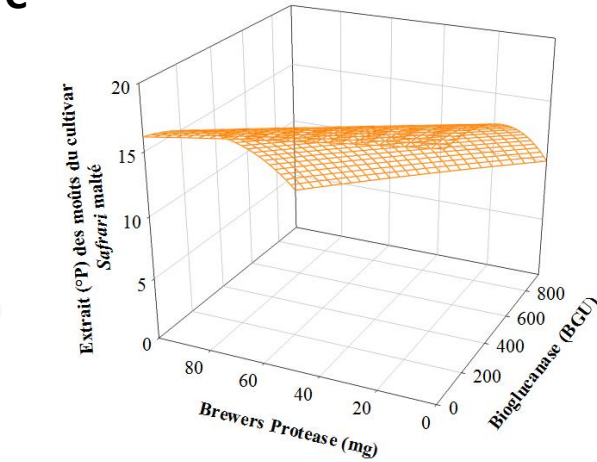
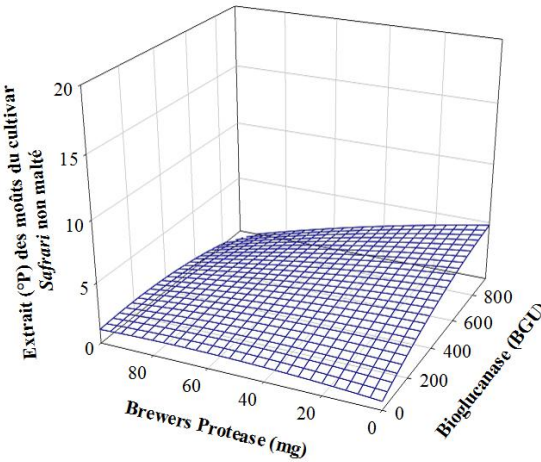
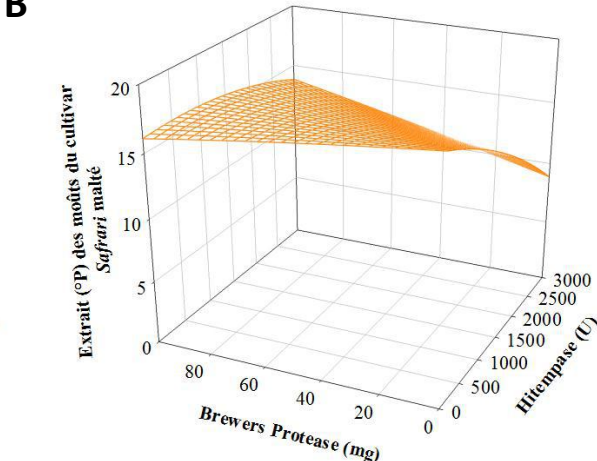
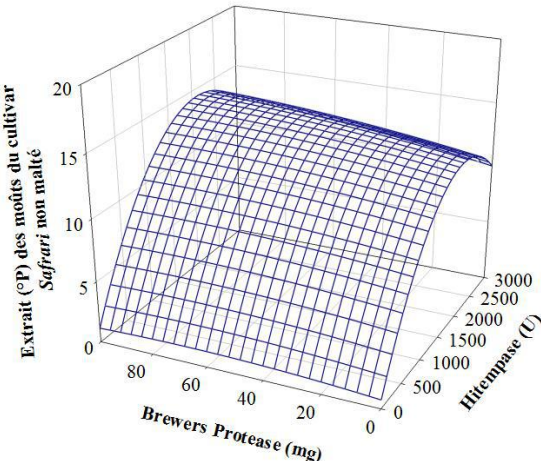
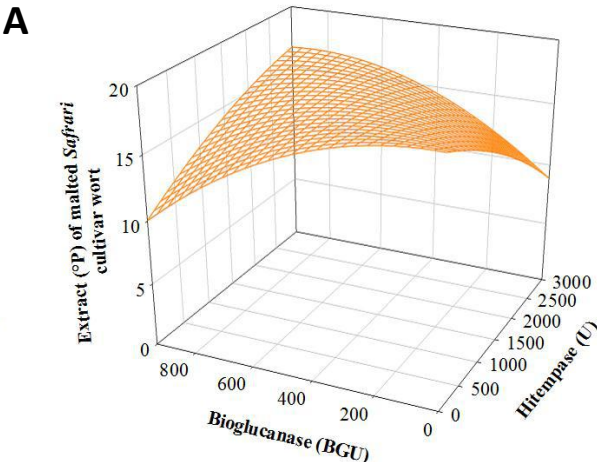
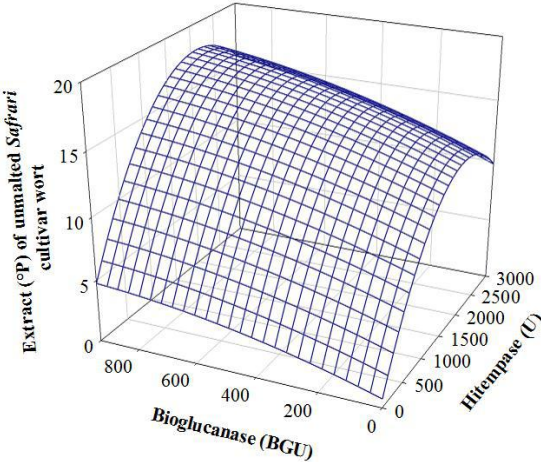
Annexe 3 : Impact des interactions sur les sucres réducteurs des moûts de *Madjeru* (A : Interaction X_1X_2 ; B : Interaction X_1X_3 ; C : Interaction X_2X_3).



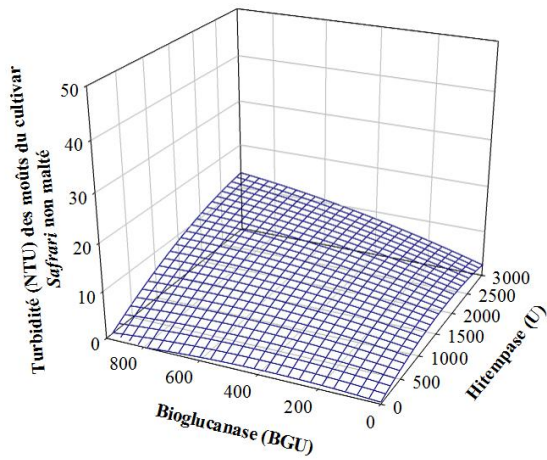
Annexe 4 : Impact des interactions sur les acides aminés libres des moûts de *Madjeru* (A : Interaction X_1X_2 ; B : Interaction X_1X_3 ; C : Interaction X_2X_3).



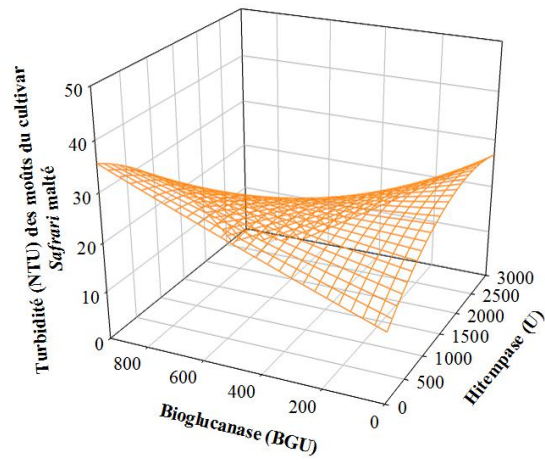
Annexe 5 : Impact des interactions sur l'extrait des moûts de *Safrari* (A : Interaction X_1X_2 ; B : Interaction X_1X_3 ; C : Interaction X_2X_3).



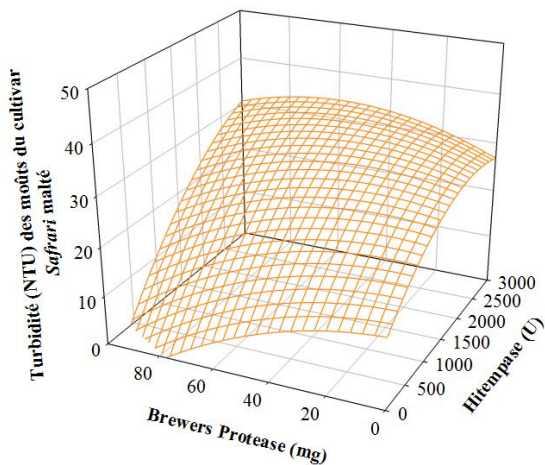
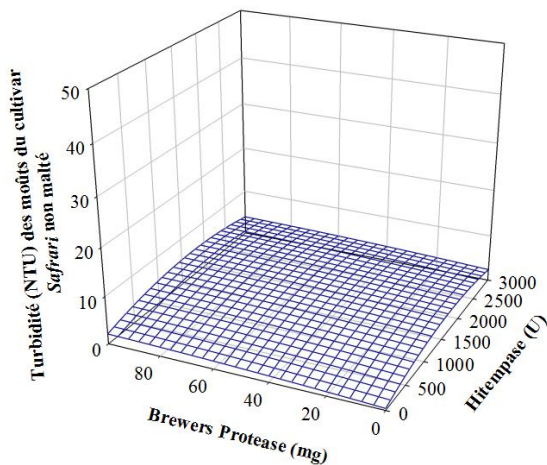
Annexe 6 : Impact des interactions sur la turbidité des moûts de *Safrari* (A : Interaction X_1X_2 ; B : Interaction X_1X_3 ; C : Interaction X_2X_3).



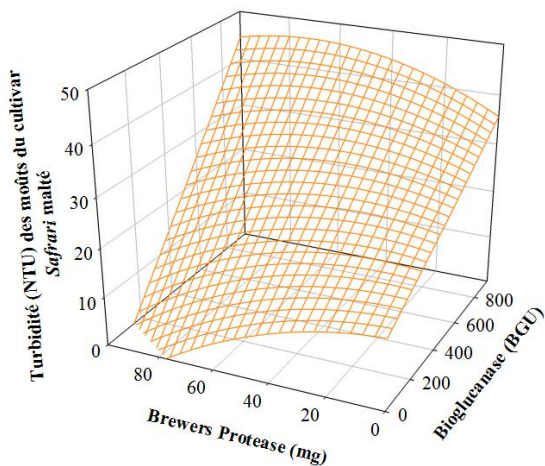
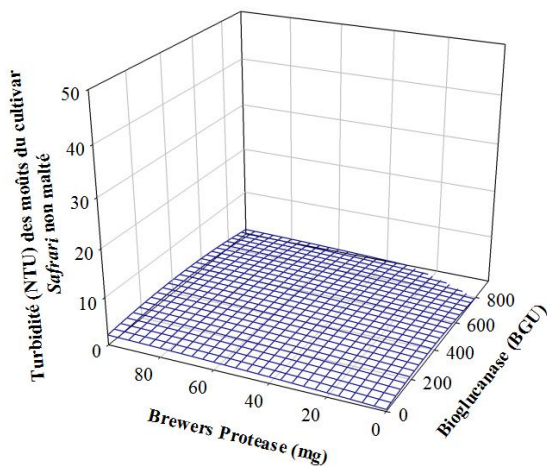
A



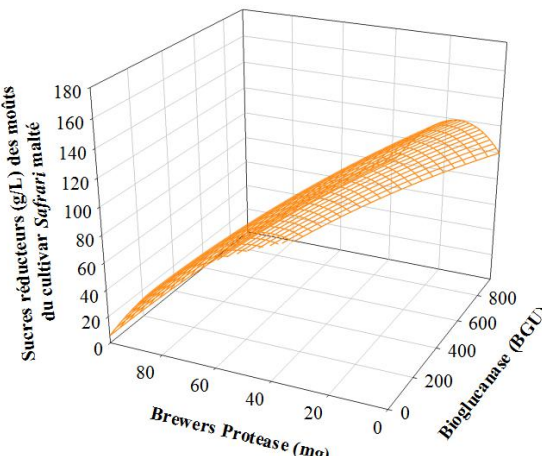
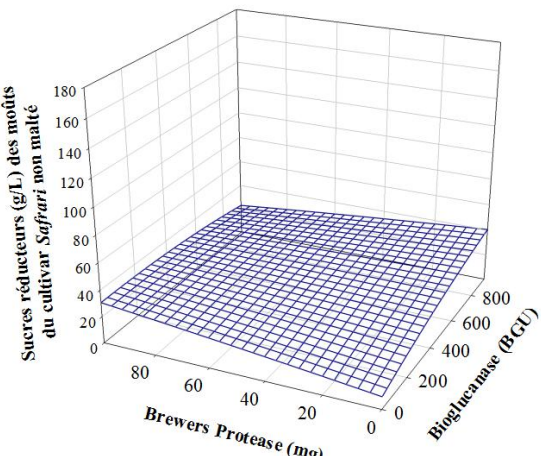
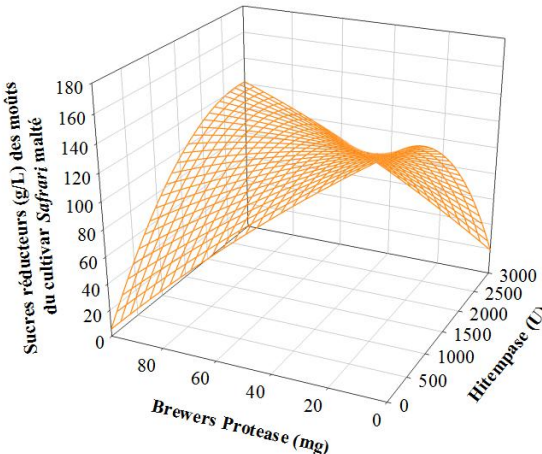
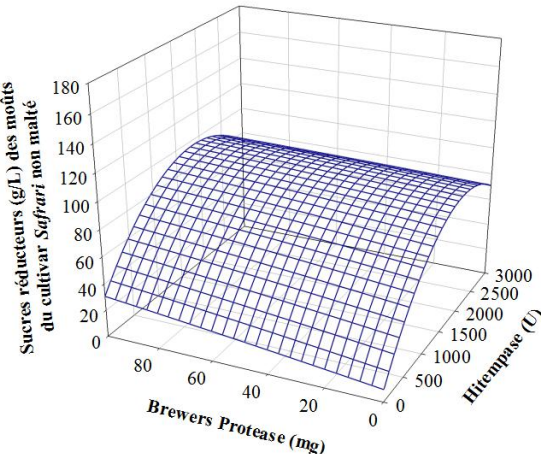
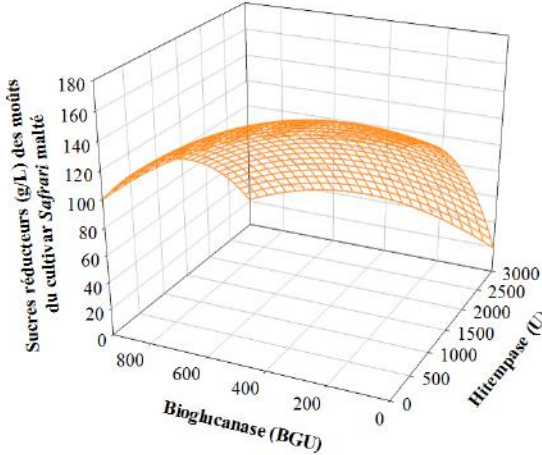
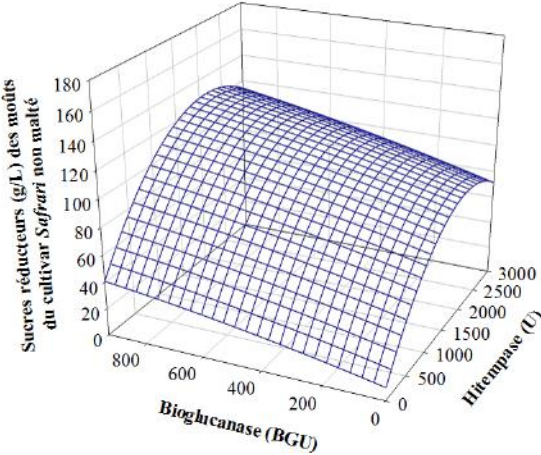
B



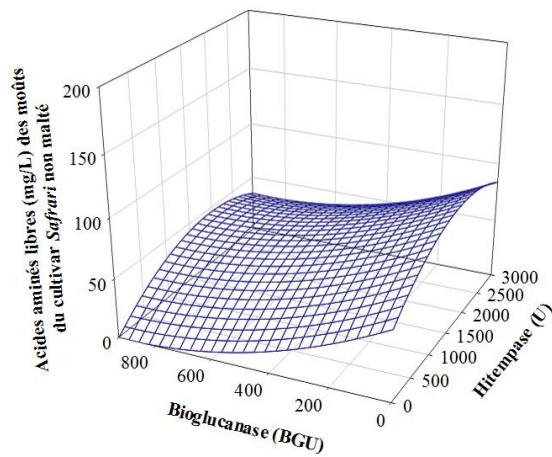
C



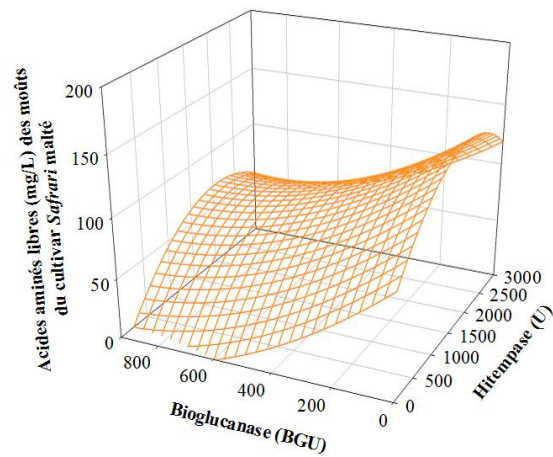
Annexe 7 : Impact des interactions sur les sucres réducteurs des moûts de *Safrari* (A : Interaction X_1X_2 ; B : Interaction X_1X_3 ; C : Interaction X_2X_3).



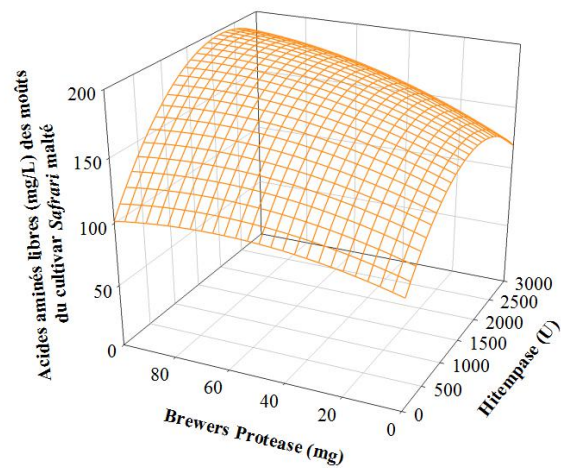
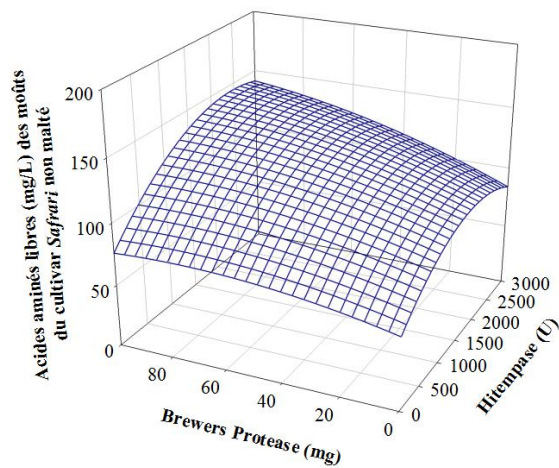
Annexe 8 : Impact des interactions sur les acides aminés libres des moûts de *Safrari* (A : Interaction X_1X_2 ; B : Interaction X_1X_3 ; C : Interaction X_2X_3).



A



B



C

