

Université de Ngaoundéré

Ecole Nationale Supérieure des
Sciences Agro-Industrielles

Département de Génie des Procédés et
d'Ingénierie



The University of Ngaoundéré

National Advanced School of Agro-
Process Industries

Department of Process Engineering

ÉTUDE DE L'EFFET DE QUELQUES HYDROLASES SUR LA FILTRABILITÉ DES MOÛTS A BASE DE SORGHO (*Madjeru, Safrari, S.35*) NON MALTÉES

Mémoire soutenu au Département de Génie des Procédés et d'Ingénierie, Ecole Nationale Supérieure des
Sciences Agro-Industrielles de l'Université de Ngaoundéré.

En vue de l'obtention du

Diplôme d'Etudes Approfondies (**DEA**) en Génie des Procédés

Par

DESOBGO ZANGUE Steve Carly

(M^{le} 98A005EN)

Ingénieur des Industries Agricoles et Alimentaires

Sous la direction de

Dr NSO Emmanuel

(Docteur ès sciences. Chargé des cours)

Sous la supervision de

Pr. TENIN

Ph.D Maître de conférences
ENSAI/Université de Ngaoundéré

2001/2002

DEDICACE

Je dédie ce travail à ma bien aimée Christelle TASSIAMBA, source de mon inspiration

REMERCIEMENTS

Le travail qui a été réalisé s'est fait avec la participation de plusieurs personnes dans de nombreux domaines d'activité. Suite à ces faits je tiens personnellement à les remercier.

Ainsi, de façon individuelle je remercie :

- *Mr. SOBGO Gabriel (mon père) pour son soutien financier, psychologique et matériel.*
- *Mme SOBGO Emilienne (ma mère) pour son soutien psychologique.*
- *Pr. TANJI (mon superviseur) pour son apport critique et ses conseils sur le plan scientifique.*
- *Dr. NSO Emmanuel (mon encadreur) pour son soutien sur le plan scientifique et sur le plan humain.*
- *Pr. KAYEM pour m'avoir fait passer un entretien afin de m'accepter en formation doctorale.*
- *A tous mes enseignants pour les enseignements qui ont fait de moi un chercheur en herbe.*
- *A tous mes compères de la formation doctorale, pour l'ambiance bon enfant et les conseils.*
- *A l'ENSAJ de Ngaoundéré pour le cadre d'études et de recherche qui m'ont été offerts.*
- *A mon frère aîné et tous mes autres frères pour l'équilibre psychologique qu'ils m'apportent.*

RESUME

Les difficultés liées à la filtrabilité des moûts des variétés de sorgho (Madjeru, Safrari, S.35) ont été examinées. Les enzymes (α Amylase, Filtrase, Protéase et β Amylase) ont été utilisées pour résoudre ces problèmes de filtrabilité. Les trois variétés de sorgho ont fait l'objet d'une investigation sur le plan conservation, filtration, indice de couleur du moût, modélisation mathématique du processus de filtration, optimisation du volume de filtrat. Il ressort des données que, les variétés Madjeru Safrari et S.35 ont une teneur en eau de 8,85%, 7,53% et 7,69% respectivement. La capacité germinative quant à elle est 97%, 95,33% et 96,66% respectivement. La méthode de brassage par décantation utilisant la matrice d'expérience de Doehlert pour la combinaison enzymatique conduit à des résultats de 64,6% (Madjeru); 65,4% (Safrari) et 62,3% (S.35) ; ceci après une filtration pendant 1h sous pression atmosphérique et avec 130 ml de maische à filtrer. L'indice de couleur du moût pour toutes les variétés et toutes les combinaisons enzymatiques est compris dans la plage allant de 0,6 à 8 EBC. Les modèles obtenus pour toutes les variétés sont du second degré avec interaction ceci par la méthode des surfaces de réponse. Le modèle de Madjeru se présente comme le plus fiable ($R = 0,994$), puis vient celui de Safrari ($R = 0,987$) et celui de S.35 ($R = 0,976$). Les combinaisons enzymatiques (α Amylase, Filtrase, Protéase et β Amylase) théoriques (obtenus à l'aide du logiciel Mathsoft Apps) induisant les volumes optimaux pour chaque variété sont les suivants : Madjeru (15,06 mg; 0,51 mg; 24,32 mg; 53,8 U). S.35 (19,01 mg; 6,36 mg; 58,76 mg; 43,48 U). Safrari (25 mg; 5,68 mg; 100 mg; 67,4 U). Les volumes optimaux obtenus à partir de ces combinaisons sont : 85 ml (Madjeru), 90 ml (Safrari) et 81 ml (S.35).

ABSTRACT

The difficulties linked to the filterability of the sorghum wort varieties (Madjeru, Safrari, S.35) have been examined. Enzymes (α Amylase, Filtrase, Protease and β Amylase) have been used to solve these problems of filterability. The three varieties of sorghum were investigated for following; conservation, filtration, indication of color index, mathematical modelling of the filtration process and optimization of the filtrate volume. It is evident from the information that, the varieties Madjeru Safrari and S.35 have a moisture content of 8.85%, 7.53% and 7.69% respectively. The germinative capacity is respectively 97%, 95.33% and 96.66%. The method of brewing by decanting using the Doehlert experimental design matrix for the enzymatic combinations gave the results of 64.6% (Madjeru), 65.4% (Safrari) and 62.3% (S.35); after filtration for 1h at air pressure. The initial volume of the mash to filter was 130 ml. The indication of color index for all varieties and of all enzymatic combinations are consisted in the beach going from 0.6 to 8 EBC. The models gotten by the surface response method for all varieties are second-degree polynomials with interactions. The model of Madjeru seems to be the most reliable ($R = 0.994$), comes that of Safrari ($R = 0.987$) and lastly S.35 ($R = 0.976$). The theoretical enzymatic combinations, (α Amylase, Filtrase, Protease and β Amylase) gotten with the help of the software Mathsoft Apps, give the optimal volumes for every variety as: Madjeru (15.06 mg, 0.51 mg, 24.32 mg, 53.8 U). S.35 (19.01 mg, 6.36 mg, 58.76 mg, 43.48 U). Safrari (25. mg, 5.68 mg, 100 mg, 67.4 U). The optimal volumes gotten from these combinations are 85 ml (Madjeru), 90 ml (Safrari) and 81 ml (S.35).

TABLE DE MATIERES

DEDICACE	i
REMERCIEMENTS	ii
RESUME	III
ABSTRACT	IV
LISTE DES TABLEAUX	VIII
LISTE DES FIGURES	IX
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I. REVUE DE LA LITTERATURE	4
I-1) LE SORGHO	5
I-1-1) DEFINITION, ORIGINE ET STRUCTURE DU SORGHO.	5
I-1-2) ECOLOGIE	5
I-1-3) COMPOSITION CHIMIQUE	6
I-2) LE MALTAGE	7
I-2-1) GENERALITES	7
I-2-2) LE MALTAGE DU SORGHO	7
I-2-3) LES ENZYMES HYDROLYTIQUES DE LA PAROI CELLULAIRE.	8
I-2-3-1) Les hémi cellulases.	9
PAROI CELLULAIRE DE L'ALBUMEN	9
Pentosane	9
β -Glucane-Protéine	9
β -Glucane	9
β -Oligosaccharide	9
Glucose	9
Arabinose	9
Xylose	9
Pentosane	9
Oligosaccharide	9
Arabinoxylanase	9
Xylobiase	9
Pentosanase	9
Endo-xylanase	9
Exo-xylanase	9
Exo-β-Glucanases	9
Endo-β-Glucanases	9
β-Glucane solubilase	9
I-2-4) LES ENZYMES PROTEOLYTIQUES	12

I-2-4-1) Les protéases endogènes	12
I-3) LES ENZYMES BRASSICOLES ET LE BRASSAGE	12
I-3-1) LES ENZYMES AMYLOLYTIQUES	13
Dextrinase- limite	14
I-3-1-1) Phosphorylase	15
I-3-1-2) α Glucosidase	15
I-3-1-3) β -amylase	15
I-3-1-4) L' α amylase	16
I-3-1-5) Enzyme débranchant (Dextrinase limite)	17
I-3-1-6) Pullulanase	17
I-3-2) LES PROTEASES EXOGENES	19
I-3-3) LE BRASSAGE	19
I-3-3-1) La gélatinisation et solubilisation de l'amidon	20
I-4) FILTRATION DU MOÛT.	21
I-5) APPROCHE METHODOLOGIQUE DES SURFACES DE REPONSE	22
I-5-1) TERMINOLOGIE	22
I-5-1-1) Facteurs	22
I-5-1-2) Réponses	22
I-5-1-3) Expériences	23
I-5-1-4) Matrice d'expériences	23
I-5-1-5) Domaine expérimental	23
I-5-1-6) Plan d'expérimentation	23
I-5-2) DEMARCHE METHODOLOGIQUE (MATHIEU ET PHAN-TAN-LUU, 1995).	24
I-5-2-1) Correspondance entre les variables codées et les variables réelles	24
I-5-2-2) Proposition et validation d'un modèle	24
CHAPITRE II. MATERIEL ET METHODES	25
II-1) MATERIEL	26
II-1-1) Variétés de sorgho	26
II-1-2) Les enzymes	26
II-2-1) Schéma de travail	27
Sorgho	27
Eau (150 ml)	27
Enzymes	27
moût	27
Gâteau de filtration	27

Système colloïdal	27
Surnageant (50 ml)	27
Gel d'amidon	27
Gel d'amidon	27
Maische	27
II-2-2) Protocoles expérimentaux	28
II-2-2-1) Détermination de la teneur en eau.	28
II-2-2-2) Détermination de la capacité germinative	28
II-2-2-3) Technique de brassage	28
II-2-2-4) Mesure du volume de filtration	29
II-2-2-5) Profil de filtration.	29
II-2-2-6) Mesure de la turbidité et du pH du moût.	29
II-2-3) Elaboration du modèle mathématique (Mathieu et Phan-Tan-Luu, 1995).	29
II-2-3-1) Le plan d'expérimentation	30
II-2-3-2) Analyse de la variance	32
II-2-3-3) Validation	33
II-2-3-4) Optimisation des modèles.	33
CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSION	34
III-1) TENEUR EN EAU ET CAPACITE GERMINATIVE	35
III-2) PROFIL DE FILTRATION.	35
III-3) L'INDICE DE COULEUR ET PH	39
III-4) LES MODELES MATHEMATIQUES.	39
III-4-1) Réponses expérimentales	39
III-4-2) Modèle mathématique de chaque variété de sorgho	40
III-4-3) Analyse de la variance	42
III-4-4) Compréhension et explicitation des modèles	43
III-4-5) Optimisation du modèle mathématique de chaque variété de sorgho	47
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	56
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	59

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Composition chimique de l'orge et du sorgho.	6
Tableau 2 : Composition minérale et vitaminique de l'orge et du sorgho.	7
Tableau 3 : Composition de l'orge et du sorgho (Madjeru, Safrari, S.35).	7
Tableau 4 : température optimum et d'inactivation des β -glucanases endogènes du malt.	11
Tableau 5 : propriétés de quelques enzymes protéolytiques endogènes du malt.	13
Tableau 6 : propriétés de quelques enzymes amylolytiques.	14
Tableau 7 : Le résumé des actions et localisation de certaines enzymes amylolytiques.	19
Tableau 8 : Comparaison entre les amylases α et β .	20
Tableau 9 : Températures de gélatinisation de certaines céréales.	21
Tableau 10 : Analyse de la variance	37
Tableau 11 : Teneur en eau et capacité germinative des grains de sorgho.	40
Tableau 12 : Volume de filtrat obtenu pour chaque variété en absence d'enzymes	41
Tableau 13 : Volume de filtration en fonction de la concentration enzymatique (pour chaque variété de sorgho)	45
Tableau 14 : Récapitulatif des volumes expérimentaux et théoriques.	47
Tableau 15 : Analyse de variance pour la variété Madjeru	48
Tableau 16 : Analyse de variance pour la variété Safrari	48
Tableau 17 : Analyse de variance pour la variété S.35	48
Tableau 18 : Volumes obtenus en fonction des combinaisons enzymatiques non testées dans la matrice d'expériences.	57
Tableau 19 : Volumes théoriques calculés à partir des modèles mathématiques	58
Tableau 20 : Ecart entre les volumes réels et les volumes issus des modèles.	58

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Schéma de la dégradation enzymatique des parois cellulaires de l'albumen	10
Figure 2 : structure primaire de la membrane cellulaire végétale (Robinson, 1977)	12
Figure 3 : illustration de l'effet des enzymes sur les parois cellulaires	12
Figure 4 : Hydrolyse de l'amidon par les amylases	15
Figure 5 : Schéma de la dégradation enzymatique de l'amidon (Larreta-Garde, 1997)	15
Graphe 1 : Effet des enzymes sur la filtrabilité des moûts de sorgho non malté [α -Amylase (18.75 mg), Filtrase (0 mg), Protéase (50 mg), β -Amylase (40U)]	42
Graphe 2 : Effet des enzymes sur la filtrabilité des moûts de sorgho non malté [α -Amylase (18.75 mg), Filtrase (6.66 mg), Protéase (62.5 mg), β -Amylase (80U)]	42
Graphe 3 : Effet des enzymes sur la filtrabilité des moûts de sorgho non malté [α -Amylase (25 mg), Filtrase (5 mg), Protéase (50 mg), β -Amylase (40U)]	43
Graphe 4 : Evolution des courbes donnant les volumes maximaux de filtrat pour chaque variété de sorgho.(Madjeru [α -Amylase (18.75 mg), Filtrase (0 mg), Protéase (50 mg), β -Amylase (40U)] ; Safrari [α -Amylase (25 mg), Filtrase (5 mg), Protéase (50 mg), β -Amylase (40U)] ; S.35 [α -Amylase (18.75 mg), Filtrase (6.66 mg), Protéase (62.5 mg), β -Amylase (80U)]).	43
Graphe 5 : Contribution des éléments du modèle sur le comportement global (Madjeru)	51
Graphe 6 : Contribution des éléments du modèle sur le comportement global (Safrari)	51
Graphe 7 : Contribution des éléments du modèle sur le comportement global (S.35)	51
Graphe 8a : Courbe du modèle mathématique de la filtration de Madjeru non malté. Protéase et β -amylase constantes respectivement 24.32mg et 53.80U	54
Graphe 8b :Surfaces de réponses de la filtration de Madjeru non malté Protéase et β -amylase constantes respectivement 24.32mg et 53.80U	54
Graphe 9a : Courbe du modèle mathématique de la filtration de Safrari non malté. Protéase et β -amylase constantes respectivement 100 mg et 67.4 U	55
Graphe 9b : Surfaces de réponses de la filtration de Safrari non malté Protéase et β -amylase constantes respectivement 100 mg et 67.4 U	55
Graphe 10a : Courbe du modèle mathématique de la filtration de S.35 non malté. Filtrase et β -amylase constantes respectivement 6.36 mg et 43.48 U	56
Graphe 10b : Surfaces de réponses de la filtration de S.35 non malté. Filtrase et β -amylase constantes respectivement 6.36 mg et 43.48 U	56
Graphe 11 : Validation du modèle mathématique de la variété Madjeru (R = 0.994)	59

Grphe 12 : Validation du modèle mathématique de la variété Safrari ($R = 0.987$)	59
Grphe 13 : Validation du modèle mathématique de la variété S.35 ($R = 0.976$)	60

INTRODUCTION

L'industrie brassicole est sans aucun doute l'une des industries agroalimentaires les plus développées au Cameroun. Les estimations de ces dernières décennies montrent que plus de 470 millions des litres de bière sont consommées par an au Cameroun (Palmer, 1989), soit 47 litres de bière par tête d'habitant. Ceci place ce pays parmi les douze premiers producteurs/consommateurs de cette boisson dans le monde et parmi les trois premiers dans le continent africain. En terme de quantité absolue en production, il n'y a que la République Sud-africaine et le Nigeria qui devancent le Cameroun. L'industrie brassicole camerounaise est une grande consommatrice d'orge malté, de houblon et de grains crus. On note ainsi des importations minimums d'orge de l'ordre de 32.000 tonnes par an. En termes de consommation de maïs, plus de 80% de la demande des brasseries est importées soit plus de 11.000 tonnes par an. Depuis la dévaluation du franc CFA, des sommes énormes sont dépensées pour l'importation de l'orge maltés et des grains crus à base de maïs. C'est ainsi qu'on note respectivement des fuites en devises de l'ordre de 11,2 milliards et 3,8 milliards de F CFA (Nso, 2002).

Dans la région septentrionale du Cameroun, le sorgho sert principalement à la consommation humaine sous forme de couscous. Une autre quantité sert à la fabrication du "*Bili Bili*", une bière locale obtenue par la fermentation d'un extrait aqueux du sorgho malté. L'utilisation de cette céréale comme matière première de base pour les industries brassicoles reste encore mal connue. Pourtant on note des travaux allant dans le sens de produire de la bière de sorgho (Ogundiwin et Ilori, 1991 ; Agu *et coll.*, 1995 ; Aniche et Anih, 1994). Les importations de malt d'orge étant devenues assez coûteuses, on assiste sans cesse au Cameroun à des hausses de prix des bières. L'impact immédiat étant un retour vers les bières traditionnelles. Paradoxalement, le sorgho est une céréale qui après maltage présente une potentialité brassicole. Dès lors, il se positionne comme un potentiel substitut de l'orge malté (Aisien, 1988 ; Ilori *et col.*, 1991 ; Demuyakor *et col.*, 1994). Les quantités importantes de sorgho produites au Cameroun (450 000 t pour l'année 2002 FAO) encouragent réellement à s'intéresser à la substitution possible de l'orge dont l'intérêt serait une valorisation des céréales locales par les brasseries africaines en générales, et camerounaises en particulier.

Au Cameroun, il existe plusieurs variétés de sorgho mais les variétés les plus cultivées et les plus utilisées dans la consommation humaine sont *Madjeru*, *Safrari* et *S.35*. Pour ces raisons et, celles liées à la disponibilité de ces céréales, elles constituent l'objet de cette étude. Toutefois, l'introduction de ces variétés en brasserie ne va pas sans poser des problèmes au cours de la

fabrication de la bière (la filtration entre autre). Ces problèmes sont dus au fait que l'amidon du sorgho se gélatinise à une plage de températures supérieure à celle de l'orge. En effet les travaux concernant les variétés de sorgho (Madjeru, Safrari, S.35) maltées et ses applications en brasserie, montrent qu'en dehors des variétés S.35 et Safrari pour lesquelles les maisches présentent une filtrabilité satisfaisante, les maisches de la variété Madjeru se remarquent par ses difficultés de filtration. Pourtant cette dernière variété présenterait une source intéressante en amidon (donc extrait) et moins de polyphénols (Nso *et col*, 2003).

Dans ce travail, l'objectif principal réside dans le souci d'apporter une contribution à la valorisation des variétés de sorgho camerounais dans le domaine brassicole, en passant par l'amélioration de la filtrabilité des maisches des trois variétés ci dessus par action combinée de plusieurs enzymes brassicoles.

CHAPITRE I. REVUE DE LA LITTÉRATURE

I-1) LE SORGHO

I-1-1) Définition, origine et structure du sorgho.

Le Sorgho est une plante monocotylédone qui appartient à la tribu Andropogoneae, sous tribu Sorghastrae et famille des gramineae. Il a une diffusion large à travers les régions chaudes du monde (Purseglove, 1985),

Le sorgho est une plante de taille comprise entre 0,5 et 6,0 m, souvent annuel et avec une seule tige. Une seule racine est produite par la semence, suivie par des racines secondaires fibreuses. Un grand nombre de racines latérales occupent entièrement le sol, surtout de 1 m de profondeur et 1,5 m de largeur. La tige, de diamètre à la base comprise entre 0,5 et 3 cm, est solide, habituellement érigée. Elle pousse verticalement et porte un certain nombre de renflements appelés nœuds. La taille dépend du nombre de jonctions, chacune ayant une feuille et, de la distance entre deux jonctions. Le nombre de feuilles varie entre 7 et 24. Erigées au départ, elles sont incurvées plus tard. Les feuilles sont alternées et, la longueur de ces feuilles est comprise entre 15 et 35 cm, tandis que, la largeur est comprise entre 1,5 et 13 cm (Purseglove, 1985). Elles comprennent deux parties : la gaine et le limbe. Le limbe étalé, très long, retombe vers le sol à son extrémité. La gaine est enveloppée dans deux téguments (sorte de membrane végétale). La variété Safrari présente des grains de couleur jaune, la variété Madjeru a des grains de couleur blanche et quant au S.35, les grains sont aplatis et de couleur crème. Il s'agit là des variétés les plus cultivées et consommées au Cameroun.

I-1-2) Ecologie

Le sorgho est adapté à différentes conditions écologiques et produit un rendement intéressant en grains sous des conditions considérées comme défavorables pour les autres céréales. Il est essentiellement planté dans des régions chaudes et peut également se développer dans les régions de forte pluviosité. Il peut être cultivé entre le quarantième degré Nord et Sud de l'équateur (Purseglove, 1985).

Le mérite écologique du sorgho est qu'il est doté d'une grande résistance par rapport au maïs. Cette résistance est due aux propriétés physiologiques et morphologiques suivantes (Purseglove, 1985) :

- La plante grandit lentement jusqu'à ce que son système racinaire devienne bien élaboré
- Le sorgho produit deux fois plus de racines secondaires que le maïs.
- La surface foliaire du sorgho est la moitié de celle du maïs.
- L'évapotranspiration du sorgho est environ la moitié de celle du maïs.

- Le sorgho a besoin de 20% d'eau en dessous de celle dont le maïs a besoin, ceci pour un même rendement de production.

Le sorgho peut tolérer une grande variété de sols, il peut se développer sur des sols dont le pH varie de 5 à 8,5 et tolère mieux la salinité que le maïs.

I-1-3) Composition chimique

Le sorgho malté est, sur le plan traditionnel, une matière première pour l'alimentation humaine ainsi que pour la production de plusieurs variété de bières comme : 'pito' et 'Otika' (Nigeria) (Aisien, 1988 ;), 'Bussa' (Kenya) (Novellie, 1977), 'Amba' (Cameroun) (Glennie et *col.*, 1983) et 'Kaffir' (Afrique du Sud) (Morrall et *col.*, 1986).

Comme toute céréale, le sorgho contient des quantités variées de glucides, lipides, minéraux et vitamines.

Une appréciation du caractère brassicole du sorgho en comparaison avec l'orge, peut être inspirée des tableaux 1a et 1b.

Tableau 1a : Composition Chimique De L'orge Et Du Sorgho.

NOMS DES ALIMENTS	Valeur calorique	EAU En %	PRINCIPES			
			ENERGETIQUES en g/100g			CELLULOSE En g/100g
			Protides	Lipides	Glucides	
Sorgho	339	12,4	10,6	3,4	66,5	5,2
Orge	330	13	11	2	67	5,5

Source: Randoïn et col.,1982

Tableau 1b : Composition Minérale Et Vitaminique De L'orge Et Du Sorgho.

NOMS DES ALIMENTS	ELEMENTS MINERAUX				VITAMINES				
	En mg/100g				En mg/100g				
	P	Ca	Fe	Mn	Thiamine (B1)	Riboflavine (B2)	Vit. (PP)	Acide pantothénique	Caroténoïdes actifs
Sorgho	300	39	4,20	1	0,4	0,16	4	1,20	0,13
Orge	350	60	4	1,6	0,50	0,18	5,5	0,8	0,05

Source: Randoïn et col.,1982

I-2) LE MALTAGE

I-2-1) Généralités

Le procédé de maltage des céréales consiste en trois étapes principales :

- Le trempage.
- La germination.
- Le séchage (touraillage).

Pour que le maltage soit bien mené, il faudrait en plus :

- Une dégradation enzymatique (par les protéases et les β -glucanases) suffisante de l'endosperme pour libérer les granules d'amidon et, les rendre plus accessibles à l'attaque ultérieure pendant le brassage, par les enzymes amylolytiques synthétisées lors de la germination.

Le malteur ne s'intéresse pas à la germination de la céréale jusqu'à l'obtention d'une nouvelle plante comme le fait le cultivateur. Quand la dégradation de l'endosperme s'est effectuée jusqu'à une certaine limite (moment estimé d'avoir obtenu une synthèse enzymatique optimale), le malteur arrête la germination en séchant le grain par une opération appelée touraillage. La céréale maltée qui en résulte est riche en amidon disponible, en protéines dégradées, en vitamines et en enzymes.

I-2-2) Le maltage du sorgho

Le sorgho est une céréale qui contient une teneur importante d'amidon (74,3% pour Safrari, 80,2% pour Madjeru et 73,1% pour S.35) et, peut être utilisé comme céréale de base pour la

fabrication de la bière. Pour ce faire, le sorgho passe par un processus de maltage qui, permettra la synthèse des enzymes dans la céréale (Nso *et col.*, 2003).

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, 1976).

De même, pour le cas du sorgho, il a été reporté que les températures de germination conduisant à une activité diastasique optimale sont : 4-5 jours à 30°C, 6 jours à 28°C et 7 jours à 25°C (Briggs, 1998). En effet, pour une température de germination étudiée entre 24 et 30°C, la température de 24°C est celle là 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 et 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 obtenu pendant une germination à 30°C (Agu et 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 devient l'effet de la température (c'est à dire une augmentation progressive de celle-ci). Ainsi, des études faites pour le sorgho à des températures de 35, 40 et 45°C de touraillage, il a été reporté une réduction de 7,7 ; 8,7 et 12,4% concernant l'activité diastasique et également, une réduction de 4,1 ; 7,3 et 12,6% concernant l'activité cellulasique (Agu *et col.*, 1995).

I-2-3) Les enzymes hydrolytiques de la paroi cellulaire.

La réussite de la fabrication de la bière demande que le malt à utiliser soit bien modifié pendant la germination. Le rôle que joue les enzymes dans cette réussite est incontournable. Ainsi, les carbohydrases cellulosiques (hémi cellulases) et les protéases seront indispensables pour l'hydrolyse de la paroi cellulosique et des protéines respectivement, en glucose et en acides aminés et peptides, le tout assimilable par la levure qui en aura besoin pour sa croissance et son développement

I-2-3-1) Les héli cellulases.

Les héli cellulases sont des enzymes qui hydrolysent les polysaccharides non amidoniques. Elles solubilisent par conséquent les polysaccharides de nature cellulosique, ainsi que des gommés.

La paroi cellulaire de l'orge est principalement composée de β -glucanes de hauts poids moléculaires. Les β -glucanes renferment environ 30% des liaisons de type $\beta(1,3)$ et 70% de types $\beta(1,4)$ (Saulnier et *col.*, 1994). Au niveau des parois cellulaires, les β -glucanes sont liés à des protéines par des liaisons covalentes, formant des complexes donnant une matrice relativement rigide (Duffus et Cochrane, 1992). La figure 1 présente l'hydrolyse des parois cellulaires par les enzymes (Palmer et Bathgate, 1976).

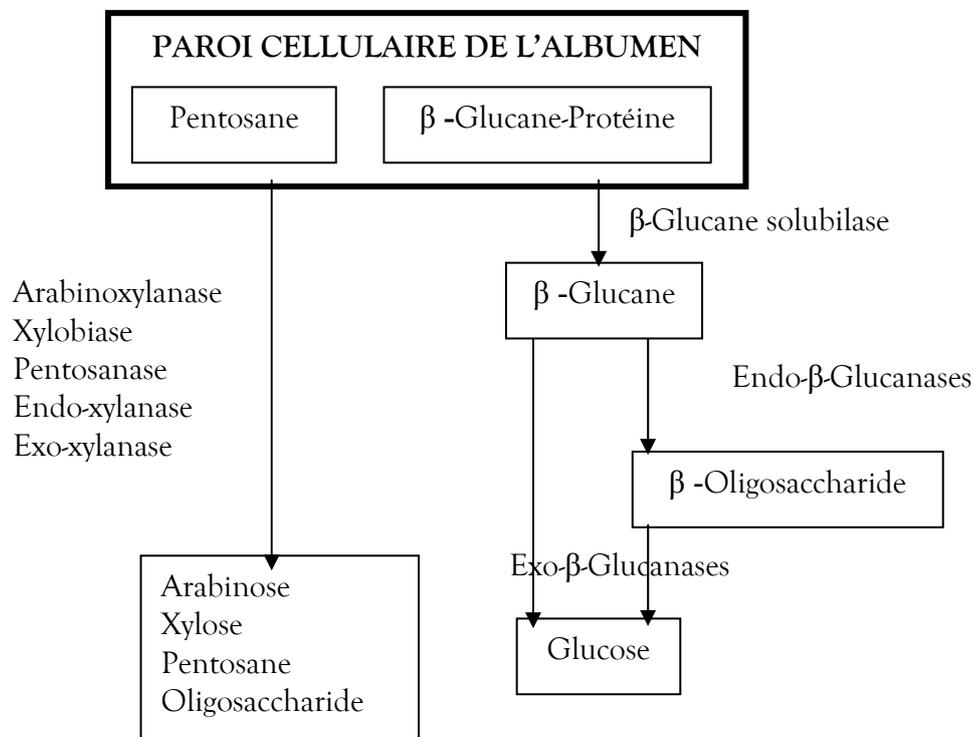


Figure 1 : Schéma De L'hydrolyse Enzymatique Des Parois Cellulaires.

La première enzyme impliquée dans la solubilisation des parois cellulaires est la solubilase. Cette enzyme qui joue le rôle de carboxypeptidase, permet le clivage de la liaison protéine- β -glucane, conduisant à la solubilisation des β -glucanes (Bamforth et Martin, 1983). La solubilase est déjà dans l'orge et, est synthétisée au cours du maltage.

Les β -glucanes vont à leur tour être hydrolysées par deux endo- β -glucanases ; β -1,3-Glucanase et β -1,3-1,4-Glucanase. Ces enzymes sont principalement synthétisés au cours de la

germination et vont intervenir dans la dégradation des parois cellulaires de l'albumen (Bourne et Pierce, 1970). Leurs températures d'action sont consignées dans le tableau 2.

Tableau 2 : Plage De Température Optimum Et D'inactivation Des B-Glucanases Endogènes Du Malt.

β-glucanases du malt	Température (°C)	
	optimum	inactivation
β -Glucane solubilase	62	73
Endo- β -1,3-1,4-Glucanases	40-45	55
Endo- β -1,3-Glucanases	60	70
Endo- β -1,4-Glucanases	40-45	55

Plusieurs autres enzymes existent et, dont les rôles sont aussi importants. On peut ainsi citer :

- L'arabinosidase qui catalyse la séparation hydrolytique de l' α -L-arabinofuranose à partir des chaînes d'arabinoxylane. Quand suffisamment de substituants sont enlevés, la chaîne de xylane est hydrolysée par les endoxylanases en xylane, arabinoxylane.
- La β -Xylopyranosidase (xylobiase) catalyse l'hydrolyse du xylobiose en xylose.
- La laminarinase qui est une endo- β -glucanase, attaque la lamarine ($\beta(1,3)$ -poly- α -D-glucane). Cette enzyme a un effet peu important dans l'hydrolyse de la $\beta(1,3 ; 1,4)$ glucane. Elle attaque uniquement les liaisons $\beta(1,3)$.
- Deux β glucosidases (cellobiase, laminaribiase) sont capables d'hydrolyser la cellobiose et la laminaribiose

Il faudrait signaler qu'il s'agit d'enzymes endogènes dont, d'enzymes que l'on retrouve dans une céréale qui a germé. Des illustrations faites aux figures 2 et 3 montrent dans un premier temps, la structure primaire de la membrane cellulaire végétale (figure 2) et, dans un deuxième temps (figure 3) l'effet de ces enzymes sur les parois cellulaires.

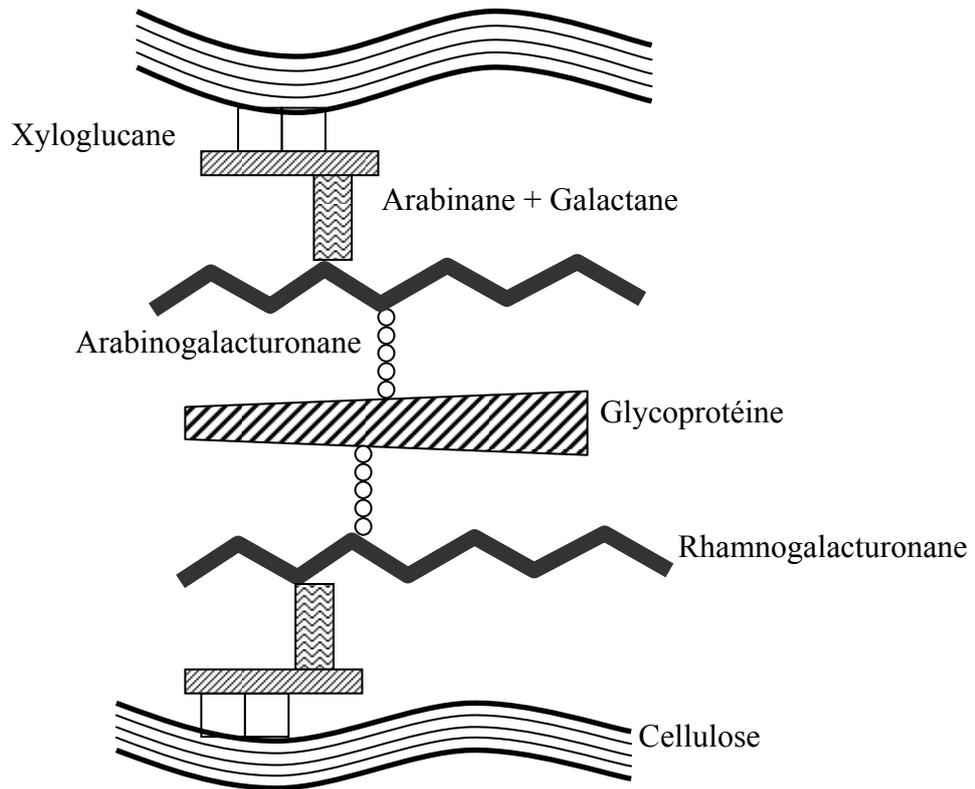


Figure 2 : Structure Primaire De La Membrane Cellulaire Vegetale (Robinson, 1977)

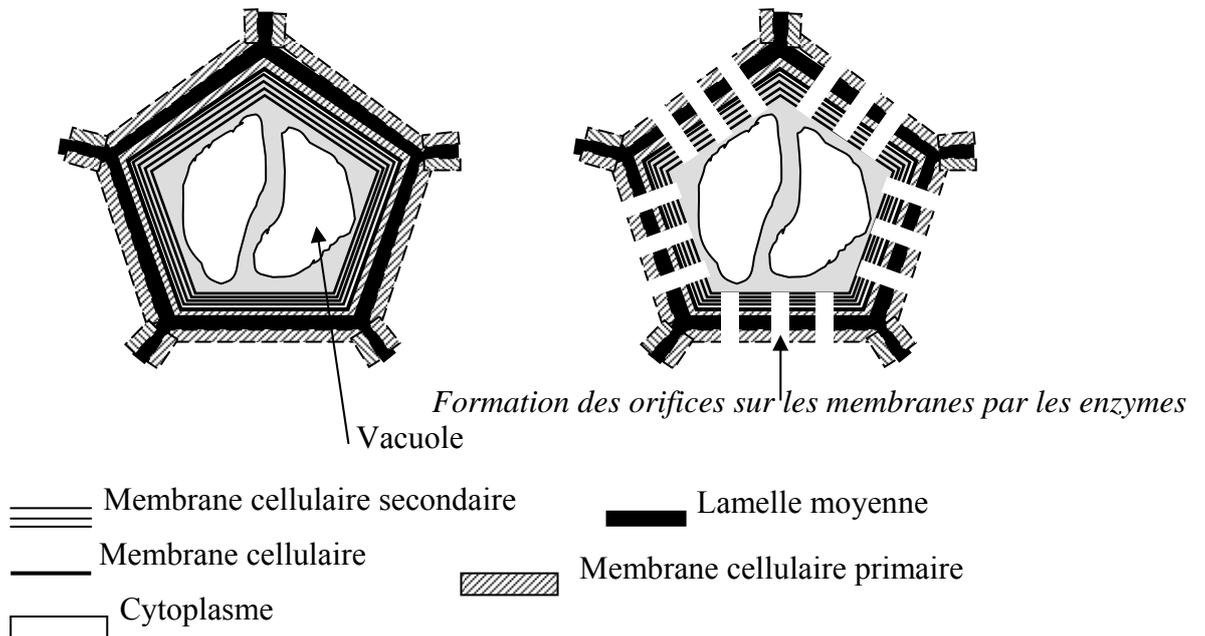


Figure 3 : Illustration De L'effet Des Enzymes Sur Les Parois Cellulaires

I-2-4) Les enzymes protéolytiques

Le travail effectué par les enzymes qui hydrolysent les protéines de l'endosperme, va permettre aux autres enzymes l'accès à l'endosperme. Les enzymes protéolytiques vont agir sur la matrice protéique de l'endosperme, libérant ainsi les granules d'amidon pour les enzymes amylolytiques. Le résultat de cette dégradation de la matrice protéique va conduire à la présence des acides aminés, des peptides et des protéines solubles qui entre autre, ont une action sur la mousse et le trouble colloïdal de la bière. Différentes enzymes protéolytiques sont présentes dans l'orge et synthétisées au cours de la germination (Boivin et Martel, 1991). Ces enzymes présentent les propriétés reprises dans le tableau 3.

Tableau 3 : Propriétés de quelques enzymes protéolytiques endogènes du malt.

Enzymes	pH optimum	Température (°C)	
		optimum	inactivation
Aminopeptidases	7,2	40-45	55
Carboxypeptidase	5,2-5,6	50	70
Dipeptidases	8,8	40-45	55

Source : Boivin et Martel, 1991

I-2-4-1) Les protéases endogènes

Les substances azotées du malt se dissolvent davantage au maltage qu'au brassage, contrairement à l'amidon (BIOS, 1984). Environ 30% des matières azotées du moût sont dégradées au brassage. Ceci provient de la faible activité des enzymes protéolytiques en brasserie. Les aminopeptidases sont inactivées par un séjour de 30 min à 55°C au brassage (BIOS, 1984), leur pH optimum étant de 7,2 ; leur action sera limitée au brassage. Les dipeptidases ont une activité optimale à pH 8,8 ; par conséquent elles ne peuvent plus agir durant le brassage.

Les carboxypeptidases qui sont moins sensibles à la chaleur que les dipeptidases et aminopeptidases, dont le pH optimum est situé entre 5,2 et 5,6 sont les plus importantes et les plus actives au cours de la macération.

I-3) LES ENZYMES BRASSICOLES ET LE BRASSAGE

La fabrication de la bière implique une utilisation de malt, de houblon, de levures, d'eau et de la dextérité du malteur et du brasseur. D'autres auxiliaires sont cependant utilisés comme les enzymes exogènes. Les enzymes pour leur part, vont agir au niveau du brassage qui, est une étape

cruciale pour la fabrication de la bière. Il est question pour ces enzymes de réaliser la liquéfaction de l'amidon.

I-3-1) Les enzymes amylolytiques

Les granules d'amidon ne peuvent être accessibles aux enzymes amylolytiques que si les cellules de l'endosperme sont dégradées. La solubilisation des polysaccharides sera facilitée par l'hydrolyse des protéines, des aminoplastes résiduels et de l'hydrolyse interne des lysophospholipides. L'hydrolyse de l'amidon est également facilitée par la libération des granules effectuée par la mouture et la gélatinisation. Il est nécessaire de rappeler que les chaînes d'amidons (amylose et amylopectine) sont rassemblées dans des granules d'amidon. L'action des amylases sur ces granules intacte est très lente. L'empesage permet de faire éclater ces granules sous l'effet de la chaleur, favorisant ainsi l'action des amylases.

L'ensemble des enzymes de la céréale qui solubilisent partiellement ou totalement l'amidon est appelé : diastase. Ces enzymes ne sont pas constantes en composition. La diastase du grain non germé est différente de celle du grain germé et également du grain germé et touraillé. Les principales enzymes produites au cours de la germination et intervenant dans l'hydrolyse de l'amidon, sont les α et β amylases (Palmer, 1989).

Les enzymes synthétisées au cours du maltage et qui agissent principalement sont :

- la Phosphorylase
- l' α Glucosidase
- la β -Amylase
- l' α Amylase
- l'enzyme débranchante (Dextrinase limite)

Les températures optimales et d'inactivation, ainsi que les pH optimum des enzymes amylolytiques sont représentés dans le tableau 4:

Tableau 4 : Propriétés de quelques enzymes amylolytiques.

Enzyme	pH optimum	Température (°C)	
		optimum	inactivation
α amylase	5,3	70-75	75
β amylase	5,0-5,3	60-65	65
Dextrinase-limite	5,0-5,5	55-60	70
Phosphorylase			
α glucosidase	4,6	35-40	50
Pullulanase	4,0-8,0	50	>50

Sources : Larreta-Garde, 1997 ; Briggs, 1998 et Helmut U., 1998

Les figures 4 et 5 présentent l'hydrolyse de l'amidon par les enzymes amylolytiques

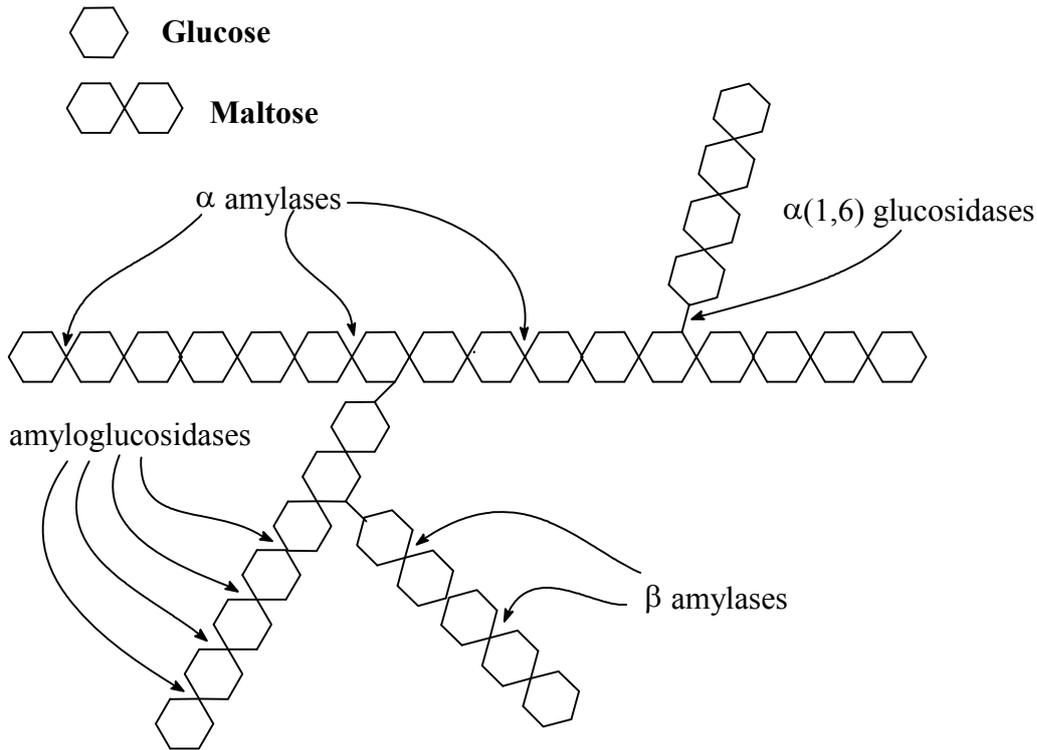


Figure 4 : Hydrolyse de l'amidon par les amylases

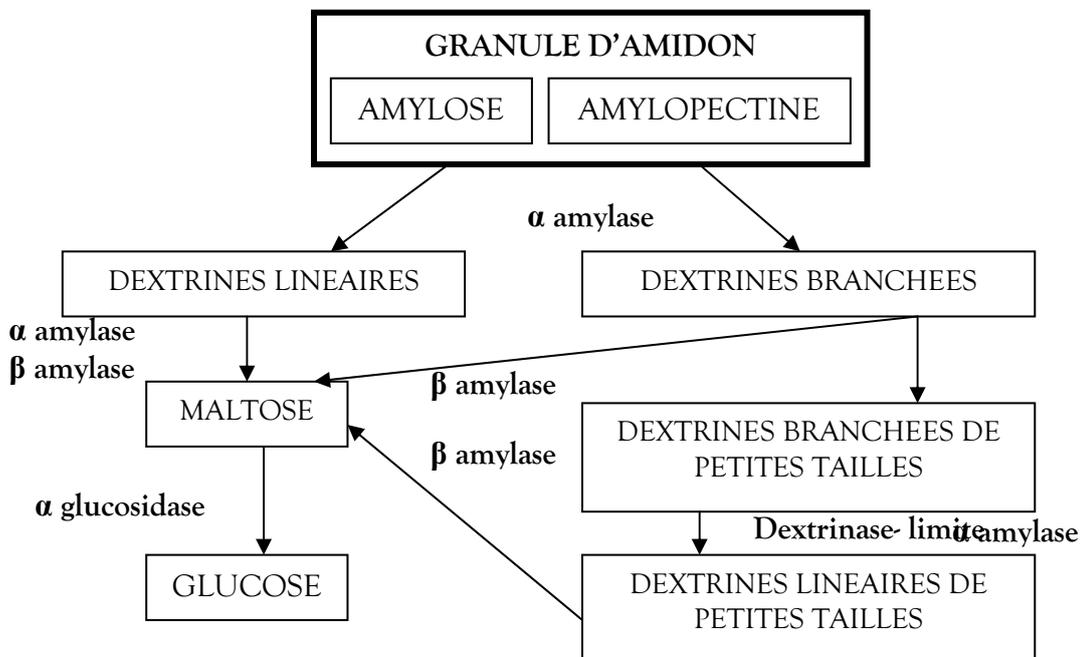


Figure 5 : Schema De L'hydrolyse Enzymatique De L'amidon (Larreta-Garde, 1997)

I-3-1-1) Phosphorylase

La phosphorylase est une enzyme qui catalyse la lyse du phosphate de l'extrémité terminale, non réductrice du résidu glucosidique de l'amidon, libérant le glucose 1-phosphate. L'activité de l'enzyme est difficile à mesurer car, il y a interférence avec les autres enzymes présentes. On note aussi la présence de phosphatases qui hydrolyse le glucose 1-phosphate en glucose et phosphate inorganique. La phosphorylase n'est pas capable d'hydrolyser les liaisons $\alpha(1,6)$ de l'amidon ou des dextrines ; mais agissant seule, elle est capable de dégrader l'amylose et certains sites de l'amylopectine

I-3-1-2) α Glucosidase

C'est une enzyme très concentrée dans l'embryon et l'aleurone. Sa concentration augmente durant la germination. Elle a un pH optimum à 4,6 ; hydrolyse les liaisons $\alpha(1,4)$ et $\alpha(1,6)$ glucosidique de l'extrémité terminale non réductrice de la chaîne. Autrement dit, les enzymes qui sont : l' $\alpha(1,4)$ glucosidase et maltase qui hydrolysent respectivement les α glucosides et le maltose en glucose ; l' $\alpha(1,6)$ glucosidase qui hydrolyse les courtes chaînes de glucoses liés en $\alpha(1,6)$, résidus de l'action de l' α amylase (Sissons et Mac Gregor, 1994). Cette enzyme peut également hydrolyser le maltose (18) et l'iso maltose (22) et, dans chaque cas elle donne deux molécules de glucose. Elle peut également enlever le glucose de l'extrémité terminale non réductrice de l'amidon, des dextrines et même d'oligosaccharides plus petits. On pense que l'action de l' α glucosidase faciliterait le travail aux α et β amylases pour la dégradation de l'amidon (Hough, 1985 ; Briggs, 1998). Comme l' α amylase, l' α glucosidase est capable d'attaquer les granules d'amidon (Sun et Henson, 1996). Cette enzyme est instable à des températures de 40°C et plus (Briggs, 1998). La température et le pH pendant le brassage affecte la teneur en glucose et le rapport glucose sucres fermentescible. Ainsi, une diminution du pH de la maische de 5-5,5 (pH naturel de la maische) à pH 4 (pH de travail de l' α glucosidase) entraîne une augmentation de la teneur en glucose du moût de sorgho malté ; une pré-cuisson de la maische inactive l' α glucosidase et empêche ainsi l'hydrolyse du maltose en glucose (Taylor et Dewar, 1994).

I-3-1-3 β -amylase

Appelée amylase saccharogénique ou maltogénique (Briggs, 1998), on la retrouve dans les céréales maltées, la patate douce et d'autres plantes. En l'absence d'autres enzymes, elle est incapable de dégrader l'amidon (Briggs, 1998). Elle hydrolyse les résidus de chaînes d'amidon sur

les liaisons $\alpha(1,4)$ glucosidiques à partir des extrémités non réductrices, donnant ainsi le maltose et une chaîne plus courte. Cette enzyme ne peut pas attaquer les liaisons $\alpha(1,6)$ glucosidiques ou les liaisons $\alpha(1,4)$ adjacentes aux liaisons $\alpha(1,6)$. La β amylase agissant individuellement est capable d'hydrolyser totalement l'amylose en maltose, elle hydrolyse également les liaisons $\alpha(1,4)$ de l'amylopectine (Briggs, 1998).

La β amylase a un pH optimum entre 5,0 et 5,3 et elle résiste à une brève exposition à pH acide (3,0-3,5) (Briggs, 1998). La sensibilité à la chaleur de la β amylase dépend de son origine. En effet, pour une mixture d' α et β amylase chauffée à 70°C en présence de Ca^{2+} , la β amylase est inactivée (Helmut Uhlig 1998). Elle est inactivée par les métaux lourds qui sont des agents bloquant les groupements thiols et, elle est également inactivée par les polyphénols (Briggs, 1998).

La β amylase existe sous forme libre (soluble) et liée (insoluble). Quand elle est insoluble, l'enzyme est rattachée aux protéines par des ponts disulfures, elle peut ainsi être libérée ou convertie en enzyme soluble par, protéolyse due aux agents chimiques qui peuvent rompre les ponts disulfures ou par rupture des liaisons hydrophobes (Grime et Briggs, 1996). En définitive, la β -amylase se positionne comme une enzyme thermolabile, son pH d'activité permet de l'utiliser au cours du brassage.

I-3-1-4) L' α amylase

La très large distribution d' α amylase dans la nature explique l'existence d'une gamme très variée de l'enzyme commerciale. Comme la majorité d'enzymes, elle est spécifique et, hydrolyse les liaisons $\alpha(1,4)$ glucosidiques de l'amidon.

Contrairement à la β -amylase, l' α amylase est virtuellement absente dans le grain d'orge mature. On observe sa présence dans l'orge pré-germé (Briggs, 1998).

Les α amylases (ou enzymes liquéfiantes) sont des enzymes endogènes qui hydrolysent les liaisons $\alpha(1,4)$ glucosidiques des chaînes d'amylose et d'amylopectine. Elles attaquent également les dextrines (Briggs, 1998). Les α amylases n'ont aucune action sur les liaisons $\alpha(1,6)$. Elles hydrolysent les liaisons $\alpha(1,4)$ ultimes à l'extrémité non réductrice des chaînes d'amidon et libère le maltose (Larreta-Garde, 1997). On estime qu'il suffit que 0,5% des branches d'amylopectine soient brisées pour que l'amidon puisse être considéré comme solubilisé (BIOS, 1984).

L' α amylase contrairement à la β -amylase est capable d'attaquer les granules d'amidon et donner une mixture complexe de sucres (dextrines, maltose, glucose et oligosaccharides). Cette hydrolyse sera plus rapide en présence de β amylase et, elle sera encore plus rapide si on a en présence dans la mixture l' α glucosidase (Maeda et *col.*, 1979). Quand la chaîne d'amidon est rompue par l' α amylase, une nouvelle chaîne non réductrice est formée et doit être attaquée par la β

amylase ou autre exo-enzymes (α glucosidase, phosphorylase) (Briggs, 1998). Elle réduit rapidement la viscosité de l'empois d'amidon et détruit leur capacité à réagir positivement avec l'iode (Briggs, 1998).

En présence d'ions calcium et à pH 6,8 ; l' α amylase est capable de survivre seulement pendant 15 min à 70°C. Le pH optimum de cette enzyme est de 5,3 et en dessous de 4,9 l'enzyme devient instable (Briggs, 1998).

I-3-1-5) Enzyme débranchant (Dextrinase limite)

Une autre enzyme importante catalyse l'hydrolyse des liaisons $\alpha(1,6)$ de l'amylopectine, dextrines et oligosaccharide. Ainsi, cette enzyme a été identifiée comme enzyme débranchant ou dextrinase limite (Serre et Laurière, 1989). La capacité d'hydrolyser les liaisons $\alpha(1,6)$ par les dextrinases limites facilite la conversion de l'amidon par d'autres enzymes. Dans le malt, cette enzyme est sous forme soluble et insoluble dans l'eau. La forme insoluble est liée avec la cystéine. La complication majeure est due à la présence dans l'orge d'une protéine stable à la chaleur qui inhibe les dextrinases limites (MacGregor et *col.*, 1995).

I-3-1-6) Pullulanase

Elle hydrolyse spécifiquement les liaisons $\alpha(1,6)$ glucosidiques de l'amylopectine ou des dextrines. L'action des pullulanase ne peut se faire que si la liaison $\alpha(1,6)$ glucosidique est entourée de chaque côté d'une liaison $\alpha(1,4)$. Ainsi, le substrat que la pullulanase bactérienne peut hydrolyser est un tétraose qui comporte une liaison $\alpha(1,6)$ au milieu ; ainsi, on aura affaire à la libération de deux molécules de maltose. Elle peut aussi attaquer les dextrines pour donner le maltose, le maltotriose et les dextrines linéaires car les liaisons $\alpha(1,6)$ seront attaquées. Son utilisation au brassage est possible mais, elle est très vite inactivée par la température. En effet, les pullulanases ont comme caractéristiques : pH 4,0-8,0 et sa température d'action est de 50°C (Helmut, 1998).

D'une manière générale, les enzymes amylolytiques se présentent comme des enzymes incontournables en brasserie, ainsi le résumé de leur action et localisation sont donnés dans le tableau 5 :

Tableau 5 : Le résumé des actions et localisation de certaines enzymes amylolytiques.

Noms	Localisation dans le grain	Action
Phosphorylase	Embryon	A besoin de phosphate inorganique, attaque les liaisons $\alpha(1,4)$. D'où : Chaîne réduite d'une unité et à extrémité non réductrice plus glucose-1-phosphate.
α Glucosidase	Embryon	A besoin d'eau pour l'hydrolyse, attaque les liaisons $\alpha(1,4)$ ou $\alpha(1,6)$. D'où : Chaîne réduite d'une unité et à extrémité non réductrice plus glucose.
β amylose	Embryon/Aleurone	A besoin d'eau pour l'hydrolyse, attaque les liaisons $\alpha(1,4)$. D'où : Chaîne réduite de deux unités et à extrémité non réductrice plus le β maltose.
α amylose	Aleurone	A besoin d'eau pour l'hydrolyse, attaque les liaisons $\alpha(1,4)$. D'où : Une mixture de dextrans plus peu de sucres.
Dextrinase limite	Aleurone	A besoin d'eau pour l'hydrolyse, attaque les liaisons $\alpha(1,6)$. D'où : Une mixture de dextrans non ramifiées plus peu de sucres.

Source : Hough, (1985)

Les amylases (α et β) se présentent comme les enzymes les plus importantes. On les retrouve dans les céréales qui ont germé de façon générale (également dans le sorgho germé de façon particulière). Elles ont cependant des spécificités qui, permettent de déceler une différence concernant leur mode d'action. Il devient de ce fait très important, de ressortir ces différences afin de mieux appréhender le fonctionnement individuel de chacune des enzymes. Ainsi, ces enzymes seront comparées sur dix aspects et, cette comparaison est récapitulée dans le tableau 6.

Tableau 6 : Comparaison entre les amylases α et β

	α amylase	β amylase
1 Attaque sur la chaîne d'amidon	Au hasard (excepté les points de ramification) ; une endo-enzyme	Coupe le maltose des fins non réductrices des molécules ; une endo-enzyme
2 Attaque des liaisons glucosidiques	$\alpha(1,4)$	$\alpha(1,4)$
3 Produits obtenus	Dextrines, peu de sucres	β maltose
4 Production des groupes réducteurs	Une par attaque	Une par attaque
5 Production des groupes non réducteurs	Une par attaque	Une par attaque
6 Besoins généraux	Ions calcium	Conditions réductrices pour maintenir les groupements thiols.
7 Inhibiteurs	Séquestrations de calcium	Métaux lourds, iodoacétate de sodium
8 pH optimum	5,5	5,2
9 Température optimale de d'action	70°C	60°C
10 Présence avant germination	Absent dans les grains matures, commence à se former durant la germination	Présent dans les grains matures mais la forme active croît pendant la germination

Source : Hough, (1985)

I-3-2) Les protéases exogènes

Ces enzymes dégradent les matières azotées en peptides et en acides aminés. Elles permettent d'augmenter le pouvoir protéolytique au brassage, libérant ainsi les matières azotées de faible masse moléculaire qui peuvent être directement utilisées par les levures.

I-3-3) Le brassage

Le brassage consiste à mettre en solution des matières solubles du malt et des grains crus afin de récupérer le maximum de sucres contenus dans le malt. Pour cela, le brasseur mélange la farine

du malt moulu avec de l'eau à une température adéquate afin, d'activer de façon optimale les enzymes amylolytiques qui vont hydrolyser l'amidon du malt en sucres simples fermentescibles (maltose, glucose, maltotriose.). Ce sont ces sucres qui seront transformés en alcool après fermentation des levures.

De même les enzymes protéolytiques et les nucléases vont respectivement solubiliser les protéines et les acides nucléiques pour donner des produits solubles. Ces enzymes endogènes ou exogènes doivent prendre un temps appréciable pour atteindre leur substrat, ceci en diffusant à travers la maische. Tant que les particules de grist ne sont pas hydratées, ces enzymes ne pourront pas diffuser pour attaquer les substances insolubles.

I-3-3-1) La gélatinisation et solubilisation de l'amidon

Par chauffage d'une suspension d'amidon dans l'eau, on observe un gonflement des granules d'amidon quand la température spécifique de gélatinisation est atteinte. Cette soudaine prise d'eau entraîne un accroissement fort de viscosité et à un changement chimique dans le produit, ainsi que une vulnérabilité enzymatique de l'amidon. Il faut mentionner que cette température de gélatinisation est propre à chaque céréale, le tableau 7 illustre nettement ce fait. Quand l'amidon gélatinisé se refroidi, la fraction amylolytique cristallise rapidement en formant des liens intermoléculaires d'hydrogène. Ce procédé est connu comme étant la rétrogradation.

Tableau 7 : Plages de gélatinisation de certaines céréales.

	Céréale				
	Orge	Riz	Blé	Maïs	Sorgho
Plage de Températures de gélatinisation (°C)	59-64	61-78	62-75	63-72	68-75

Source : Pomeranz, 1984.

Le problème que pose par la gélatinisation se révèle important dans la mesure où les enzymes endogènes sont thermolabiles et sont détruites au moment de la gélatinisation de l'amidon. Il faudrait pour cela utiliser les enzymes provenant des bactéries et des champignons qui, sont plus thermostables. Un autre problème lié au brassage est celui de la filtration de la maische. Le malt de sorgho ayant des températures de gélatinisation plus élevées que l'orge, et étant dépourvu de paille et moins riche en enzymes qui dégradent les polysaccharides et autres substances de haut poids moléculaire, peut aboutir aux moûts très visqueux et donc difficile à filtrer.

Le changement notable qui survient pendant le brassage est la dissolution de l'amidon. Les conditions diverses de brassage conduisent à des moûts de différentes fermentescibilités. Le fait majeur de la dissolution de l'amidon est attribué aux actions combinées de l' α et de la β -amylase, la contribution de l' α -glucosidase étant de moindre ampleur. Un mélange d'excès d'amylases (α et β) pures va théoriquement donner 70% d'amidon transformé en sucres fermentescibles. Au brassage, c'est l'action solubilisante de l' α -amylase qui est principalement responsable de la dissolution de l'amidon gélatinisé (Briggs et *col.*, 1981).

I-4) FILTRATION DU MOÛT.

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 de masse est due à l'élimination d'un certain volume de 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 glucane 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 microbienne hydrolysant les β -glucanes, et autres hémicelluloses comme les xylanes et pentosanes durant le brassage, permettrait d'améliorer la vitesse de filtration de la maische et de la bière, particulièrement avec des malts peu désagrégés ou lors de l'utilisation de l'orge comme grain cru (Letters et *col.*, 1985 ; Okensen et *col.*, 1985).

En cas de problème de filtration dû 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 drèches plus humides.

En ce qui concerne le sorgho, le problème majeur qui se pose lors de son utilisation pour la fabrication de la bière est la mauvaise filtrabilité de ses moûts est attribuée à une dégradation insuffisante des parois cellulaires par les enzymes (Agu, 1995). Les problèmes de filtration du moût sont liés aux éléments suivants :

- La saccharification incomplète au brassage dû à la température élevée de gélatinisation de l'amidon, une faible activité amylolytique.
- La mauvaise filtration est aussi attribuée à une grande viscosité du moût à qui, plusieurs facteurs contribuent à savoir : Une quantité importante de polysaccharides autre que l'amidon (β -glucanes, pentosanes) ; les complexes polyphenol-protéines ou, les complexes protéiniques riches en cystéine ou, la présence des molécules d'amidon non complètement gélatinisés ou, une concentration élevée en dextrines. (Dufour et *col.*, 1992).

I-5) APPROCHE METHODOLOGIQUE DES SURFACES DE REPONSE

I-5-1) Terminologie

La plupart des termes spécifiques utilisés en Méthodologie de la Recherche Expérimentale (Mathieu et Phan-Tan-Luu, 1995) sont classiques mais, il peut arriver que dans certains domaines statistiques, ils aient des significations peu différentes. Pour mieux saisir le sens de ce qui est dit (figure 6), il s'avère nécessaire de rappeler les significations de quelques termes importants.

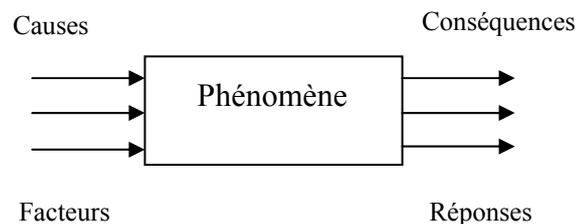


Figure 6 : Schéma représentant les facteurs et les réponses

I-5-1-1) Facteurs

Les facteurs sont les causes, supposées ou certaines qui provoquent le phénomène (Mathieu et Phan-Tan-Luu, 1995). Tous les facteurs qui peuvent avoir une influence sur le phénomène doivent être pris en compte, faute de quoi les résultats pourraient être faussés et ainsi inutilisables. Un facteur peut être qualitatif ou quantitatif, continu ou discontinu, contrôlable ou non contrôlable et peut être caractérisé par une ou plusieurs variables naturelles. Dans la majorité des cas, les facteurs sont caractérisés par une variable naturelle.

I-5-1-2) 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 Phan-Tan-Luu, 1995). 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.

I-5-1-3) 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.

I-5-1-4) 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 Phan-Tan-Luu, 1995). C'est un tableau constitué de N lignes correspondant aux N expériences et de k colonnes correspondant 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 -ème expérience.

I-5-1-5) Domaine expérimental

Les influences des facteurs peuvent être déterminées en imposant à ceux-ci des variations pouvant entraîner des modifications sur le phénomène étudié. Ainsi, un domaine de variation est défini pour chaque facteur à l'intérieur duquel il peut prendre différentes valeurs. On appelle domaine des facteurs l'ensemble produit par les ensembles des niveaux que peuvent prendre chacun des facteurs (Mathieu et Phan-Tan-Luu, 1995). Chaque élément de ces domaines représente un ensemble de conditions expérimentales. Dans la pratique, ce domaine est souvent lui-même réduit au domaine expérimental d'intérêt.

I-5-1-6) Plan d'expérimentation

Un plan d'expérimentation est la traduction d'une matrice d'expériences exprimée en fonction des facteurs (Mathieu et Phan-Tan-Luu, 1995). 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-5-2) Démarche méthodologique (Mathieu et Phan-Tan-Luu, 1995).

I-5-2-1) Correspondance entre les variables codées et les variables réelles

Cette opération permet de rendre comparables les effets des variables naturelles, qui ne sont pas forcements exprimés dans les mêmes unités. La transformation la plus utilisée est :

$$x_j = \frac{U_j - U_j^0}{\Delta U_j} \quad (1)$$

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.

Quant à ΔU_j on a l'expression suivante :

$$\Delta U_j = \frac{U_j^{\max} - U_j^{\min}}{2} \quad (2)$$

ΔU_j est appelé « pas » de variation.

I-5-2-2) Proposition et validation d'un modèle

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.

CHAPITRE II. MATERIEL ET METHODES

II-1) MATERIEL

II-1-1) Variétés de sorgho

Le matériel végétal obtenu à l'IRAD de Maroua est constitué de trois variétés de sorgho. Ces variétés sont les suivantes :

Madjeru : c'est une variété de sorgho dont les grains sont ronds et de couleur blanche.

Safrari : c'est une variété de sorgho dont les grains sont ronds et de couleur jaunâtre.

S 35 : c'est une variété de sorgho dont les grains sont de couleur blanche. Il faut signaler que les grains de cette variété sont plus petits que ceux de la variété *Madjeru*.

II-1-2) Les enzymes

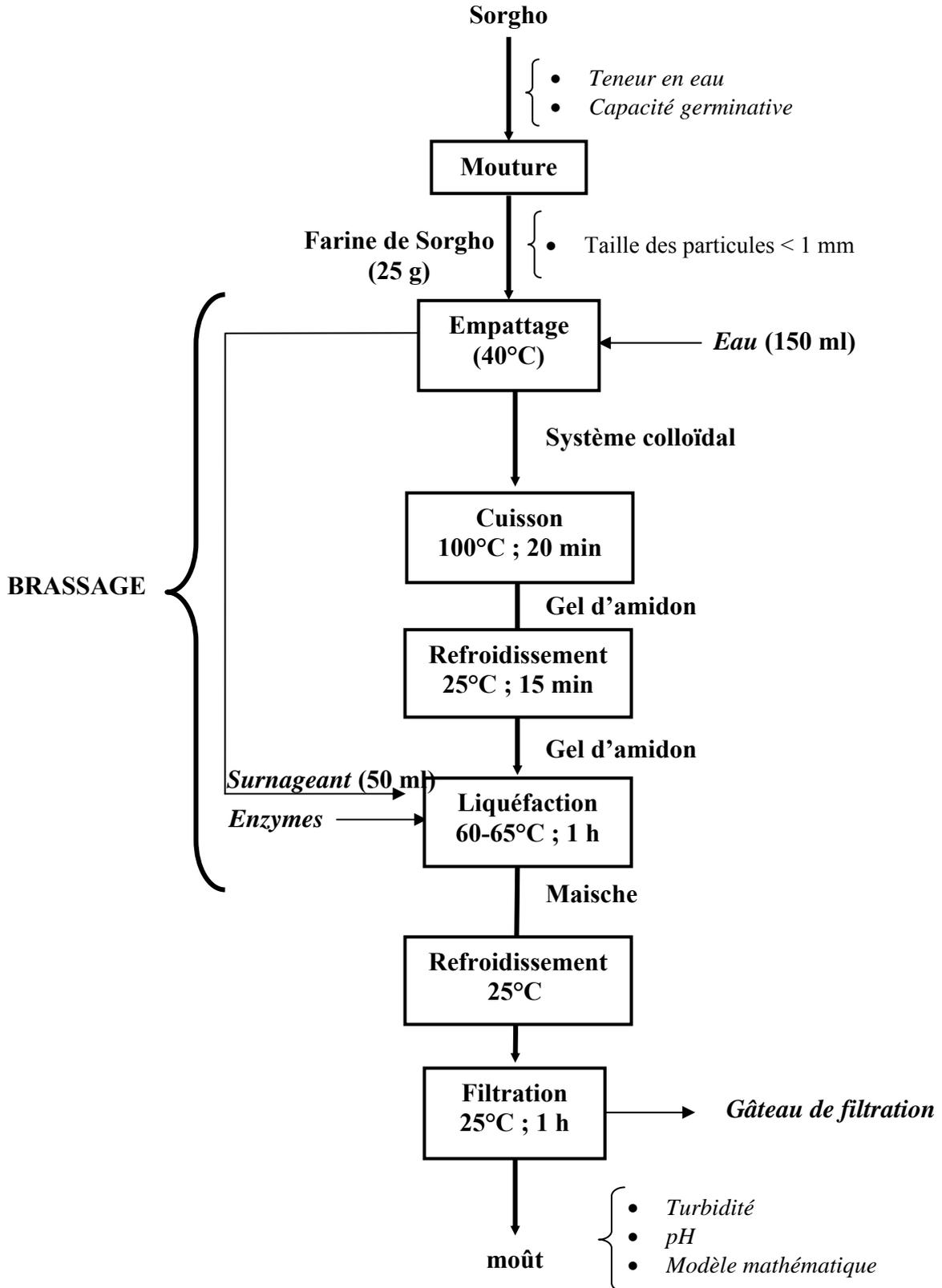
Les enzymes brassicoles suivantes ont été utilisées :

- *Brewers Amyliq TS*: (Beverage Ingredient), une α amylase thermostable obtenue d'une souche de *Bacillus licheniformis* génétiquement modifiée (organisme producteur et donneur) provenant de DSM Food Specialities.
- *La β -amylase* (EC 3.2.1.2) type brut II-B d'orge (SIGMA)
- *Brewers Protease* : une protéase neutre obtenue d'une souche de *Bacillus amyloliquefaciens* génétiquement modifiée (organisme producteur et donneur) provenant de DSM Food Specialities.
- *Filtrase NLC* : une formulation enzymatique spécialement développée pour couvrir la plage totale de température de brassage et, garantissant une action totale sur les beta-glucanes. Une hémicellulase provenant de DSM Food Specialities.

II-2) METHODES

II-2-1) Schéma de travail

Pour atteindre les objectifs visés, le plan est le suivant :



II-2-2) Protocoles expérimentaux

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

La teneur en eau est déterminée selon la méthode EBC Analytica (1987). Les échantillons sont broyés à l'aide du broyeur de marque Polimix. Par la suite, 25 g de farine sont séchées pendant 3 h entre 105 et 107°C à l'étuve (Heraeus).

Le calcul de la perte en masse comme pourcentage est effectué comme suit :

$$M = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \cdot 100 \quad (3)$$

M : teneur en eau du sorgho (farine) en pourcentage.

W_1 : masse avant passage à l'étuve.

W_2 : masse après passage à l'étuve.

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

Le trempage de 2 lots de 500 grains est effectué à 22-25°C, dans une solution de peroxyde d'hydrogène de concentration 7,5 g/l pendant 2 jours. Par la suite, la vieille solution est remplacée par une solution fraîche de peroxyde d'hydrogène (7,5 g/l) puis, le trempage est laissé pour deux jours supplémentaires. A la fin de ce trempage, la solution est versée et on procède au décompte des grains qui ont germé (EBC Analytica , 1987).

La capacité germinative exprimée en pourcentage se calcule comme suit :

$$\text{Capacité germinative (\%)} = \frac{500 - n}{5} \quad (4)$$

n : nombre de grains n'ayant pas germé.

II-2-2-3) Technique de brassage

Le brassage est fait par la méthode de décantation. Les malts de sorgho sont moulus grâce au broyeur de marque Polymix et, 25 g de farine sont pesés et placés dans un becher. On ajoute 150 ml d'eau distillée, et le milieu est agité pour éviter la formation des floes. L'ensemble est ensuite placé dans un bain Marie à 45°C. La température est maintenue à 45°C pendant 1 h. Le mélange est retiré du bain-marie et laissée pour décantation pendant 5 min et, 50 ml de surnageant retiré du reste de la maische et gardée. Au sédiment, on ajoute 75 ml d'eau distillée et l'ensemble est cuit pendant 20 min en remuant par intermittence aux intervalles de 5 min. Après la cuisson et un refroidissement de 15 min, le surnageant (50 ml) est ajouté à la pâte et le tout est placé dans le bain-marie à 60-

65°C. Les enzymes exogènes sont immédiatement ajoutées et le brassage est poursuivi à cette température pendant 1 h. Après le brassage, la maische est refroidie à 25°C et la filtration opérée comme expliquée ci-dessous.

II-2-2-4) Mesure du volume de filtration

Un volume de 130 ml de la maische est prélevé et soumis à la filtration pour une durée d'une heure, après l'avoir versé en sa totalité dans le papier filtre wattman n°1 en un coup. Le volume cumulé du filtrat est enregistré à des intervalles de temps appropriés. Le volume obtenu après une heure de filtration est celui retenu pour la modélisation.

II-2-2-5) Profil de filtration.

Il s'agit d'estimer la facilité avec laquelle le liquide traverse la toile filtrante. Cette filtration mettant au premier plan la notion de vitesse qu'un volume de liquide met pour traverser la toile filtrante. Le dispositif pour ce faire est constitué d'une éprouvette graduée, d'un entonnoir et du papier filtre whatman n°1. On dispose en plus d'un chronomètre.

Les résultats obtenus des expériences permettront de tracer des courbes qui donneront une allure du phénomène de filtration.

II-2-2-6) Mesure de la turbidité et du pH du moût.

La turbidité du moût est mesurée à l'aide d'un turbidimètre HACH (2100N) en introduisant le moût dans le tube néphélométrique jusqu'au trait de jauge ensuite, ce tube est introduit dans le turbidimètre. Le résultat en unité EBC (European Brewing Convention) est obtenu par simple commande sur l'appareil.

La mesure du pH est obtenue à l'aide du pH-mètre portatif de marque Hanna. La valeur du pH est donnée automatiquement après que l'on est attendu la stabilité.

II-2-3) Elaboration du modèle mathématique (Mathieu et Phan-Tan-Luu, 1995).

L'élaboration du modèle mathématique passe par l'établissement de la matrice d'expériences. Le choix est porté sur la matrice d'expérience de Doehlert (pour $k=4$, c'est à dire 4 facteurs) qui, est de qualité suffisante et permet de respecter les contraintes liées au travail c'est à dire qu'elle permet une exploration importante du domaine de travail. Le choix du modèle se justifie par l'utilisation de quatre enzymes brassicoles. Chaque enzyme constitue un facteur dans ce cas. Après réarrangement la matrice \mathbf{X} se présente comme suit :

$$\mathbf{X} = \begin{pmatrix} \mathbf{X}_1 & \mathbf{X}_2 & \mathbf{X}_3 & \mathbf{X}_4 \\ 1,000 & 0,000 & 0,000 & 0,000 \\ -1,000 & 0,000 & 0,000 & 0,000 \\ 0,500 & 0,866 & 0,000 & 0,000 \\ -0,500 & -0,866 & 0,000 & 0,000 \\ 0,500 & -0,866 & 0,000 & 0,000 \\ -0,500 & 0,866 & 0,000 & 0,000 \\ 0,500 & 0,289 & 0,816 & 0,000 \\ -0,500 & -0,289 & -0,816 & 0,000 \\ 0,500 & -0,289 & -0,816 & 0,000 \\ 0,000 & 0,577 & -0,816 & 0,000 \\ -0,500 & 0,289 & 0,816 & 0,000 \\ 0,000 & -0,577 & 0,816 & 0,000 \\ 0,500 & 0,289 & 0,204 & 0,791 \\ -0,500 & -0,289 & -0,204 & -0,791 \\ 0,500 & -0,289 & -0,204 & -0,791 \\ 0,000 & 0,577 & -0,204 & -0,791 \\ 0,000 & 0,000 & 0,612 & -0,791 \\ -0,500 & 0,289 & 0,204 & 0,791 \\ 0,000 & -0,577 & 0,204 & 0,791 \\ 0,000 & 0,000 & -0,612 & 0,791 \\ 0,000 & 0,000 & 0,000 & 0,000 \\ 0,000 & 0,000 & 0,000 & 0,000 \\ 0,000 & 0,000 & 0,000 & 0,000 \\ 0,000 & 0,000 & 0,000 & 0,000 \\ 0,000 & 0,000 & 0,000 & 0,000 \end{pmatrix}$$

Il s'agit ici d'une matrice de variables (variables de Doehlert) codées.

Le passage de la matrice de variables codées à la matrice de variables réelles se fait en tenant compte des plages d'utilisation des enzymes. Ainsi, le choix des plages enzymatiques sont les suivantes :

- α -amylase "Brewers Amyliq TS" [0 25 mg]
- Hemicellulases "Filtrase NLC" [0 10 mg]
- Protéases [0 100 mg]
- β -amylase [0 80 U]

Ces choix tiennent compte de la fiche technique de chaque enzyme industrielle.

II-2-3-1) Le plan d'expérimentation

En respectant les formules (9) et (10) puis en tenant compte de la matrice de variables codées, on arrive à une matrice de variables réelles directement utilisables. Cette matrice \mathbf{M} se présente comme suit :

	X₁ α-amylase (mg)	X₂ Hemicellulases (mg)	X₃ Protéases (mg)	X₄ β-amylase (U)
M =	25	5	50	40
	0	5	50	40
	18,75	10	50	40
	6,25	0	50	40
	18,75	0	50	40
	6,25	10	50	40
	18,75	6,66	100	40
	6,25	3,33	0	40
	18,75	3,33	0	40
	12,5	8,33	0	40
	6,25	6,66	100	40
	12,5	1,66	100	40
	18,75	6,66	62,5	80
	6,25	3,33	37,5	0
	18,75	3,33	37,5	0
	12,5	8,33	37,5	0
	12,5	5	87,5	0
	6,25	6,66	62,5	80
	12,5	1,66	62,5	80
	12,5	5	12,5	80
12,5	5	50	40	
12,5	5	50	40	
12,5	5	50	40	
12,5	5	50	40	
12,5	5	50	40	

Le modèle mathématique quant à lui respecte la logique suivante :

On part d'un postulat qui donne l'équation globale d'un modèle du deuxième ordre avec interaction. Cette équation globale se présente comme suit :

$$y = \beta_0 + \sum \beta_i x_i + \sum \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i < j} \beta_{ij} x_i x_j \quad (5)$$

Le vecteur β qui contient les coefficients est déterminé à partir de la matrice **M** et des valeurs expérimentales obtenues. Ainsi, l'obtention des coefficients se fait suivant la formule :

$$\beta = ({}^t M \bullet M)^{-1} \bullet {}^t M \bullet y_{\text{exp}} \quad (6)$$

Avec

${}^t M$: la transposée de la matrice M (matrice prenant en compte les interactions)

y_{exp} : le vecteur contenant les valeurs des réponses.

Les valeurs des coefficients donneront la forme définitive de l'équation du modèle.

II-2-3-2) Analyse de la variance

La représentativité du modèle passe par une analyse statistique dont le but est, de donner une légitimité scientifique au modèle obtenu. Pour ce faire, Fisher se présente comme l'approche la plus correcte. Ainsi, le tableau suivant est le résumé de la statistique classique.

Tableau 8 : Analyse de la variance

Source de variation	Somme des carrés	Degrés de liberté	Carré moyen	F calculé	Signification
Régression	SCR	p-1	SCR/(p-1)	[SCR/(p-1)] /	
Résidus	SCE	N - p	SCE/(N-p)	[SCE/(N-p)]	
Validité	SCE ₂	(N-p) - (n ₀ -1)	SCE ₂ /[(N-p)-(n ₀ -1)]	(SCE ₂ /[(N-p)-(
Erreur	SCE ₁	n ₀ -1	SCE ₁ /(n ₀ -1)	n ₀ -1)] /	
				[SCE ₁ /(n ₀ -1)]	
Total	SCT	N - 1			

Avec

$$SCT = SCE + SCR$$

$$SCT = \sum (y)^2$$

y = vecteur colonne des réponses expérimentales

β = vecteur colonne des estimations des coefficients du modèle

$$SCE = \sum (y - \beta)^2$$

SCT = Somme des Carrés Totaux

SCE = Somme des carrés des Ecarts

SCR = Somme des carrés dus à la Régression.

$$SCE = SCE_1 + SCE_2$$

SCE₁ = Somme des carrés des erreurs expérimentales (aux points répétés)

SCE₂ = Somme des carrés des Ecarts (aux autres points) ou Validité.

N = Nombre d'expériences

p = Nombre de coefficients du modèle

n₀ = Nombre de points répétés indépendamment.

Une autre méthode de calcul statistique se présente de façon matricielle et abouti aux mêmes résultats. Ainsi, on a :

M : matrice du modèle

$$SCE = (y - M\beta)'(y - M\beta)$$

$$SCT = y'y$$

II-2-3-3) Validation

La validation du modèle mathématique se fera après le test de plusieurs points appartenant aux domaines expérimentaux mais qui n'ont pas été explorés dans le cadre de la matrice d'expérience. Une autre méthode va consister à tracer la courbe des résultats théoriques en fonction des résultats expérimentaux et, la valeur du coefficient de corrélation R va donner une appréciation de la qualité du modèle.

II-2-3-4) Optimisation des modèles.

L'optimisation des modèles est effectuée à l'aide du logiciel MathSoft Apps. Il s'agit d'un logiciel adapté aux problèmes d'optimisation. Pour obtenir la combinaison optimale, on entre dans un premier temps le modèle, ensuite on précise le point de départ de chaque facteur. On donne également l'intervalle dans lequel le logiciel doit faire son balayage, il faut signaler que ceci est fait pour chaque facteur. Une fois toutes ces données entrées, le logiciel sort comme réponse la combinaison qui, donne un comportement maximal du modèle ou le comportement minimal. Cette réponse obtenue est fonction de la commande passée c'est à dire une maximisation ou une minimisation. Cet optimum théorique sera testé pour confirmation du point optimal.

CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSION

III-1) TENEUR EN EAU ET CAPACITE GERMINATIVE

La teneur en eau (tableau 9) des différentes variétés de sorgho est comprise entre 7,53 et 8,85%. Cette teneur en eau est inférieure à 12,5-13 % recommandée pour la conservation du sorgho (BIT, 1986). Ceci amène à dire que les grains de sorgho non charançonné sont en parfait état de conservation.

La capacité germinative est traduite par la facilité avec laquelle le grain devrait germer et, ceci est en relation avec l'état initial du grain avant conservation. La capacité germinative (tableau 9) des variétés de sorgho varie de 95,33 à 97%. Ces résultats sont comparables avec ceux souvent obtenus pour les mêmes céréales : Madjeru 97%, Safrari 99% et S.35 98% (Nso *et col.*, 2003). Les grains ont été dans un état intéressant de conservation. Les faibles teneurs en eau résiduelle des variétés (tableau 9) justifient à suffisance les fortes capacités germinatives obtenues.

Tableau 9 : Teneur en eau et capacité germinative des grains de sorgho.

	Variétés		
	<u>Madjeru</u>	<u>Safrari</u>	<u>S.35</u>
Teneur en eau (%)	8,85 ± 0,05	7,53 ± 0,01	7,69 ± 0,06
Capacité germinative (%)	97 ± 1	95,33 ± 4,04	96,66 ± 1.52

III-2) PROFIL DE FILTRATION.

Le profil de filtration est représenté par les figures 7, 8, 9 et 10.

En absence d'enzymes au cours du brassage, le volume filtrat obtenu après 1 h de filtration est nul pour toutes les variétés. Ceci montre qu'en absence d'enzymes, la filtration est impossible. Ceci s'expliquerait par le fait qu'au cours de la gélatinisation de l'amidon, du fait de l'emprisonnement de toute l'eau dans le réseau tridimensionnel, on se retrouve avec un gel.

Les figures 7, 8, 9 et 10 présentent le profil de filtration des variétés de sorgho. La filtration à vitesse constante se traduit par une allure pseudo linéaire observée en début de filtration. Il s'agit de dire ici que, le procédé de séparation par membrane implique l'obturation des pores mais, avant que cette obturation n'atteigne un certain pourcentage, on assiste à une filtration à vitesse constante. Une fois que la membrane de filtration est recouverte de gâteau, on assiste alors à un ralentissement de la vitesse de filtration. Ceci peut s'expliquer par le fait que, le liquide met plus de temps pour traverser le gâteau et la membrane de filtration.

Les figures 7, 8, 9 et 10 présentent l'effet des enzymes carbohydrolytiques sur la filtrabilité des moûts des variétés non maltées. Ces graphes montrent une facilité de filtration des diverses variétés. La figure 10 montre quant à elle que, pour des combinaisons spécifiques, on arrive à des volumes finaux presque égaux à savoir : 84 ml pour Madjeru, 85 ml pour Safrari et 81 ml pour S.35. Soit avec des activités β -amylasiques imposées et de l'ordre de 40 U pour Madjeru, 40 U pour Safrari et 80 U pour S.35. Les résultats des travaux de Nso et *col.*, 2003 montrent les activités enzymatiques des mêmes variétés maltées à savoir : Madjeru (α -amylase :56,59 U ; β -amylase : 2,15 U), Safrari (α -amylase : 94,56 U ; β -amylase : 43,02 U) et S.35 (α -amylase : 51,70 U ; β -amylase : 30,11 U). Il ressort de ces travaux que, la maïsche de la variété Madjeru a un problème de filtration alors que, les maïsches des variétés Safrari et S.35 ne présentent pas ce problème. Une comparaison faite entre les activités β -amylasiques de Madjeru d'avec ceux présentés plus haut, permet de dire que le problème de la maïsche de Madjeru malté par rapport aux autres variétés de sorgho maltés, au cours de la filtration est lié à une insuffisance de synthèse de la β -amylase. Une supplémentation suffisante en cette enzyme (β -amylase) pendant le brassage des variétés non maltées, résous les problèmes de filtration de Madjeru. Ceci confirme l'hypothèse de Nso et *col.*, 2003 qui, entrevoyait la possibilité de la résolution du problème de Madjeru

Les volumes importants qui sont obtenus permettent de mettre en évidence l'action enzymatique sur la facilitation de la filtration.

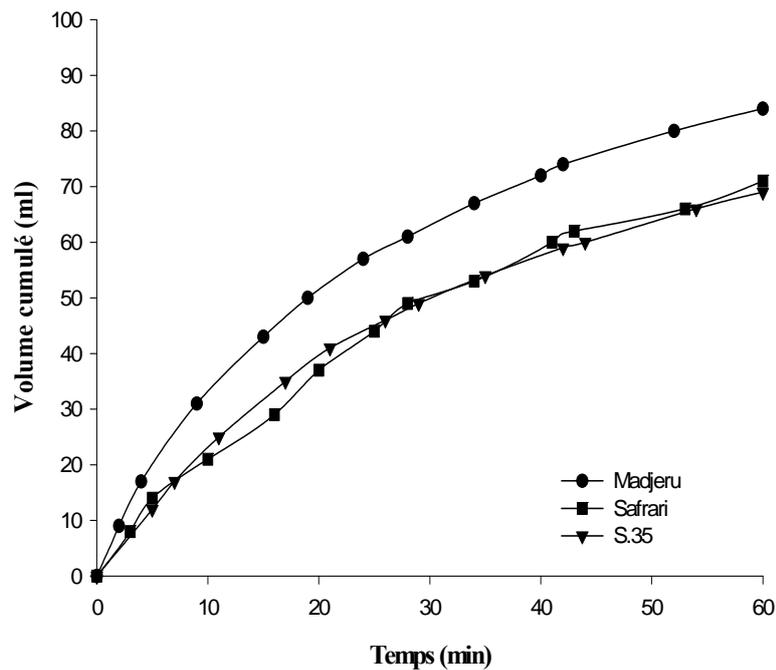


Figure 7: Effet des enzymes sur la filtrabilité des variétés de sorgho non malté [α -Amylase (18,75mg), Filtrase (0mg), Protéases (50mg), β -Amylase (40U)]

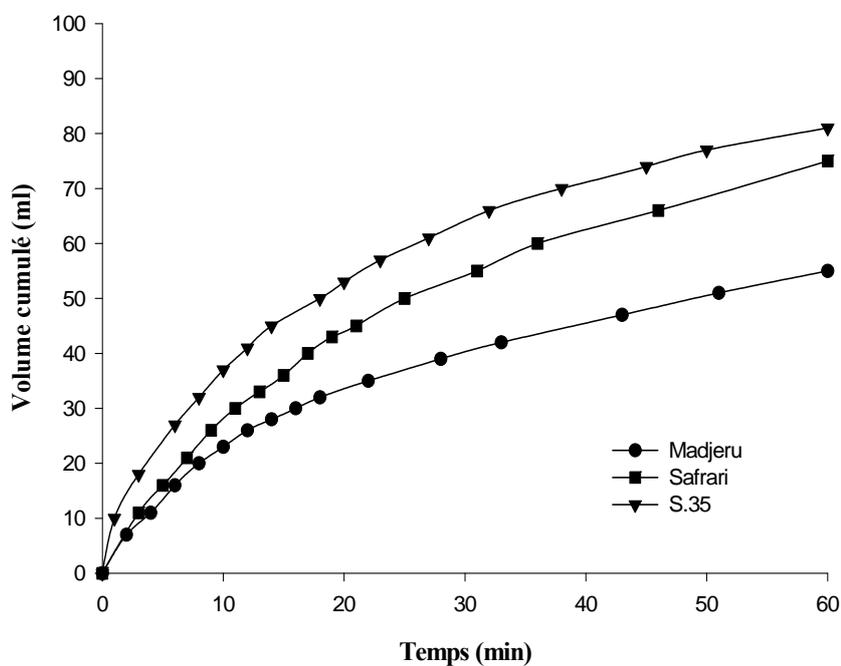


Figure 8: Effet des enzymes sur la filtrabilité des variétés de sorgho non malté [α -Amylase (18,75mg), Filtrase (6,66mg), Protéases (62,5mg), β -Amylase (80U)]

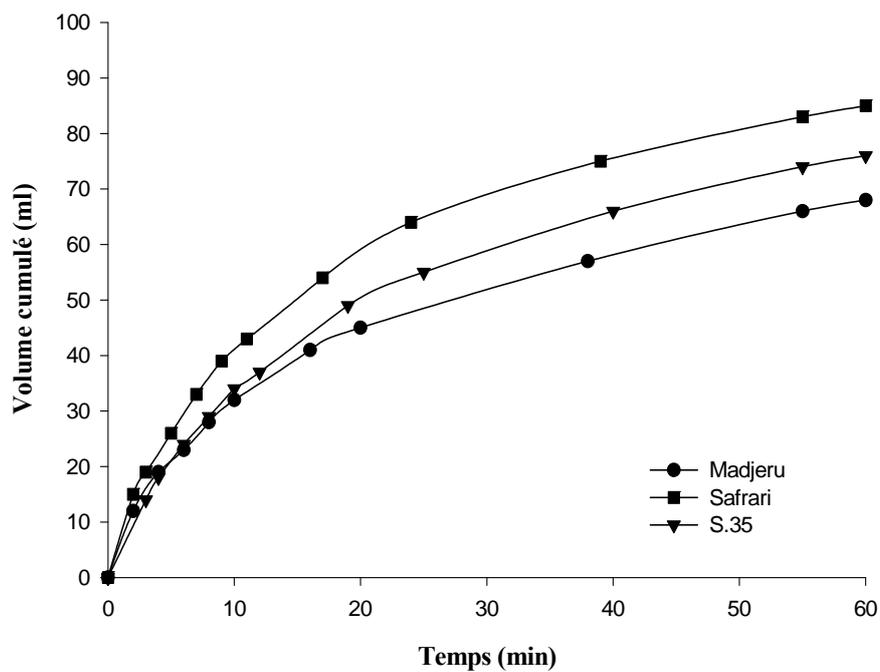


Figure 9: Effet des enzymes sur la filtrabilité des variétés de sorgho non malté [a-Amylase (25mg), Filtrase (5mg), Protéases (50mg), b-Amylase (40U)]

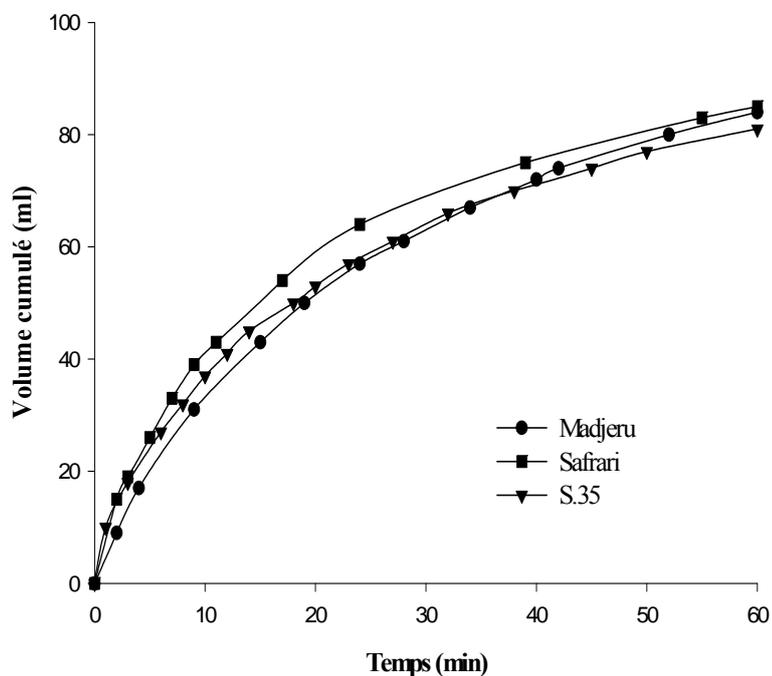


Figure 10 : Evolution des courbes donnant les volumes maximaux de filtrat pour chaque variété de sorgho. (Madjeru [a-Amylase (18.75 mg), Filtrase (0 mg), Protéase (50 mg), b-Amylase (40U)] ; Safrari [a-Amylase (25 mg), Filtrase (5 mg), Protéase (50 mg), b-Amylase (40U)] ; S.35 [a-Amylase (18.75 mg), Filtrase (6.66 mg), Protéase (62.5 mg), b-Amylase (80U)]).

III-3) L'INDICE DE COULEUR ET PH

Les indices de couleurs mesurées sur les filtrats (moûts) de l'ensemble des expériences varie de **0,6 à 8 EBC** (European Brewing Convention). Seidl (1992) qui, ayant travaillé sur plusieurs malts de sorgho de régions diverses, trouve une plage de 2,2 à 16,8 EBC. L'ensemble des résultats des mesures de l'indice de couleur des moûts, permet de dire que les moûts dont les turbidités sont faibles, sont ceux dont on note une présence appréciable de β -amylase. On pourrait expliquer ce phénomène par le fait que, cette enzyme en quantité suffisante effectuerait un découpage fin des molécules d'amidon, libérant ainsi des sucres simples et des sucres à faibles poids moléculaires. La conséquence immédiate étant un moût clair et donc de turbidité faible. Il faudrait signaler que l'action de la β -amylase ne se produit que si celle de l' α -amylase a été réalisée. La situation contraire est observée quand on note une quantité insuffisante de β -amylase ou une absence totale de cette enzyme. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que, suite à une action hasardeuse de l' α -amylase, on a une libération d'une multitude de sucres de poids moléculaires différents. Ainsi on pourrait avoir du glucose, maltotriose, dextrines. La conséquence étant un moût trouble dû à la présence des sucres de hauts poids moléculaires d'où une turbidité élevée pour ces moûts.

Le pH des moûts est situé dans la plage de 5,2 à 6,4 On pourrait donc dire qu'il s'agit là du pH de fonctionnement des enzymes amylolytiques responsables de la liquéfaction de l'amidon. Ceci est dit à la lumière des travaux de Briggs, (1998). Le pH n'est donc pas une entrave à l'action des amylases dans ce cas.

III-4) LES MODELES MATHEMATIKUES.

III-4-1) Réponses expérimentales

La matrice d'expérience de Doehlert a permis, de réaliser un plan d'expérience des manipulations et d'obtenir les volumes de moût issus de la filtration (réponses expérimentales).

Il ressort du tableau 10 qu'après une filtration d'une heure (avec comme technique de brassage celle par décantation) et, ayant pour volume initial de maische 130 ml, les pourcentages respectifs suivants sont atteints : de 18,4 à 64,6% (soit 24 et 84 ml) du volume initial pour Madjeru ; de 27,7 à 65,4% (soit 36 et 85 ml) du volume initial pour Safrari ; de 26,9 à 62,3% (soit 35 et 81 ml) du volume initial pour S 35.

Ces pourcentages traduisent de façon irréfutable, l'action efficace des enzymes sur la liquéfaction de l'amidon. Helmut (1998) attribue principalement cette faculté de liquéfaction de l'amidon à l' α amylase et la β -amylase.

Tableau 10 : Volume De Filtration En Fonction De La Concentration Enzymatique (Pour Chaque Variété De Sorgho)

X_1	X_2	X_3	X_4	MADJERU	SAFRARI	S.35
α -amylase (mg)	Filtrase (mg)	Protéases (mg)	β -amylase (U)	(ml)	(ml)	(ml)
25	5	50	40	68	85	76
0	5	50	40	24	36	35
18,75	10	50	40	61	67	77
6,25	0	50	40	64	60	60
18,75	0	50	40	84	71	69
6,25	10	50	40	40	40	45
18,75	6,66	100	40	55	75	80
6,25	3,33	0	40	63	59	61
18,75	3,33	0	40	74	71	77
12,5	8,33	0	40	61	64	70
6,25	6,66	100	40	38	41	46
12,5	1,66	100	40	60	66	69
18,75	6,66	62,5	80	55	75	81
6,25	3,33	37,5	0	35	47	45
18,75	3,33	37,5	0	63	65	67
12,5	8,33	37,5	0	42	53	65
12,5	5	87,5	0	49	54	67
6,25	6,66	62,5	80	50	50	70
12,5	1,66	62,5	80	70	62	73
12,5	5	62,5	80	76	55	72
12,5	5	50	40	78	63	79
12,5	5	50	40	79	65	77
12,5	5	50	40	75	63	77
12,5	5	50	40	77	66	80

III-4-2) Modèle mathématique de chaque variété de sorgho

Le postulat pour un modèle mathématique passe par plusieurs essais d'élaboration de modèle. A l'issue de l'établissement de tous ces modèles, on choisit celui qui se rapproche le plus des résultats expérimentaux. En d'autres termes il va s'agir du modèle le plus représentatif du phénomène observé. Il est important de signaler que chaque type de modèle mathématique utilise

une matrice précise. Concernant les modèles qui ont été retenus, suite au fait qu'ils sont de même type, la matrice de 24 lignes et 15 colonnes a servi de socle de calcul.

L'obtention du modèle mathématique par la méthode des surfaces de réponse, a conduit aux équations suivantes :

Madjeru

$$Y = 77.25 + 19X_1 - 13.39X_2 - 9.226X_3 + 9.801X_4 + 0.577X_1X_2 + 3.472X_1X_3 - 15.66X_1X_4 + 3.427X_2X_3 - 0.638X_2X_4 - 14.23X_3X_4 - 31.25X_1^2 - 9.583X_2^2 - 17.96X_3^2 - 23.87X_4^2$$

Safrari

$$Y = 64.25 + 22.5X_1 - 5.484X_2 - 1.182X_3 + 3.636X_4 + 9.237X_1X_2 + 10.219X_1X_3 - 1.576X_1X_4 - 5.437X_2X_3 + 3.470X_2X_4 + 8.655X_3X_4 - 3.75X_1^2 - 5.083X_2^2 - 0.169X_3^2 - 8.796X_4^2$$

S.35

$$Y = 78.25 + 20.6X_1 - 0.461X_2 - 0.816X_3 + 8.217X_4 + 13.279X_1X_2 + 6.342X_1X_3 - 13.44X_1X_4 - 1.536X_2X_3 - 0.822X_2X_4 + 1.147X_3X_4 - 22.75X_1^2 - 13.08X_2^2 - 7.692X_3^2 - 8.508X_4^2$$

Il s'agit pour ce cas d'espèce d'équations du second degré avec interactions, ces équations sont sur le plan structurel identique. Une vue d'ensemble permettant de comparer les résultats expérimentaux et ceux des modèles est représentée dans le tableau 11.

Tableau 11 : Récapitulatif des volumes expérimentaux et théoriques.

X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	<u>Madjeru</u>			<u>Safrari</u>			<u>S.35</u>		
				Exp	Théo	Rés	Exp	Théo	Rés	Exp	Théo	Rés
1.000	0.000	0.000	0.000	68	65	3	85	83	2	76	76,1	-0,1
-1.000	0.000	0.000	0.000	24	27	-3	36	38	-2	35	34,9	0,1
0.500	0.866	0.000	0.000	61	60,405	0,595	67	70,001	-3,00	77	78,404	-1,40
-0.500	-0.866	0.000	0.000	64	64,596	-0,59	60	56,999	3,001	60	58,602	1,398
0.500	-0.866	0.000	0.000	84	83,097	0,903	71	71,5	-0,5	69	67,702	1,298
-0.500	0.866	0.000	0.000	40	40,905	-0,90	40	39,502	0,498	45	46,304	-1,30
0.500	0.289	0.816	0.000	55	57,088	-2,08	75	75,698	-0,69	80	79,993	0,007
-0.500	-0.289	-0.816	0.000	63	60,885	2,115	59	58,297	0,703	61	60,991	0,009
0.500	-0.289	-0.816	0.000	74	76,885	-2,88	71	69,789	1,211	77	72,579	4,421
0.000	0.577	-0.816	0.000	61	60,29	0,71	64	62,805	1,195	70	69,897	0,103
-0.500	0.289	0.816	0.000	38	35,088	2,912	41	42,19	-1,19	46	50,381	-4,38
0.000	-0.577	0.816	0.000	60	60,685	-0,68	66	67,205	-1,20	69	69,097	-0,09
0.500	0.289	0.204	0.791	55	56,459	-1,45	75	73,301	1,699	81	79,483	1,517
-0.500	-0.289	-0.204	-0.791	35	33,458	1,542	47	48,7	-1,7	45	46,483	-1,48
0.500	-0.289	-0.204	-0.791	63	63,97	-0,97	65	67,693	-2,69	67	72,583	-5,58
0.000	0.577	-0.204	-0.791	42	42,372	-0,37	53	51,701	1,299	65	62,394	2,606
0.000	0.000	0.612	-0.791	49	49,078	-0,07	54	50,894	3,106	67	62,491	4,509
-0.500	0.289	0.204	0.791	50	48,971	1,029	50	47,293	2,707	70	64,383	5,617
0.000	-0.577	0.204	0.791	70	69,565	0,435	62	63,299	-1,29	73	75,592	-2,59
0.000	0.000	-0.612	0.791	76	75,876	0,124	55	58,093	-3,09	72	76,489	-4,48
0.000	0.000	0.000	0.000	78	77,25	0,75	63	64,25	-1,25	79	78,25	0,75
0.000	0.000	0.000	0.000	79	77,25	1,75	65	64,25	0,75	77	78,25	-1,25
0.000	0.000	0.000	0.000	75	77,25	-2,25	63	64,25	-1,25	77	78,25	-1,25
0.000	0.000	0.000	0.000	77	77,25	-0,25	66	64,25	1,75	80	78,25	1,75

Exp : Volumes expérimentaux en ml.

Théo : Volumes théoriques (Obtenus à partir des modèles) en ml.

Rés : Différence entre volumes expérimentaux et théoriques

III-4-3) Analyse de la variance

L'analyse de la variance pour chaque variété est consignée aux tableaux 12, 13 et 14.

Les tableaux 12, 13 et 14 montrent que, les erreurs que l'on commet pour l'adoption des modèles (résidus) de Madjeru, Safrari et S.35 sont inférieures à 1%. Ceci amène à dire que, les modèles mathématiques obtenus représenteraient bien les phénomènes observés c'est à dire, suivraient bien l'évolution des volumes de filtration observée au tableau 10.

Les tableaux 12 et 13 montrent que, l'erreur imputable au manipulateur (erreur) est insignifiante. Cela voudrait dire que pour Madjeru et Safrari, l'erreur commise dans le suivi du phénomène est globalement imputable à l'erreur systématique.

Le tableau 14 montre que, l'erreur imputable au manipulateur (erreur) est inférieure à 1%. Il deviendrait donc logique de dire en d'autres termes que, l'erreur commise lors de la manipulation a un impact (inférieur à 1%) sur l'erreur commise lors de l'élaboration du modèle de la variété S.35.

Compte tenu de fait que les erreurs sont faibles, la conclusion partielle est de dire que, les modèles obtenus pour les trois variétés de sorgho représenteraient les phénomènes expérimentaux de façon satisfaisante.

TABLEAU 12 : ANALYSE DE VARIANCE POUR LA VARIETE MADJERU

Source de variation	Somme des carrés	Degrés de liberté	Carré moyen	F calculé	Signification
Régression	92284,45	14	6591,74	948,45	***
Résidus	62,55	9	6,95		
Validité	53,80	6	8,96	3,08	ns
Erreur	8,75	3	2,91		
Total	92347	23			

Tableau 13 : Analyse De Variance Pour La Variete Safrari

Source de variation	Somme des carrés	Degrés de liberté	Carré moyen	F calculé	Signification
Régression	91120,05	14	6508,57	706,68	***
Résidus	82,95	9	9,21		
Validité	76,20	6	12,7	5,64	ns
Erreur	6,75	3	2,25		
Total	91203	23			

Tableau 14 : Analyse De Variance Pour La Variete S.35

Source de variation	Somme des carrés	Degrés de liberté	Carré moyen	F calculé	Signification
Régression	112669,95	14	8047,85	416,14	***
Résidus	174,05	9	19,33		
Validité	167,30	6	27,88	12,39	**
Erreur	6,75	3	2,25		
Total	112844	23			

*** $P \leq 0,001$

** $P \leq 0,01$

ns : non significatif

III-4-4) Compréhension et explicitation des modèles

Les figures 11, 12 et 13 représentent la contribution de chaque élément des modèles mathématiques. Elles sont tracées à partir des coefficients des modèles. La somme totale des coefficients de chaque modèle correspondant à 100%, la valeur de chaque coefficient représentant un pourcentage. On peut mieux visualiser l'effet de chaque facteur ainsi que celui des interactions.

A l'observation du modèle, on constate de manière individuelle que les facteurs X_1 et X_4 , correspondant à l' α -amylase et la β -amylase respectivement ont un coefficient positif. Cela signifie que les deux enzymes ont une action positive sur le comportement global du modèle. En effet, ces enzymes sont responsables de la solubilisation de l'amidon, scindant cette macromolécule en sucres moins complexes (maltose, glucose entre autre). La conséquence directe de cette action étant, l'obtention d'une maische plus fluide donc plus facile à filtrer. Une augmentation du volume de filtrat passerait par un accroissement des quantités de ces deux enzymes pendant le brassage. Cette

tendance est identique pour les trois variétés de sorgho. Les figures 11, 12 et 13 confirment ce fait en précisant les contributions. Ainsi, pour l' α -amylase et la β -amylase on a : (11%, 26%, 18%) et (6%, 4%, 7%) respectivement.

Les facteurs X_2 et X_3 correspondant respectivement à la filtrase et à la protéase ont un coefficient négatif. Ceci signifie que ces deux enzymes ne participent pas de façon directe à la liquéfaction de l'amidon. Leur action spécifique sur la cellulose et la matrice protéique, ne permet pas une réduction importante de la viscosité de la maische. Ce coefficient négatif traduirait une inhibition qui, pourrait due à un encombrement stérique ou difficulté de la diffusion du substrat vers le site actif des amylases. La diminution de la concentration de ces deux enzymes va vraisemblablement augmenter le volume de filtrat. Il faudrait faire attention car leur contribution respective est de 8% et 6% pour la filtrase (Madjeru et Safrari). Elle est également de 5% pour la protéase (Madjeru).

L'interaction X_1X_2 correspondant à celle entre l' α -amylase et la filtrase a un coefficient positif. Ceci pourrait s'expliquer par une complémentarité entre ces deux enzymes. En effet l'action hydrolytique de la filtrase sur les parois cellulaires, expose d'avantage les granules à l'attaque par l' α -amylase. Le volume du filtrat de la variété Madjeru et contrairement à Safrari et S.35 n'est pas fortement influencé par l'interaction. Ceci laisserait donc penser qu'il y aurait une différence quant à la structure des parois cellulaires entourant les granules d'amidon entre Madjeru et les deux autres variétés. Quant à Safrari et S.35, on pourrait entrevoir entre eux un rapprochement structurel de même ordre. La tendance à la contribution positive globale (0%, 10% et 11%) est due à l'action de l' α -amylase sur l'amidon. La conséquence étant une baisse de la viscosité donc une filtration plus aisée.

L'interaction X_1X_3 correspondant à celle entre l' α -amylase et la protéase a un coefficient positif. Il s'agit là d'une contribution positive globale de l'ordre de 2%, 11% et 5% respectivement pour les variétés Madjeru, Safrari et S.35. La complémentarité pourrait comme dans le cas précédent, expliquer ce phénomène. En effet, la protéase de part son action sur la matrice protéique, ouvrirait une voie pour permettre la dégradation de l'amidon par l' α -amylase. La conséquence est comme dans la cas précédent une réduction de la viscosité et donc une filtration facilitée. A l'observation des modèles, on pourrait dire que Safrari est la variété qui bénéficierait le plus de la complémentarité enzymatique entre l' α -amylase et la protéase. Ceci s'explique tout simplement par le fait le coefficient de l'interaction X_1X_3 du modèle de Safrari est le plus élevé.

L'interaction X_1X_4 correspondant à celle entre l' α -amylase et la β -amylase a un coefficient négatif, la contribution respective pour les variétés Madjeru, Safrari et S.35 étant de 9%, 2% et 11%. Ceci paraît paradoxal dans la mesure où il s'agit des deux enzymes responsables de la solubilisation de l'amidon. L'hypothèse formulable serait que, l'amidon des céréales (sorgho) serait renfermé dans une sorte de matrice protectrice. Ceci entre en conformité avec les travaux de Aisien et *col* (1985) qui, ressort dans l'ultra structure du sorgho la présence matrice protectrice complexe (composé de polysaccharide cellulosique, de protéine, de lipide). Les enzymes étant reconnues par leur action spécifique, il devient donc impossible pour ces deux enzymes d'attaquer l'amidon, parce que la matrice protéo-cellulosique n'est pas hydrolysée dans ce contexte.

Les facteurs X_1^2 , X_2^2 , X_3^2 et X_4^2 correspondant aux comportements respectifs de l' α -amylase, de la filtrase, des protéases et de la β -amylase ont chacun un coefficient négatif. Les facteurs X_1 et X_4 bien qu'étant à contribution positive au premier degré, ont une contribution négative au second degré. Ceci amène à dire que, bien qu'il faille augmenter les quantités de ces enzymes (α -amylase et β -amylase) pour améliorer la filtration, il faudrait éviter leur apport en excès. Les deux autres facteurs (X_2 et X_4) nécessitent une prudence évidente (bien que jouant un rôle primordial dans la désagrégation des matrices protégeant l'amidon) car étant négatif au premier et au second degré. En effet, les graphes 5, 6 et 7 justifient de part les contributions respectives à savoir : 19% (X_1^2), 6% (X_2^2), 10% (X_3^2) et 14% (X_4^2) pour Madjeru, 4% (X_1^2), 6% (X_2^2), 0% (X_3^2) et 10% (X_4^2) pour Safrari et 20% (X_1^2), 11% (X_2^2), 6% (X_3^2) et 7% (X_4^2) pour S.35.

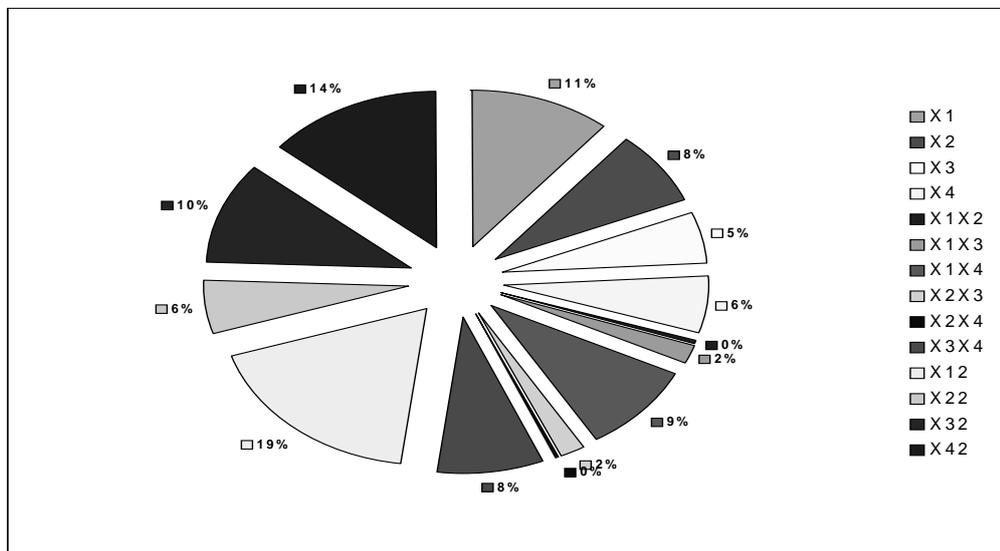


Figure 11: Contribution des éléments du modèle sur le comportement global (Madjeru)

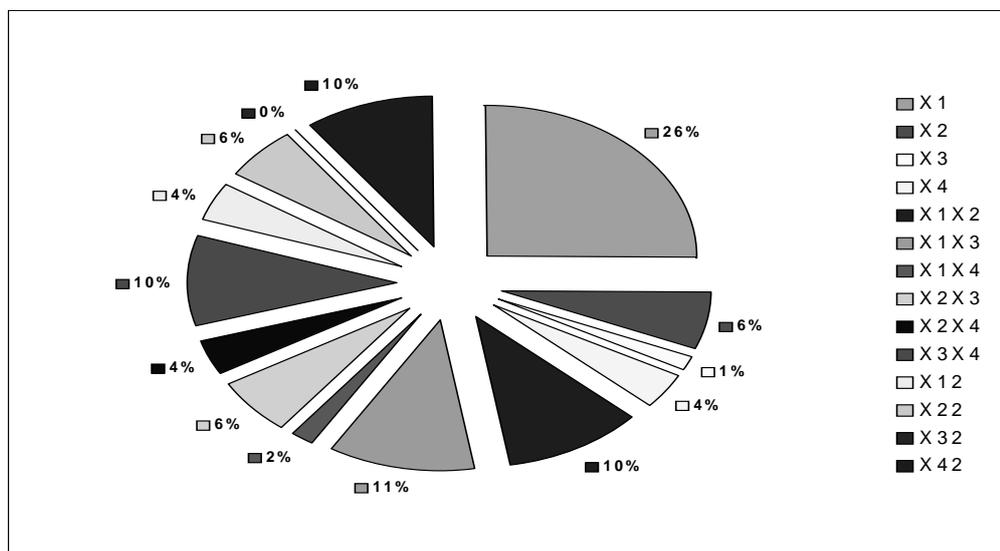


Figure 12: Contribution des éléments du modèle sur le comportement global (Safrari)

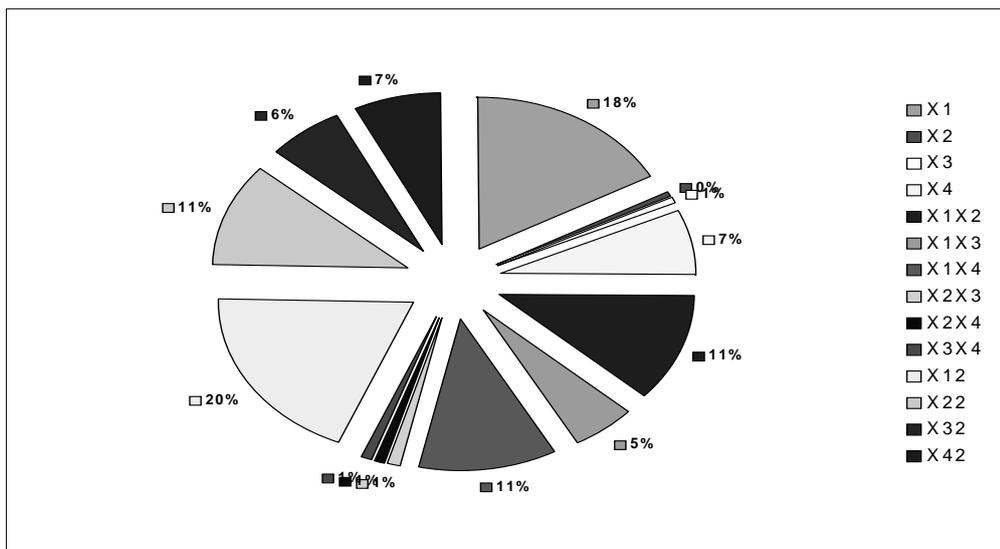


Figure 13: Contribution des éléments du modèle sur le comportement global (S.35)

III-4-5) Optimisation du modèle mathématique de chaque variété de sorgho

Les Optimums des modèles mathématiques obtenus de façon théorique par le logiciel MathSoft Apps dont le fonctionnement est le suivant :

$$f(X_1, X_2, X_3, X_4) = 77.25 + 19X_1 - 13.39X_2 - 9.226X_3 + 9.801X_4 + 0.577X_1X_2 + 3.472X_1X_3 - 15.66X_1X_4 + 3.427X_2X_3 - 0.638X_2X_4 - 14.23X_3X_4 - 31.25X_1^2 - 9.583X_2^2 - 17.96X_3^2 - 23.87X_4^2$$

$$X_1 = -1 \quad X_2 = -0.866 \quad X_3 = -0.816 \quad X_4 = -0.791$$

Given

$$-1 \leq X_1 \leq 1$$

$$-0.866 \leq X_2 \leq 0.866$$

$$-0.816 \leq X_3 \leq 0.816$$

$$-0.791 \leq X_4 \leq 0.791$$

P= Maximize (f, X₁, X₂, X₃, X₄)

Une fois ceci fait, le logiciel renvoie en réponse la combinaison qui donne un volume optimal. Ainsi, pour ce cas de figure on aura :

$$P = (0.205, -0.777, -0.419, 0.273)$$

$$F(0.205, -0.777, -0.419, 0.273) = 87.672$$

Les figures 14a, 15a et 16a montrent la représentation en trois dimensions des modèles.

Les figures 14a et 16a laissent apparaître une courbe en cloche. Ceci amène à penser que, l'optimum de combinaison enzymatique qui est relié à l'optimum de volume de moût, a été couvert par les plages expérimentales. Il serait dès lors pour ces cas possibles de dire avec exactitude où se trouverait le domaine optimal. Il ressort après utilisation du logiciel Math soft que :

Madjeru

Le maximum théorique est la combinaison réduite **(0,205 ; -0,777 ; -0,419 ; 0,273)** représentant respectivement l' α -amylase, la filtrase, la protéase et la β -amylase. Ce qui donne en variables réelles la combinaison suivante : **(15,06 mg; 0,51 mg; 24,32mg; 53,80 U)**. Ainsi le volume optimal théorique est **87,7 ml**.

Le maximum théorique est la combinaison réduite **(0,521 ; 0,236; 0,143 ; 0,069)** représentant respectivement l' α -amylase, la filtrase, la protéase et la β -amylase. Ce qui donne en variables réelles la combinaison suivante : **(19,01 mg; 6,36 mg; 58,76 mg; 43,48 U)**. Ainsi le volume optimal théorique est **83,8 ml**.

La figure 15a quant à lui ne présente pas clairement l'aspect en cloche. Il devient donc assez compliqué de dire avec certitude quel serait le comportement de la courbe au-delà de la plage utilisée. Il ressort du logiciel que :

Safrari

Le maximum théorique est la combinaison réduite **(1 ; 0,118 ; 0,816 ; 0,542)** représentant respectivement l' α -amylase, la filtrase, la protéase et la β -amylase. Ce qui donne en variables réelles la combinaison suivante : **(25 mg; 5,68 mg; 100 mg; 67,4 U)**. Ainsi le volume optimal théorique est **94 ml**.

Les figures 14b et 16b confirment les résultats obtenus car, un positionnement permet de ce rendre compte que, les combinaisons obtenus pour Madjeru et S.35 se situent exactement au centre de la zone optimale des surfaces de réponses et, induisent un volume optimal.

La figure 15b quant à lui montre qu'il est assez difficile de se prononcer sur l'optimisation complète de la filtration du moût de Safrari. Il est important de mentionner que, la combinaison obtenue se situe bien dans zone surfacique optimale. Le volume théorique obtenu de cette combinaison est supérieur aux volumes obtenus pendant les manipulations. D'où une optimisation dans les plages du domaine expérimental. Il faudrait par conséquent augmenter les concentrations enzymatiques ou le temps de filtration pour observer une courbe en cloche.

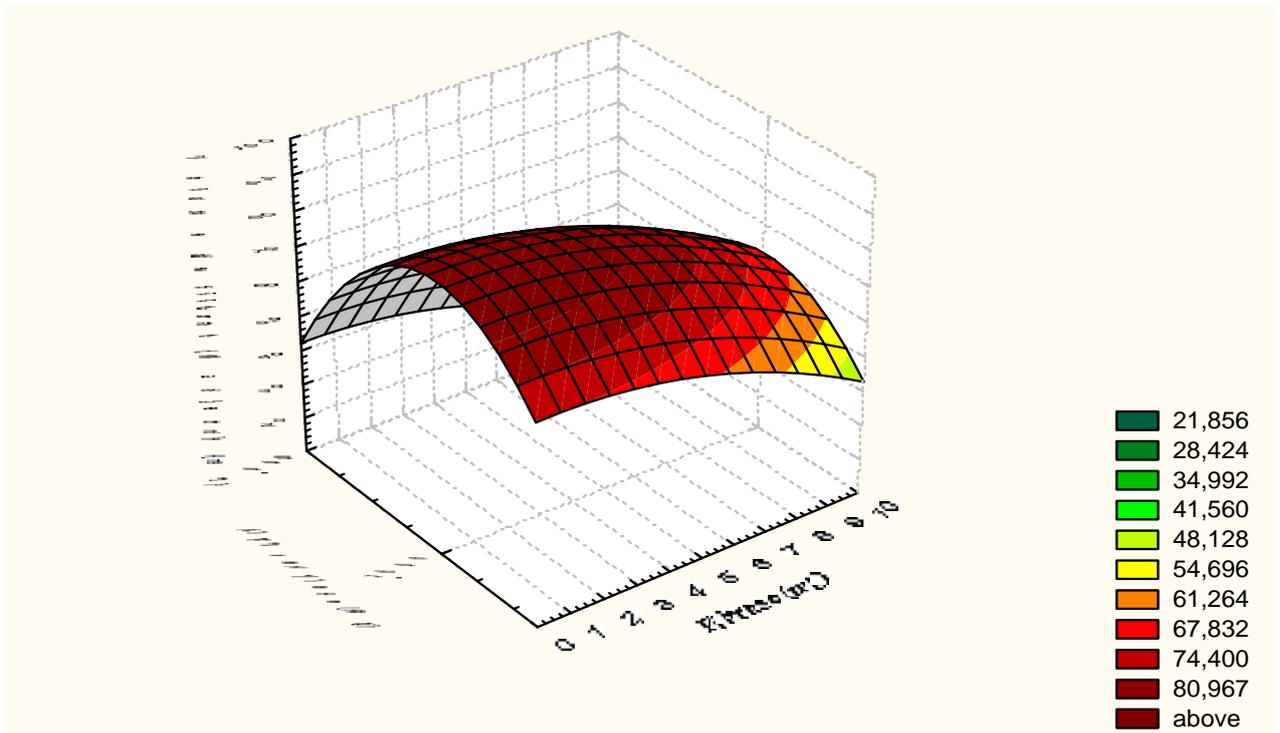


Figure 14a : Courbe du modèle mathématique de la filtration de Madjeru non malté. Protéase et β -amylase constantes respectivement 24,32mg et 53,80U

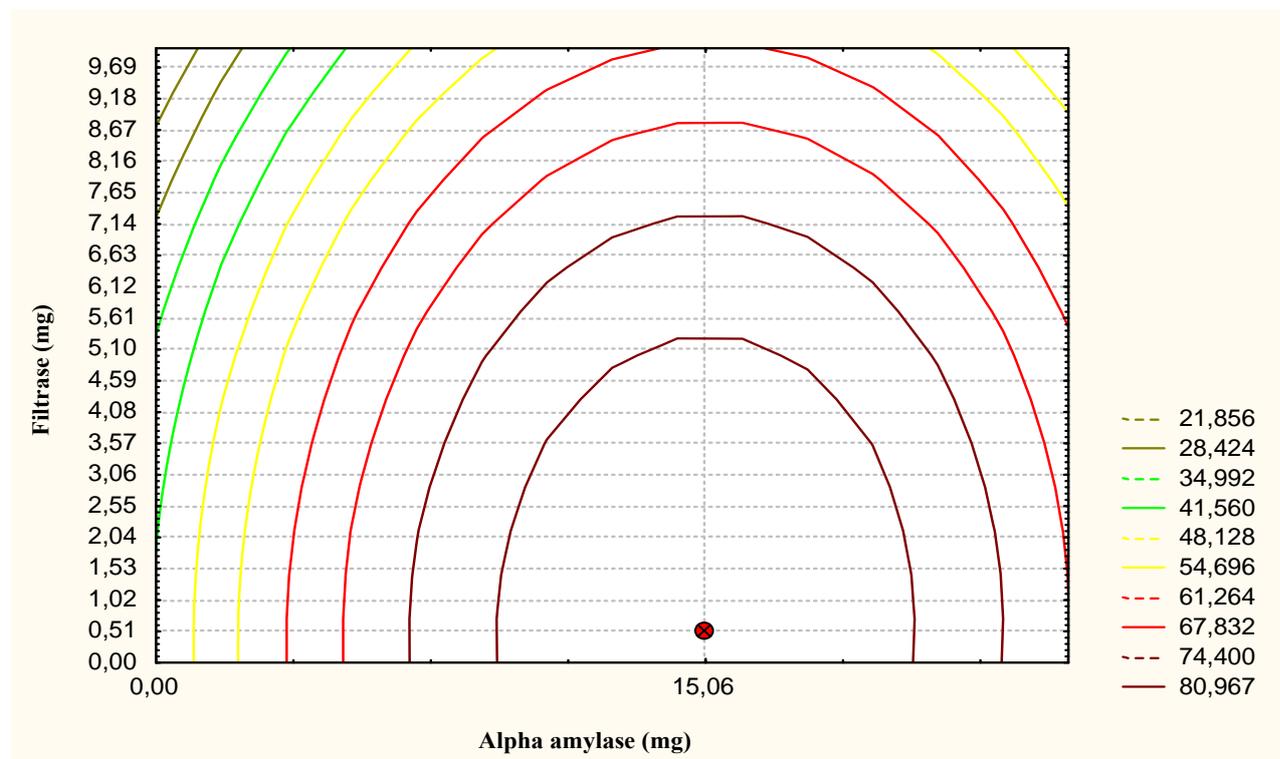


Figure 14b : Surfaces de réponses de la filtration de Madjeru non malté
Protéase et β -amylase constantes respectivement 24,32mg et 53,80U

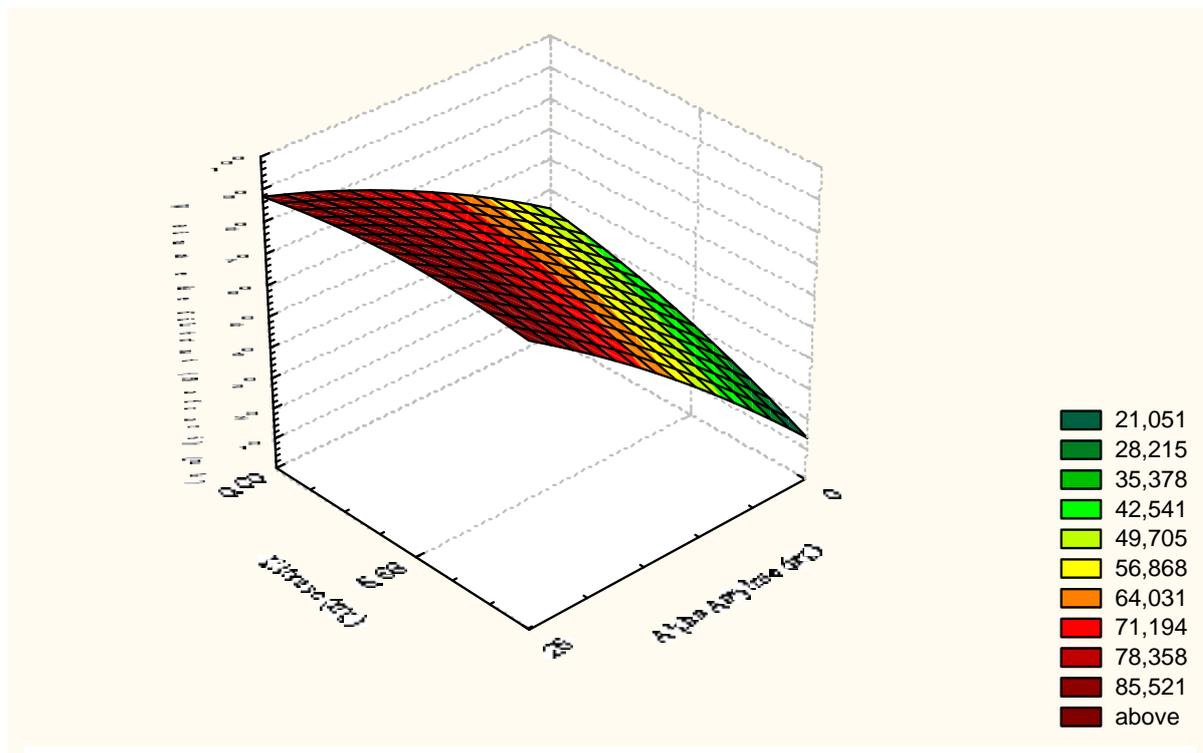


Figure 15a : Courbe du modèle mathématique de la filtration de Safrafi non malté. Protéase et β -amylase constantes respectivement 100 mg et 67,4 U

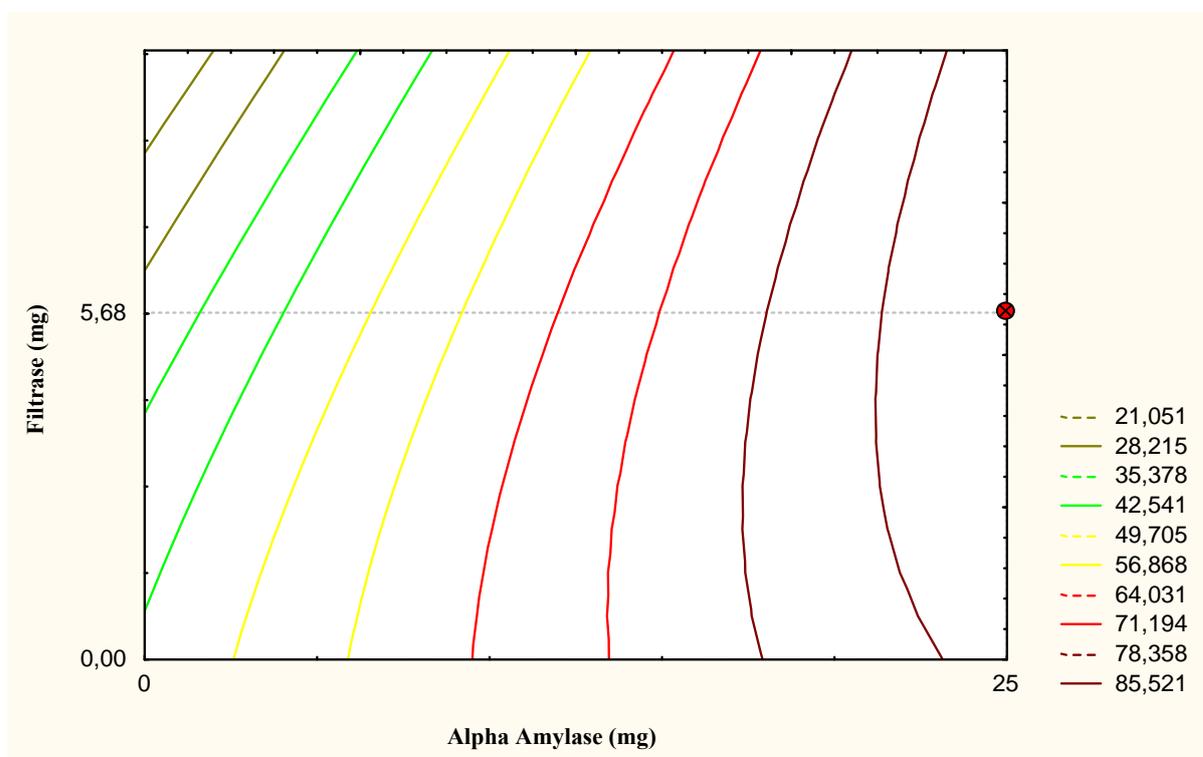


Figure 15b : Surfaces de réponses de la filtration de Safrafi non malté Protéase et β -amylase constantes respectivement 100 mg et 67,4 U

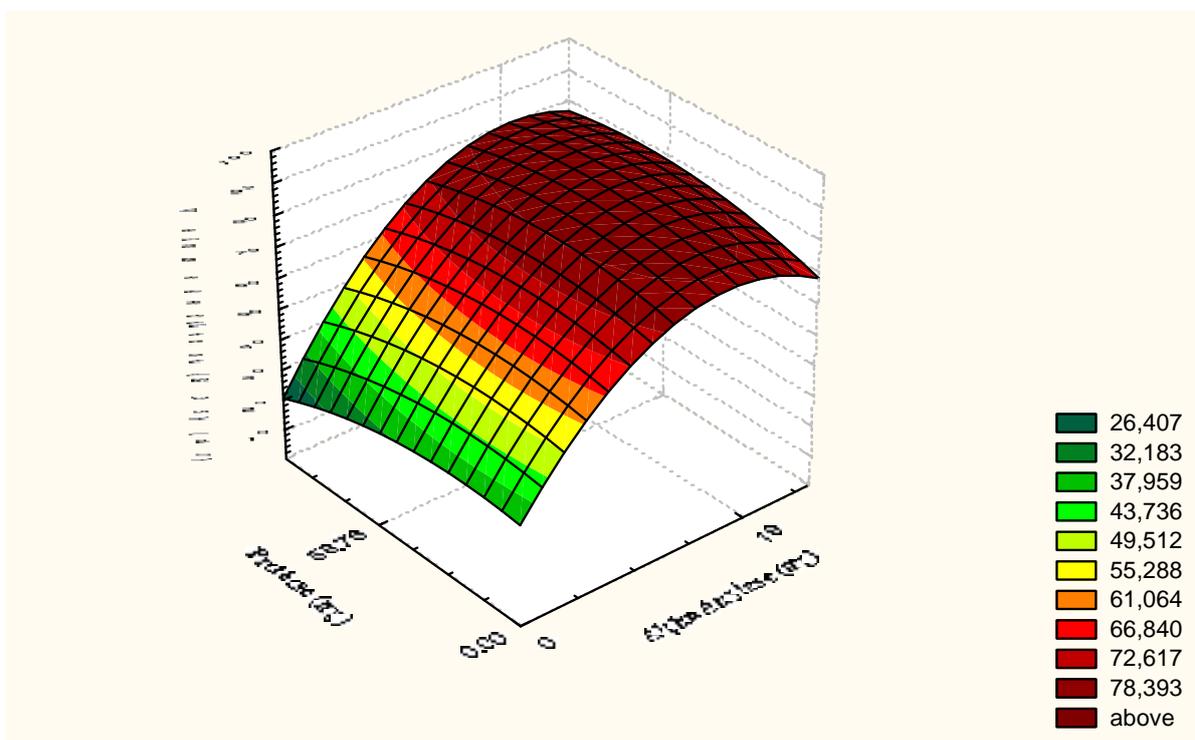


Figure 16a : Courbe du modèle mathématique de la filtration de S.35 non malté. Filtrase et β -amylase constantes respectivement 6,36 mg et 43,48 U

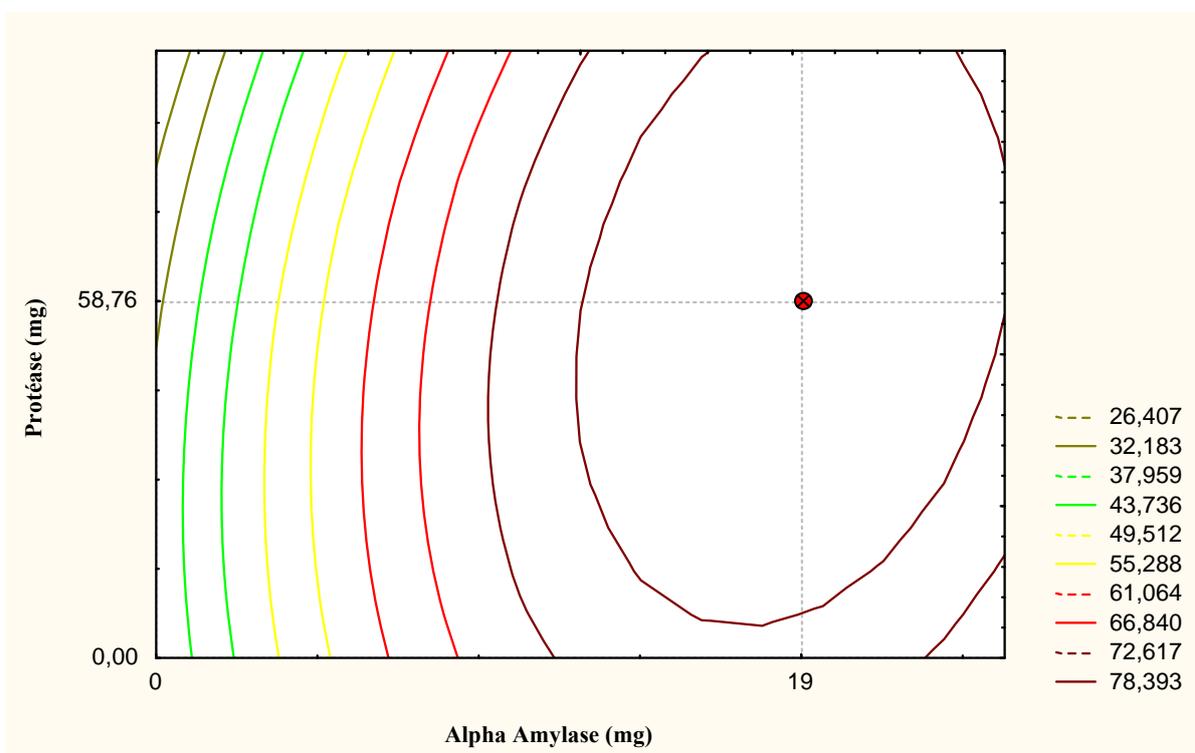


Figure 16b : Surfaces de réponses de la filtration de S.35 non malté
Filtrase et β -amylase constantes respectivement 6,36 mg et 43,48 U

III-4-6) Validation du modèle mathématique de chaque variété de sorgho

Les tableaux 15 et 16 présentent les volumes de filtrats obtenus respectivement des expériences et des modèles. On note une légère différence entre ces valeurs, différence observable au tableau 17. Pour la variété Madjeru, cet écart se situe entre 1,7 et 3% par rapport aux volumes théoriques. Pour Safrari, on a un écart situé entre 2 et 3,7%. Quant à S.35, l'écart se situe entre 0,1 et 3,4%. D'une manière globale, l'écart est de l'ordre de 0,1 à 3,7%. Compte tenu des performances élevées, il pourrait être conclu que, les modèles mathématiques élaborés décriraient de manière satisfaisante les phénomènes observés. Il est cependant assez compliqué de dire lequel des modèles est le plus performant.

Les figures 17 à 19 qui représentent le tracé des réponses expérimentales en fonction des réponses théoriques permettent de classer les modèles par degré de performance et évite de rentrer au laboratoire pour la validation des modèles ceci, par simple comparaison ou lecture (si un seul modèle est obtenu) des coefficients de corrélation. Ainsi, on peut dire que le modèle de Madjeru ($R = 0,994$) est plus fiable que celui de Safrari ($R = 0,987$) et celui de S.35 ($R = 0,976$). Ces conclusions étaient amorcées par l'analyse de variance mais, il était cependant difficile de classer Madjeru et Safrari.

TABLEAU 15 : VOLUMES OBTENUS EN FONCTION DES COMBINAISONS ENZYMATIQUES NON TESTEES DANS LA MATRICE D'EXPERIENCES.

X_1	X_2	X_3	X_4			
α -amylase (mg)	Filtrase (mg)	Protéases (mg)	β -amylase (U)	<u>MADJERU</u> (ml)	<u>SAFRARI</u> (ml)	<u>S.35</u> (ml)
15,06	0,51	24,32	53,8	85		
25	5,68	100	67,4		90	
19,01	6,36	58,76	43,48			81
20	4,2	36,6	55,8	77	71	81
23,8	4,25	12,2	27,8	67		
19,8	4,25	85,4	55,65		83	
27,8	4,25	36,6	27,8			78
25	0	0	0	67	85	76
18,75	0	0	0		73	80

TABLEAU 16 : VOLUMES THEORIQUES CALCULES A PARTIR DES MODELES MATHEMATIQUES

X_1	X_2	X_3	X_4			
α -amylase (mg)	Filtrase (mg)	Protéases (mg)	β -amylase (U)	<u>MADJERU</u> (ml)	<u>SAFRARI</u> (ml)	<u>S.35</u> (ml)
15,06	0,51	24,32	53,8	87,7		
25	5,68	100	67,4		92,7	
19,01	6,36	58,76	43,48			83,79
20	4,2	36,6	55,8	79	73,77	78,62
23,8	4,25	12,2	27,8	65,83		
19,8	4,25	85,4	55,65		80,43	
27,8	4,25	36,6	27,8			75,62
25	0	0	0	65	83	76,1
18,75	0	0	0		74,56	82,86

TABLEAU 17 : ECARTS ENTRE LES VOLUMES REELS ET LES VOLUMES ISSUS DES MODELES.

X_1	X_2	X_3	X_4	erreur	erreur	erreur
α -amylase (mg)	Filtrase (mg)	Protéases (mg)	β -amylase (U)	<u>MADJERU</u> (ml)	<u>SAFRARI</u> (ml)	<u>S.35</u> (ml)
15,06	0,51	24,32	53,8	2,7		
25	5,68	100	67,4		2,7	
19,01	6,36	58,76	43,48			2,79
20	4,2	36,6	55,8	2	2,77	2,38
23,8	4,25	12,2	27,8	1,17		
19,8	4,25	85,4	55,65		2,57	
27,8	4,25	36,6	27,8			2,38
25	0	0	0	2	2	0,1
18,75	0	0	0		1,56	2,86

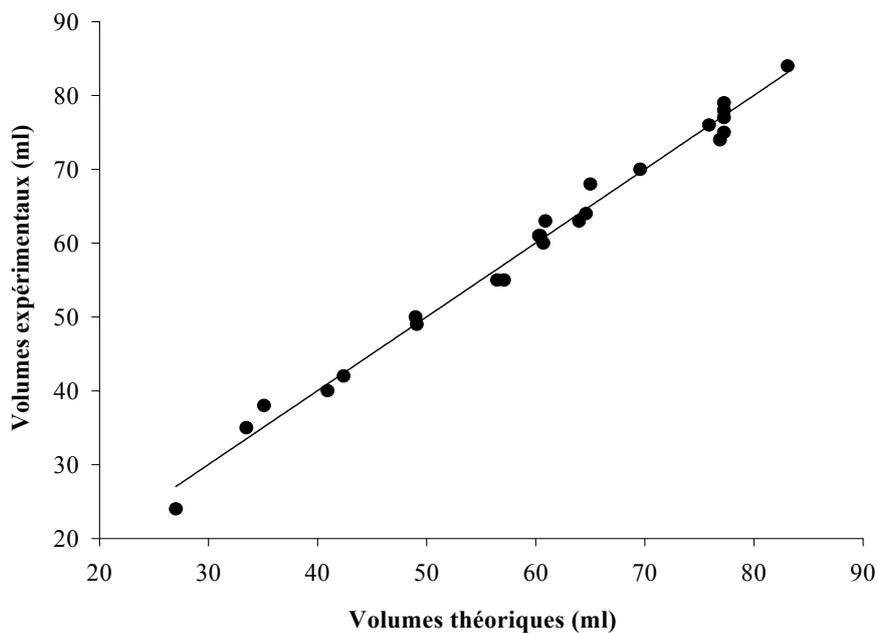


Figure 17 : Validation du modèle mathématique de la variété Madjeru ($R = 0,994$)

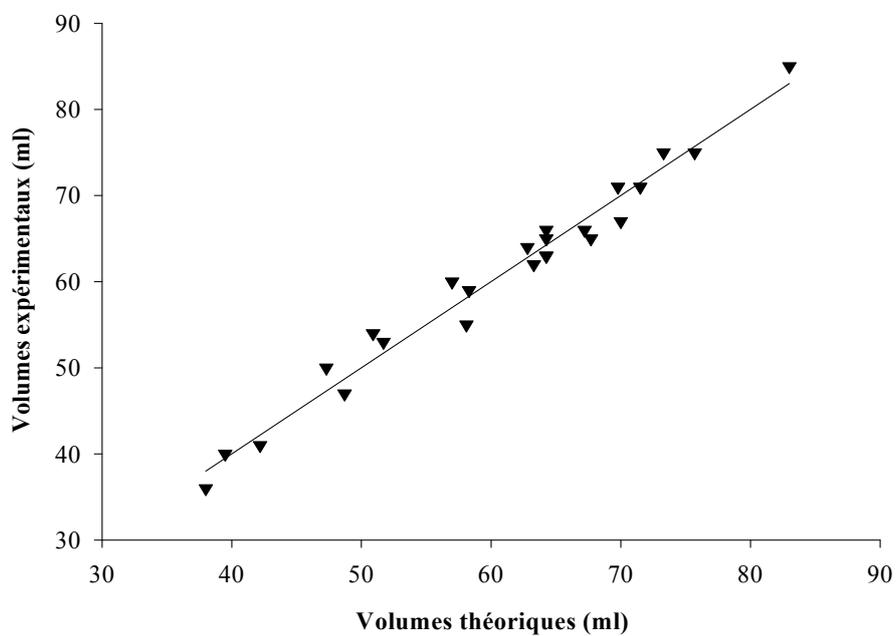


Figure 18 : Validation du modèle mathématique de la variété Safrari ($R = 0,987$)

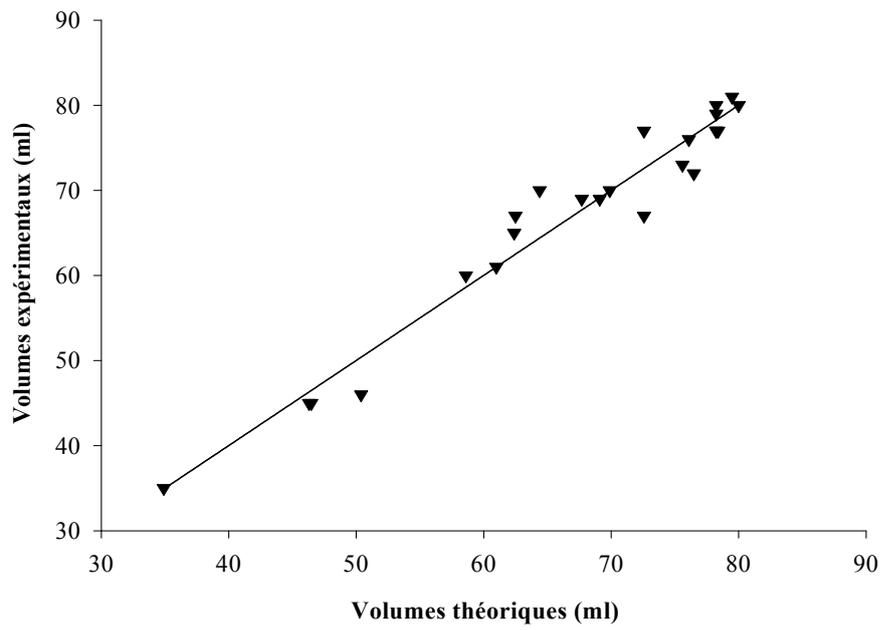


Figure 19 : Validation du modèle mathématique de la variété S.35 ($R = 0,976$)

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La teneur en eau de toutes les variétés de sorgho est inférieure à 13% d'où, la certitude d'une manipulation avec des lots n'ayant pas eu d'altération au cours de l'entreposage.

La capacité germinative (97% pour Madjeru, 95,33% pour Safrari et 96,66% pour S.35) confirme le bon état des lots avant la conservation.

La méthode de brassage par décantation des variétés de sorgho, utilisant la matrice d'expérience de Doehlert pour les combinaisons enzymatiques et, avec une filtration d'une heure de temps, a conduit aux performances appréciables traduisant ainsi, l'effet crucial et important des enzymes sur la filtrabilité des moûts. Madjeru ne présente ainsi plus de problème lié à la filtrabilité de sa maische. En effet au cours des manipulations sa filtrabilité a atteint 64,6% proche de celle de Safrari (65,4%) et S.35 (62,3%). Tout ceci par rapport au volume initial de maische qui a été de 130ml.

Les modèles mathématiques obtenus pour toutes les variétés de sorgho, sont du second degré avec interaction. En effet, de tous les modèles polynomiaux, le second degré avec interaction est celui qui a décrit le mieux le phénomène étudié. On note cependant des spécificités liées aux différences variétales.

L'analyse des modèles permet de dire que, pour toutes les variétés l' α amylase est l'enzyme qui, a la contribution la plus significative pour la facilitation de la filtration. La β amylase quant à elle, n'a pas besoin d'être en quantité importante pour achever le travail de liquéfaction de l'amidon, ceci est vrai pour toutes les variétés. Il faudrait tout de même faire attention car, on notera un comportement inverse en cas d'excès. Ceci s'observe au niveau de la contribution des amylases au second degré.

Pour un volume de filtrat nul en absence d'enzymes (amylases, protéase, filtrase), après 1 h de filtration et 130 ml de maische à filtrer, on atteint des volumes optimaux de 85 ml pour Madjeru, 90 ml pour Safrari et 81 ml pour S.35.

Le modèle de Madjeru est le fiable de tous ceux qui ont été obtenus ($R=0,994$) puis, vient celui de Safrari ($R=0,987$) et enfin celui de S.35 ($R=0,976$).

PERSPECTIVES

Il serait important pour avancer dans le domaine concernant les variétés Madjeru, Safrari et S.35, de faire un certain nombre de manipulations pour compléter ce travail. En effet, il serait question de faire les études suivantes :

Refaire le même travail (modèles mathématiques) en utilisant cette fois ci les grains maltés pour les mêmes variétés. Ceci permettra de faire une comparaison d'avec les variétés non maltées et, il sera en même temps possible de savoir, quelle pourra être la complémentation en enzymes exogènes pour effectuer un bon brassage avec les variétés étudiées.

Faire une analyse complète des moûts (variétés maltées et non maltées) pour être fixé sur la qualité finale de la bière.

Passer de l'échelle de laboratoire à l'échelle pilote et, voir si la modélisation obtenue peut être applicable.

Il faudrait pour finir, passer par la suite à l'étape de fermentation de ces moûts (variétés maltées et non maltées) pour l'obtention de la bière. L'intérêt serait à la fin de comparer les bières obtenues à partir des variétés étudiées (maltées et non maltées) d'avec la bière à base de malt d'orge.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1. 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 (1) pp. 63-68.
- 2. Agu R.C. and Palmer G.H., 1997.** The effect of temperature on the modification of sorghum and barley during malting. *Process-Biochemistry*. 32 (6) pp. 501-507.
- 3. Aisien, 1988.** Sorghum: A suitable source for brewing beer? *Brew. Distill. Int.* 3:20-22.
- 4. Aniche and Anih, 1994.** Malting properties of two sorghum cultivars and the effect of mashing schemes on their wort properties. *Process Biochemistry*, 29 (5) pp. 369-371.
- 5. Ayebo and Mutasa, 1988.** Fermentation of maize-based 'mahewu' in improving young child feeding in eastern and southern Africa. *International Development Research Centre*, pp. 174-180.
- 6. Balvais G., Leclerc D., 1986.** Washing and compression dewatering of brewing mash. In *Monograph XI. European Brewing Convention*. pp 52-58.
- 7. Bamforth C.W., Martin H.L., 1983.** The degradation of beta-glucan during malting and mashing: the role of beta-glucanases. *J. Inst. Brew.*, 89 pp. 303-307.
- 8. BIOS, 1984.** Les enzymes de l'orge à la bière. 15 (11) p. 25.
- 9. BIT, 1986.** Le stockage du grain. *Serie technologie, dossier technique n°11, CH 1211 Genève* 22. chap 1 p 27.
- 10. Boivin P., Martel C., 1991.** Proteolysis during malting. *Ferment.*, 3 pp. 182-186.
- 11. Bourne D.T., Pierce J.S., 1970.** Beta-glucan and beta-glucanase in barley. *J. Inst. Brew.*, 76 pp.328-335.
- 12. Briggs, D.E., Hough, J.S., Stevens, R. and Young, T.W., 1981.** The chemistry and biochemistry of mashing. In: *Malting and Brewing Science*, 2nd ed., Chapman and Hall: London, pp. 105, 279–280.
- 13. Briggs D.E., 1995.** in *Pauls Brewing Room Book*, 84th ed, p. 31, Pauls Malt, Ipswich, UK.
- 14. Briggs D.E., 1998.** *Malt and malting*. Blackie Academic and Professional. London, pp. 729-734.
- 15. Demuyakor B., Ohta Y., Nakatoni K., Fukai N., Kanagaxa, 1994.** Brewing beer with sorghum vulgare malt with minimal barley malt blending. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 52 (3) pp. 111-115.
- 16. Duffus C.M., Cochrane M.P., 1992.** Grain structure and composition. In *Barley: Genetics-Biochemistry, Molecular Biology and Biotechnology*. Shewry P.R. ed., pp. 291-317.
- 17. Duffour and Melotte, 1992.** Sorghum malts for the production of a lager beer. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. 50 (3) pp. 110-119.

- 18. Glennie C.W., Harris J, Liebenberger N.V.D.W, 1983.** Endosperm modification in germinating sorghum grain. *Cereal Chem.* 60, pp. 27-31.
- 19. Grime K.H. and Briggs D.E., 1996.** *J. Inst. Brew.*, 102, p.261
- 20. Helmut Uhlig, 1998.** *Industrial enzymes and their applications.* Wiley-Interscience.
- 21. Hough J.S., 1985.** *The biotechnology of malting and brewing.* Cambridge University Press, pp. 28-33.
- 22. Ilori M.O, Ogundiwin J.O, Adewusi S.R.A, 1991.** Sorghum malt brewing with sorghum/maize adjuncts. *Brew. Distill. Int.* 22 (3) pp. 10-13.
- 23. Larreta-Garde V., 1997.** *Enzymes en agroalimentaires.* Collection Sciences et Techniques Agroalimentaires. Lavoisier, Tec et Doc.,pp. 139-163.
- 24. Letters 1985.** The complexity of beer beta glucans. *European Brewing Convention Proceeding of the 20th congress, (Helsinki),* pp. 395-402.
- 25. Lucie Randoin 1982.** *Table de composition des aliments.* Institut Scientifique d'Hygiène Alimentaire. p. 58.
- 26. Mac Cleary B.V., 1986.** Enzymatic hydrolysis and industrial importance of barley beta glucans and wheat flour pentosan. *Starch/Starke*, 12, pp. 433-437.
- 27. MacGregor A.W., Macri L.J., Bazin S.L., Sadler G., 1995.** *Proc. 25th Congr. EBC, Brussels,* p. 185.
- 28. Maeda 1979.** *Carbohydrate Research*, 61, p. 309.
- 29. Mathieu et Phan-Tan-Luu, 1995.**
- 30. Morrall P., Boyd H.K., Taylor J.R.W., Van der Walt W.H., 1986.** Effect of germination time, temperature and moisture on malting of sorghum. *J. Inst. Brew.* 92, pp. 439-445.
- 31. Novellie L., 1977.** Beverages from sorghum and millets. In *Proceedings of a Symposium on Sorghum and Millets for Human Food.* Tropical Products Institute, London, pp. 73-77.
- 32. Nso E.J., 2002.** rapport GPRU
- 33. Nso E.J., Ajebesone P.E., Mbofung C.M. and Palmer G.H., 2003.** Properties of three sorghum cultivars used for the production of bili-bili beverage in northern Cameroon. *J. Inst. Brew.* 109(3) 245-250.
- 34. Ogundiwin and Ilori, 1991.** Development of stout from sorghum malt. *Lebensmittel-Wissenschaft-und-Technology*, 24 (2) pp. 182-185.
- 35. Okensen and al., 1985.** Microbial cellulase for improving filterability of wort and beer. *European Brewing Convention Proceeding of the 20th congress, (Helsinki),* pp. 419-425.
- 36. Palmer G.H., 1989.** *Cereals in malting and brewing.* In *Cereal Science and Technology.*, Palmer ed., Aberdeen University Press London.

- 37. Palmer G.H., Bathgate G.N., 1976.** Malting and Brewing. In *Recent Advances in Cereal Science and Technology.*, Y. Pomeranz., American Society of Cereal Chemists, St Paul MN., 1, pp. 227-234.
- 38. Pomeranz Y., 1984.** *Modern cereal science and technology.* VCH Publishers. p 403.
- 39. Purseglove J.W., 1985.** *Tropical Crops Monocotyledon.* Longman group limited. pp. 259-287.
- 40. Saulnier L., Gevaudan S., Thibault J.F., 1994.** Extraction and partial characterization of beta glucan from endosperms of two barley cultivars. *J. Cereal Sci.*, 19, pp. 171-178.
- 41. Seidl P., 1992.** African sorghum-an alternative raw material for the malting and brewing industry. *Brauwelt.* 132 (16/17) 688, 691, 694, 696, 698, 700.
- 42. Serre L., Laurière C., 1989.** *Sciences Alimentaires*, 9, p. 645.
- 43. Sissons M.J., MacGregor A.W., 1994.** Hydrolysis of barley starch granules by alpha glucosidases from malt. *J. Cereal. Sci.*, 19, pp.161-169.
- 44. Sun Z., Henson C.A., 1996.** *Plant Physiology*, 94, p. 320.
- 45. Taylor J.R.N., Dewar, 1994.** Role of alpha glucosidase in the fermentable sugar composition of sorghum malt mashes. *Cereals Food Res. Unit, Dep. Of Food Sci.*