

Valorisation des produits forestiers non ligneux dans la formulation de boisson fermentée de type kombucha.

Auteur : Lo Guasto, Lola

Promoteur(s) : Haubrige, Eric

Faculté : Gembloux Agro-Bio Tech (GxABT)

Diplôme : Master en bioingénieur : sciences agronomiques, à finalité spécialisée

Année académique : 2024-2025

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/24096>

Avertissement à l'attention des usagers :

Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative" (BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.

Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.

VALORISATION DES PRODUITS FORESTIERS NON LIGNEUX DANS LA FORMULATION DE BOISSON FERMENTÉE DE TYPE KOMBUCHA

LOLA LO GUASTO

**TRAVAIL DE FIN D'ÉTUDES PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE
MASTER BIOINGÉNIEUR EN SCIENCES AGRONOMIQUE**

ANNÉE ACADEMIQUE 2024-2025

PROMOTEUR : HAUBRUGE ERIC

Copyright©. Toute reproduction du présent document, par quelque procédé que ce soit, ne peut être réalisée qu'avec l'autorisation de l'auteur et de l'autorité académique de Gembloux Agro - Bio Tech. Le présent document n'engage que son auteur.

VALORISATION DES PRODUITS FORESTIERS NON LIGNEUX DANS LA FORMULATION DE BOISSON FERMENTÉE DE TYPE KOMBUCHA

LOLA LO GUASTO

**TRAVAIL DE FIN D'ÉTUDES PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE
MASTER BIOINGÉNIEUR EN SCIENCES AGRONOMIQUE**

ANNÉE ACADEMIQUE 2024-2025

PROMOTEUR : HAUBRUGE ERIC

Ce travail de fin d'études a été réalisé au Smart Gastronomy Lab, au Laboratoire de Sciences Gastronomique ainsi qu'au sein du département de Chimie des Molécules Naturelles à la Faculté de Gembloux Agro-Bio Tech, Université de Liège.

Remerciements

Je souhaite exprimer ma profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué à la réussite de ce travail de fin d'études. Je remercie tout particulièrement les professeurs Éric Haubrige et Dorothée Goffin, qui m'ont accueillie au sein de leur laboratoire et m'ont apporté des conseils précieux, tant dans l'orientation de mon projet que dans l'analyse de mes résultats.

Je tiens également à remercier Sarah Suffys, pour son aide précieuse dans le traitement des composés organiques volatils, depuis la mise en place du protocole jusqu'à l'analyse des données, ainsi que pour la relecture attentive de mon travail. Olivia Denies qui m'a grandement aidé pour la prise en main de la production de kombucha et dans la compréhension du fonctionnement de l'HPLC. Benjamin qui m'a accompagné dans mes réflexions pour orienter et choisir les types de graphiques les plus appropriés afin de représenter au mieux mes données. Son aide a considérablement contribué à la clarté de mes résultats, ainsi qu'à la mise en place des protocoles pour les analyses sensorielles.

Je suis également reconnaissante envers Héléna et ma sœur, qui m'ont aidée à récolter les plantes, ce qui m'a permis de gagner un temps précieux. Louis m'a généreusement donné les formulations de kombucha et m'a permis d'utiliser son local lorsque les études étaient occupées.

Enfin, je remercie tous les membres du Smart Gastronomy Lab, personnels comme étudiants et stagiaires, pour leur aide et la bonne ambiance qu'ils ont su créer, me permettant de rester motivée tout au long de ce travail.

Abstract

The valorization of non-timber forest products, often underexploited in Europe, constitutes a promising avenue combining agri-food innovation and sustainable management of natural resources. Among them, certain forest plants such as sweet woodruff (*Galium odoratum*), hawthorn (*Crataegus monogyna*), and elderberry (*Sambucus nigra*) stand out for their antioxidant, cardioprotective, and mildly sedative properties, as well as for their aromatic profiles. In a context of growing demand for natural and functional beverages, the question arises of the valorization of these non-timber forest products in the formulation of a fermented beverage such as kombucha. This type of beverage, obtained from the fermentation of a sweetened infusion by a symbiosis of bacteria and yeasts (SCOBY), offers an ideal medium to highlight plant matrices rich in secondary metabolites and to create a product that is both functional, sustainable, and sensorially attractive.

A kombucha based on an infusion of these plants is produced by varying three experimental parameters: the plant species used, the infusion temperature (hot/cold), and the dehydration rate of the plant material (fresh/dry). Each combination is subjected to a 7-day fermentation under controlled conditions. The resulting beverages are analyzed according to three approaches: (i) Physico-chemical analyses: pH measurement, HPLC quantification of sugars, ethanol, and organic acids. (ii) Analysis of volatile compounds: identification and quantification of compounds by chromatography (GC-MS) after extraction by stir bar sorptive extraction (SBSE). (iii) Sensory analysis: hedonic test by a consumer panel.

The results indicate that the plant species and the infusion temperature have no significant effect on the physico-chemical parameters measured. In contrast, the dehydration rate of the plant material significantly influences these parameters. Infusions made from dried plants show a more acidic pH, a more complete hydrolysis of sucrose into glucose and fructose, as well as higher contents of ethanol and organic acids. These observations suggest that drying, by breaking cell membranes, facilitates the extraction of sugars and bioactive compounds, thereby increasing the availability of fermentable substrates for the kombucha microorganisms.

The analysis of volatile compounds shows that drying and infusion temperature significantly modify the molecular and aromatic profiles of the beverages. Cold infusions of dried plants present a richer and more diverse profile, probably linked to a gentle and prolonged extraction preserving heat-sensitive volatile compounds. Conversely, hot infusions of dried plants are characterized by higher contents of fatty acids and phenolic compounds. In both cases, this aromatic richness is explained by the fact that plant drying induces a rupture of cellular structures, making secondary metabolites more accessible.

On the sensory level, sweet woodruff is the plant most appreciated by the tasters. Its characteristic aromatic notes of fresh hay and vanilla, due to the presence of coumarin, give the kombucha a distinct and pleasant profile. Hawthorn and elderberry, although presenting interesting aromatic profiles, are less appreciated.

Keywords: Kombucha; forest plants; sweet woodruff; hawthorn; elderberry; fermentation; volatile organic compound

Résumé

La valorisation des produits forestiers non ligneux, souvent sous-exploités en Europe, constitue un axe prometteur mêlant innovation agroalimentaire et gestion durable des ressources naturelles. Parmi elles, certaines plantes forestières telles que l'aspérule odorante (*Galium odoratum*), l'aubépine (*Crataegus monogyna*) et le sureau (*Sambucus nigra*) se distinguent par leurs propriétés antioxydantes, cardioprotectrices et légèrement sédatives, ainsi que par leurs profils aromatiques. Dans un contexte de demande croissante pour des boissons naturelles et fonctionnelles, se pose la question de la valorisation de ces produits forestiers non ligneux dans la formulation d'une boisson fermentée de type kombucha. Ce type de boisson, issu de la fermentation d'une infusion sucrée par une symbiose de bactéries et levures (SCOBY), offre un support idéal pour mettre en valeur des matrices végétales riches en métabolites secondaires et créer un produit à la fois fonctionnel, durable et sensoriellement attractif.

Un kombucha à base d'infusion de ces plantes est élaboré en faisant varier trois paramètres expérimentaux : l'espèce végétale utilisée, la température d'infusion (chaud/froid) et le taux de dessiccation du matériel végétal (frais/sec). Chaque combinaison est soumise à une fermentation de 7 jours en conditions contrôlées. Les boissons obtenues sont analysées selon trois approches : (i) Analyses physico-chimiques : mesure du pH, dosage par HPLC des sucres, de l'éthanol et des acides organiques. (ii) Analyse des composés volatils : identification et quantification des composés par chromatographie (GC-MS) après extraction par sorption sur barreau magnétique (SBSE). (iii) Analyse sensorielle : test hédonique par un panel de consommateur.

Les résultats indiquent que l'espèce végétale et la température d'infusion n'ont pas d'effet significatif sur les paramètres physico-chimiques mesurés. En revanche, le taux de dessiccation du matériel végétal influence de manière significative ces paramètres. Les infusions à base de plantes sèches présentent un pH plus acide, une hydrolyse plus complète du saccharose en glucose et fructose, ainsi que des teneurs plus élevées en éthanol et en acides organiques. Ces observations suggèrent que le séchage, en rompant les membranes cellulaires, facilite l'extraction des sucres et des composés bioactifs, augmentant ainsi la disponibilité des substrats fermentescibles pour les micro-organismes du kombucha.

L'analyse des composés volatils montre que le séchage et la température d'infusion modifient significativement les profils moléculaires et aromatiques des boissons. Les infusions à froid de plantes sèches présentent un profil plus riche et diversifié, probablement lié à une extraction douce et prolongée préservant les composés volatils thermosensibles. À l'inverse, les infusions à chaud de plantes sèches sont caractérisées par des teneurs plus élevées en acides gras et en composés phénoliques. Dans les deux cas, cette richesse aromatique s'explique par le fait que le séchage des plantes induit une rupture des structures cellulaires, rendant les métabolites secondaires plus accessibles.

Sur le plan sensoriel, l'aspérule odorante est la plante la plus appréciée par les dégustateurs. Ses notes aromatiques caractéristiques de foin frais et de vanille, dues à la présence de coumarine, confèrent au kombucha un profil distinct et agréable. L'aubépine et le sureau, bien que présentant des profils aromatiques intéressants, sont moins appréciés.

Mots-clés : Kombucha ; plantes forestières ; aspérule odorante ; aubépine ; sureau ; fermentation ; composés organiques volatils

Table des matières

Remerciements.....	5
Abstract	6
Résumé.....	7
Table des matières	8
Liste des figures	11
Liste des tableaux	13
Liste des annexes.....	14
Liste des tableaux additionnels	14
Liste des abréviations.....	15
Etat de l'art.....	16
1. Les forêts et les produits forestiers : patrimoine sous exploité.....	16
1.1. Rôles et importances des forêts en Europe et en Belgique	16
1.2. Valorisation des ressources forestières comestibles	17
1.3. Composition chimique et bienfaits des produits forestiers utilisés en alimentation	
18	
1.3.1. Composés chimiques présents dans les produits forestiers	19
1.3.2. Bienfaits des produits forestières sur la santé humaine	20
1.3.2.1. Exemples des bienfaits d'infusions de la forêt	22
2. La fermentation dans le domaine de l'agro-alimentaire	23
2.1. Définition et avantages de la fermentation	23
2.2. Microbiologie de la fermentation.....	23
2.2.1. Les différents types de fermentations	23
2.2.2. Diversité des micro-organismes de la fermentation	24
2.3. Focus sur les boissons fermentées	25
3. Le kombucha	25
3.1. Description du kombucha	25
3.1.1. SCOBY, micro-organismes et levures	26
3.1.1.1. SCOBY.....	26
3.1.1.2. Micro-organismes et levures	28
3.2. Facteurs de variation et paramètre d'analyse des boissons fermentées	29
3.3. Propriétés et bienfaits du kombucha.....	29
3.4. Formation et transformation des composés aromatiques au cours de la	
fermentation	30

Objectifs	32
Matériel et méthode	32
1. Préparation du kombucha	32
2. Infusions de la forêt.....	33
2.1. Préparation des kombuchas à base d'infusions de la forêt	33
3. Caractéristiques physico-chimiques des kombuchas et des kombuchas à base d'infusion de la forêt.....	33
3.1. Mesure du pH.....	33
3.2. Dosage des composés majoritaires par HPLC	33
3.3. Analyse des composés organiques volatils par GC-MS.....	34
3.4. Analyse sensorielle	35
3.4.1. Profil flash	35
3.4.2. Test d'appréciation hédonique	35
3.5. Analyses des données brutes.....	36
Résultats et discussions	36
1. Présentation du schéma expérimental.....	36
2. Caractérisation physico-chimique des kombuchas et des kombuchas à base d'infusion de la forêt	37
2.1. Mesure du pH.....	37
2.1.1. Expérimentation 1	37
2.1.2. Expérimentation 3	38
2.2. Dosage des composés majoritaires par HPLC	40
2.2.1. Expérimentation 1	41
2.2.2. Expérimentation 3	42
2.2.2.1. Espèces végétales.....	42
2.2.2.2. Taux de dessiccation du matériel végétal	43
2.2.2.3. Température d'infusion.....	45
2.3. Analyses des composés organiques volatils par SBSE GC-MS.....	46
2.3.1. Analyse chimique des COV	46
2.3.2. Analyses aromatiques de COV	53
3. Analyse sensorielle	58
3.1. Profil flash.....	58
3.2. Test hédonique.....	60
Contribution personnelle	63
Conclusion et perspectives.....	64
Références bibliographiques.....	66

Annexes	72
---------------	----

Liste des figures

Figure 1 : Représentation des différentes catégories attribuée aux différentes strates de végétation disponible dans un milieu forestier (Heinken et al., 2022)	16
Figure 2 : Représentation des interactions entre les services écosystémiques et les éléments du bien-être humain (Millennium Ecosystem Assessment (Program), 2005)	17
Figure 3 : Représentation du pourcentage national des ménages récoltant des produits forestiers non ligneux en 2016 en Europe (European Forest Institute, 2020).	18
Figure 4 : Représentation des bienfaits des composés végétaux sur la prévalence des maladies chroniques chez l'homme (Simsek et al., 2024).	20
Figure 5 : Illustration des parties aériennes de l'aspérule odorante	22
Figure 6 : Illustration des fleurs de sureau	22
Figure 7 : Illustration des fleurs de l'aubépine	22
Figure 8 : Représentation schématique de l'interaction symbiotique entre les MO et les principaux métabolites produits lors de la fabrication du kombucha (Diez-Ozaeta et al., 2022).	26
Figure 9 : Illustration d'une boisson fermentée de type kombucha et de son biofilm (SCOBY) ..	27
Figure 10 : Diagramme du processus de production d'une boisson fermentée de type kombucha (adaptation de Watawana et al., 2015).	27
Figure 11 : Différents type de fermentation du kombucha (Jakubczyk et al., 2022).	28
Figure 12 : Profil sensoriel (exprimé sous forme de logarithme de l'OAV ; OAV = concentration/seuil de perception) des composés volatils les plus représentatifs (% de surface > 1 %) en fonction de la température (°C) lors de la fermentation du kombucha après 7 (Suffys et al., 2023).	31
Figure 13 : Schéma expérimental des expérimentations menées.	37
Figure 14 : Evolution du pH du kombucha en fonction des contenants (JV et SB) et de la durée de fermentation (jour) (moyenne ± écart-type ; n = 3).	38
Figure 15 : Évolution du pH des kombuchas à base d'infusions d'aspérule odorante, d'aubépine et de sureau dans le temps, selon quatre traitements combinant température d'infusion (IC : infusion chaude, IF : infusion froide) et matériel végétal (f : frais, s : séché) (moyenne ± écart-type ; n = 3).	39
Figure 16 : Evolution du pH des kombuchas à base d'infusions d'aspérule odorante, d'aubépine et de sureau en fonction de la durée de fermentation et du matériel végétal (sec et frais) (moyenne ± écart-type ; n = 3).	40
Figure 17 : Evolution des concentrations en saccharose, fructose et glucose en fonction de la durée de fermentation et du type de contenant utilisé (JV = jarre en verre et SB = silicone bag) (moyenne ± écart-type ; n = 3).	41
Figure 18 : Evolution des concentrations en acide acétique, lactique et éthanol en fonction de la durée de fermentation et du contenant utilisé (JV = jarre en verre, SB = silicone bag) (moyenne ± écart-type ; n = 3).	42
Figure 19 : Concentration des sucres (g/L) (saccharose, fructose et glucose), de l'éthanol (g/L) et des acides organiques (g/L) (acide acétique et lactique) par espèces végétales (aspérule odorante, aubépine et sureau) après 7 jours de fermentation (moyenne ± écart-type ; n = 3).	43
Figure 20 : Concentration des sucres (g/L) (saccharose, fructose et glucose), éthanol (g/L) et des acides organiques (g/L) (acide acétique et lactique) par taux de dessiccation du matériel végétal (frais ou secs) après 7 jours de fermentation (moyenne ± écart-type ; n = 3).	45
Figure 21 : Concentration des sucres (g/L) (saccharose, fructose et glucose), éthanol (g/L) et des acides organiques (g/L) (acide acétique et lactique) par température d'infusion (à chaud ou à froid) après 7 jours de fermentation (moyenne ± écart-type ; n = 3).	46

Figure 22 : Représentation graphique de la proportion des familles des COV par espèces végétales (n = 3).....	47
Figure 23 : Représentation graphique des variables COV en fonction des combinaisons d'infusion (ICf = infusion à chaud de produit frais, ICs = infusion à chaud de produit sec, IFF = infusion à froid de produit frais, IFs = infusion à froid de produit sec, JV = jarre en verre et SB = silicone bag) pour la plante de sureau dans le plan 1:2 (ACP) (n = 3).	51
Figure 24 : Représentation graphique des variables COV en fonction des combinaisons d'infusion (ICf = infusion à chaud de produit frais, ICs = infusion à chaud de produit sec, IFF = infusion à froid de produit frais, IFs = infusion à froid de produit sec, JV = jarre en verre et SB = silicone bag) pour la plante d'aspérule odorante dans le plan 1:2 (ACP) (n = 3).	52
Figure 25 : Représentation graphique des variables COV en fonction des combinaisons d'infusion (ICf = infusion à chaud de produit frais, ICs = infusion à chaud de produit sec, IFF = infusion à froid de produit frais, IFs = infusion à froid de produit sec, JV = jarre en verre et SB = silicone bag) pour la plante d'aubépine dans le plan 1:2 (ACP) (n = 3).	52
Figure 26 : Estimation du profil aromatique exprimé sous forme du log10 de l'OAV pour les COV les plus représentatifs (% de surface > 1%) des kombuchas à base d'infusion de sureau (OAV = Concentration/seuil de perception). (ICs S = infusion à chaud avec des plantes sèche de sureau, IFs S = infusion à froid avec des plante sèche de sureau).	56
Figure 27 : Estimation du profil aromatique exprimé sous forme du log10 de l'OAV pour les COV les plus représentatifs (% de surface > 1%) des kombucha à base d'infusion d'aspérule odorante (OAV = Concentration/seuil de perception). (ICs As = infusion à chaud avec des plantes sèche d'aspérule, IFs As = infusion à froid avec des plante sèche d'aspérule).	57
Figure 28 : Estimation du profil aromatique exprimé sous forme du log10 de l'OAV pour les COV les plus représentatifs (% de surface > 1%) des kombuchas à base d'infusions d'aubépine (OAV = Concentration/seuil de perception). (ICs Ab = infusion à chaud avec des plantes sèche d'aubépine, IFs Ab = infusion à froid avec des plante sèche d'aubépine).	58
Figure 29 : Représentation graphique du cercle de corrélation issu de l'ACP basée sur les 4 descripteurs sensoriels (acide, sucré, floral et fruité) dans le plan 1:2.	59
Figure 30 : Représentation graphique des projections des échantillons des kombuchas à base d'infusion de la forêt pour l'ortie, la reine-des-prés, la bruyère, l'aspérule, la consoude et la valériane dans le plan factoriel de l'ACP 1:2.	59
Figure 31 : Représentation graphique des projections des échantillons de kombucha à base d'infusion de la forêt (aspérule, aubépine, reine-des-prés et sureau) dans le plan factoriel de l'ACP 1:2.	61
Figure 32 : Représentation graphique du cercle de corrélation issue de l'ACP basée sur les 4 descripteurs sensoriels (acidité, sucrosité, couleur et appréciation globale) dans le plan 1:2... 61	61
Figure 33 : Diagrammes de densité des scores hédoniques attribués par les participants pour l'acidité, la sucrosité, la couleur et l'appréciation globale de quatre échantillons de kombucha à base d'infusions de la forêt. Les lettres indiquent les résultats du test post-hoc de type Tukey ($\alpha = 0,05$).	62

Liste des tableaux

Tableau 1 : Principaux composés bioactifs présents dans les produits forestiers comestibles (Nilsson, 2011; Viapiana et al., 2017; Simsek et Whitney, 2024).	19
Tableau 2 : Bienfaits des produits forestiers sur la santé humaine (Nilsson, 2011; Wang et al., 2013; Viapiana et al., 2017; Simsek et Whitney, 2024).	21
Tableau 3 : Composés et propriétés spécifiques du sureau (<i>Sambucus nigra L.</i>), de l'aubépine (<i>Crataegus spp.</i>) et de l'aspérule odorante (<i>Galium odoratum</i>) (Wang et al., 2013; Viapiana et al., 2017; Nazhand et al., 2020; Razzivina et al., 2024).	23
Tableau 4 : Liste des micro-organismes fermentaires fréquemment retrouvés dans différents produits (Ray et al., 2014; Dimidi et al., 2019; Sharma et al., 2020).	24
Tableau 5 : Composés organiques volatils (ppm) des kombuchas à base d'infusions de la forêt (ICf = infusion à chaud de plante fraîche, ICs = infusion à chaud de plante sèche, IFF = infusion à froid de plante fraîche et IFs = infusion à froid de plante sèche) et de kombucha (JV = jarre en verre et SB = silicone bags) (moyenne ± écart-type ; n = 3).	48
Tableau 6 : Evolution de l'OAV des composés organiques volatils les plus représentatifs (OAV > 1) des kombuchas à base d'infusion de la forêt (ICf = infusion à chaud de plantes fraîches, ICs = infusion à chaud de plantes sèches, IFF = infusion à froid de plantes fraîches et IFs = infusion à froid de plantes sèches) et de kombucha (JV = jarre en verre et SB = silicone bag) (moyenne ± écart-type ; n = 3).	54

Liste des annexes

Annexe 1 : Liste préliminaire des espèces forestières ayant des bénéfices pour la santé et pouvant être consommé en infusion issue de la bibliographie.	72
Annexe 2 : Formulaire distribué aux participants du test flash.....	76
Annexe 3 : Formulaire distribué aux participants du test hédonique.....	78
Annexe 4 : Données brutes des mesures, moyennes et écart-type de pH de l'expérimentation 1 (SB & JV) et de l'expérimentation 3.	82
Annexe 5 : Données brutes des mesures, moyennes et écart-type de pH de l'expérimentation 1 (SB & JV) et de l'expérimentation 3.	84

Liste des tableaux additionnels

Tableau additionnel 1 : Mesure des pH de l'expérimentation 1 (SB = silicone bags, JV = jarre en verre).	82
Tableau additionnel 2 : Moyenne et écart-type de l'expérimentation 1 (SB et JV).	82
Tableau additionnel 3 : Mesure des pH pour les kombuchas à base d'infusion d'aubépine. ...	82
Tableau additionnel 4 : Mesure des pH pour les kombuchas à base d'infusions d'aspérula....	83
Tableau additionnel 5 : Mesure des pH pour les kombuchas à base d'infusion de sureau.....	83
Tableau additionnel 6 : Moyenne et écart-type des kombuchas à base d'infusion d'aubépine. 83	83
Tableau additionnel 7 : Moyenne et écart-type des kombuchas à base d'infusions d'aspérula.	83
Tableau additionnel 8 : Moyenne et écart-type des kombuchas à base d'infusions de sureau.83	83
Tableau additionnel 9 : Concentration des moyennes et écart-types des sucres totaux (saccharose, glucose et fructose) contenu dans l'expérimentation 1 (SB & JV).	84
Tableau additionnel 10 : Concentration des moyennes et écart-types de l'éthanol et des acides organiques (acide acétique et lactique) contenu dans l'expérimentation 1 (SB & JV).	84
Tableau additionnel 11 : Concentration des moyennes et écart-types des sucres totaux (saccharose, glucose et fructose) contenu dans l'expérimentation 3 (kombucha à base d'infusion de la forêt).	84
Tableau additionnel 12 : Concentration des moyennes et écart-types de l'éthanol et des acides organiques (acide acétique et lactique) contenu dans l'expérimentation 3 (kombucha à base d'infusion de la forêt).	85

Liste des abréviations

ABRÉVIATION	SIGNIFICATION
PFNL	Produits forestiers non ligneux
MO	Micro-organismes
LAB	Bactérie lactique
AAB	Bactérie acétique
SCOBY	<i>Symbiotic Colony of Bacteria and Yeasts</i>
JR	Jus de repiquage
COV	Composé organique volatil
SBSE	<i>Stir bar sorptive extraction</i>
GC-MS	Chromatographie gazeuse – spectrométrie de masse
PDMS	Polydiméthylsiloxane
As	Aspérule odorante
Ab	Aubépine
S	Sureau
ICf	Infusion à chaud de plante fraîche
ICs	Infusion à chaud de plante sèche
IFf	Infusion à froid de plante fraîche
IFs	Infusion à froid de plante sèche
HPLC	Chromatographie liquide à haute performance
OAV	<i>Odor activity value</i>
ANOVA	Analyse de la variance
ACN	Acétonitrile
ACP	Analyse en composante principale
JV	Jarre en verre
SB	<i>Silicone bag</i>

Etat de l'art

1. Les forêts et les produits forestiers : patrimoine sous exploité

1.1. Rôles et importances des forêts en Europe et en Belgique

La forêt, au sens écologique, désigne toute formation végétale dont la canopée couvre plus de 30% du territoire. Cette définition inclut non seulement les peuplements denses d'arbres, mais aussi les lisières, les chemins forestiers, les clairières, les prairies et les pâturages situés au sein de l'écosystème forestier (Heinken et al., 2022). Ces milieux forestiers hébergent une biodiversité végétale remarquable, incluant un grand nombre de plantes sauvages historiquement utilisées par les sociétés humaines.

Parmi les plantes sauvages présentes dans les forêts, on distingue plusieurs catégories (Figure 1), attribuées aux différentes strates de végétation (Heinken et al., 2022) :

- **Arbres** : plantes ligneuses pérennes à tronc unique, dépassant 7 mètres, constituant la canopée.
- **Parasites épiphytes** : plantes héminparasites vivant dans la couronne des arbres.
- **Lianes** : plantes grimpantes enracinées dans le sol, utilisant les arbres comme support.
- **Arbustes** : plantes ligneuses de taille moyenne ($\leq 7m$), souvent à tiges multiples
- **Espèces de la strate herbacée** : plantes herbacées annuelles, bisannuelles ou pérennes.

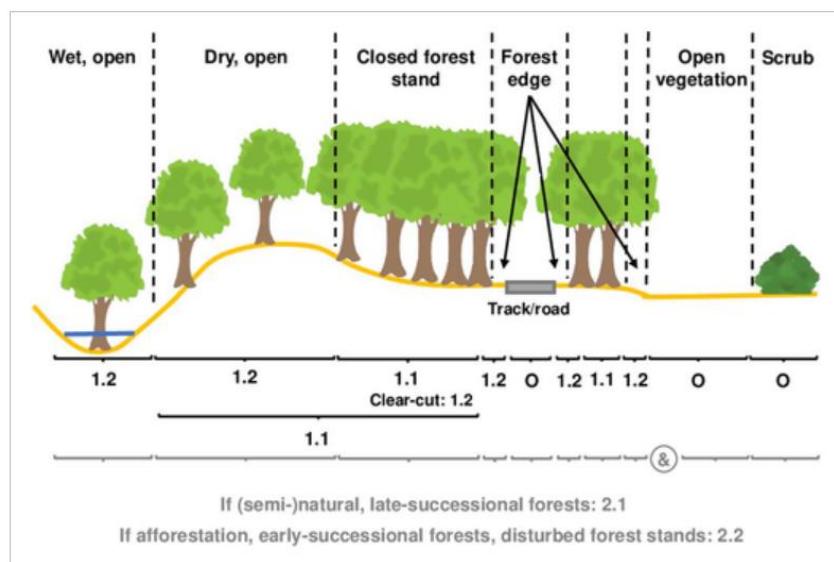


Figure 1: Représentation des différentes catégories attribuée aux différentes strates de végétation disponible dans un milieu forestier (Heinken et al., 2022)

Les forêts occupent une place essentielle dans les écosystèmes terrestres, couvrant environ 30,74% de la surface mondiale (FAO, 2016). En Europe, elles représentent 43,5 % du territoire, tandis qu'en Belgique, elles couvrent 23 % du territoire, soit plus de 700 000 hectares, répartis entre la Wallonie (79,8 %), la Flandre (19,9 %) et Bruxelles-Capitale (0,3 %) (Aznar-Sánchez et al., 2018; Winkel et al., 2022).

Les forêts rendent de nombreux services écosystémiques essentiels à la santé humaine et au bon fonctionnement de la biosphère. Ces services peuvent être regroupés en quatre grandes catégories (Figure 2) : l'approvisionnement, la régulation, les services culturels et les services de soutien (Aznar-Sánchez et al., 2018; Winkel et al., 2022). En plus de leur importance écologique, les forêts participent à la qualité de vie, plus particulièrement dans les zones urbanisées où elles offrent des espaces de ressourcement (Millennium Ecosystem Assessment (Program), 2005; Winkel et al., 2022).

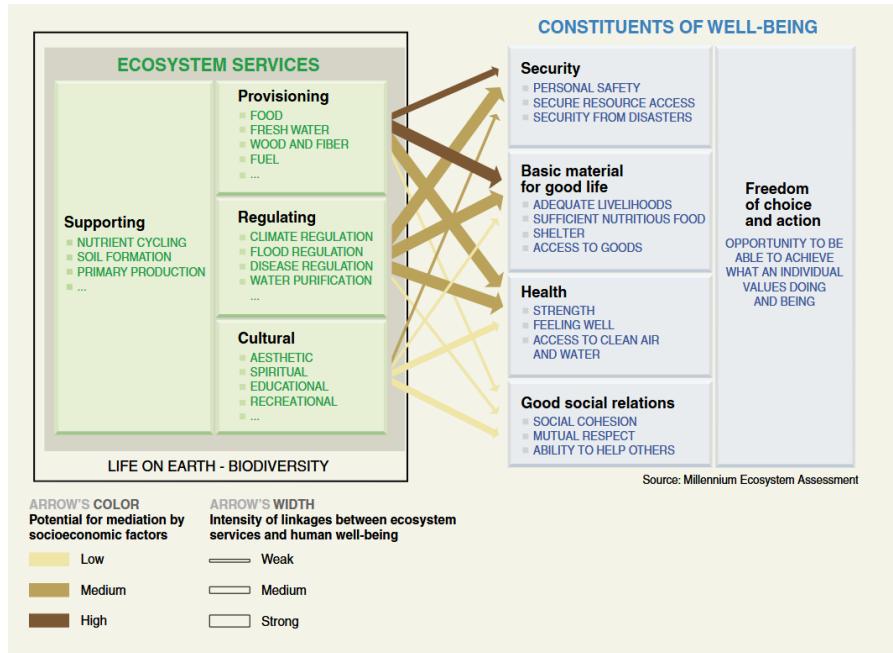


Figure 2 : Représentation des interactions entre les services écosystémiques et les éléments du bien-être humain (Millennium Ecosystem Assessment (Program), 2005)

1.2. Valorisation des ressources forestières comestibles

Dans le domaine des ressources forestières, les Produits Forestiers Non Ligneux (PFNL) désignent l'ensemble des matériaux biologiques extraits des forêts à des fins humaines, à l'exclusion du bois de construction. Ils regroupent notamment la sève, les feuillages, les fruits, les fleurs, les noix, les champignons, les baies, les plantes médicinales et aromatiques (Bennett, 2002). Ces ressources jouent un rôle économique et culturel majeur, bien que souvent sous-estimé. À l'échelle mondiale, environ 2,8 milliards de personnes consomment des plantes et remèdes traditionnels issus des écosystèmes forestiers (European Forest Institute, 2020).

En Europe, une enquête menée auprès de 15 000 ménages dans 28 pays a montré que 24,5% des ménages comptaient au moins un membre cueilleur de PFNL, avec de fortes variations nationales : la pratique concerne 68 % des ménages en Lettonie contre seulement 8,4 % en Belgique (Figure 3). Leur consommation est également répandue : 71 % des ménages déclarent consommer des noix, 59 % des baies, 41 % des champignons et 37 % des plantes comestibles ou médicinales. Les circuits d'approvisionnement sont multiples : 84,6 % des ménages les achètent en magasin, 22 % directement auprès des cueilleurs, et 15 % les reçoivent en cadeau (European Forest Institute, 2020).

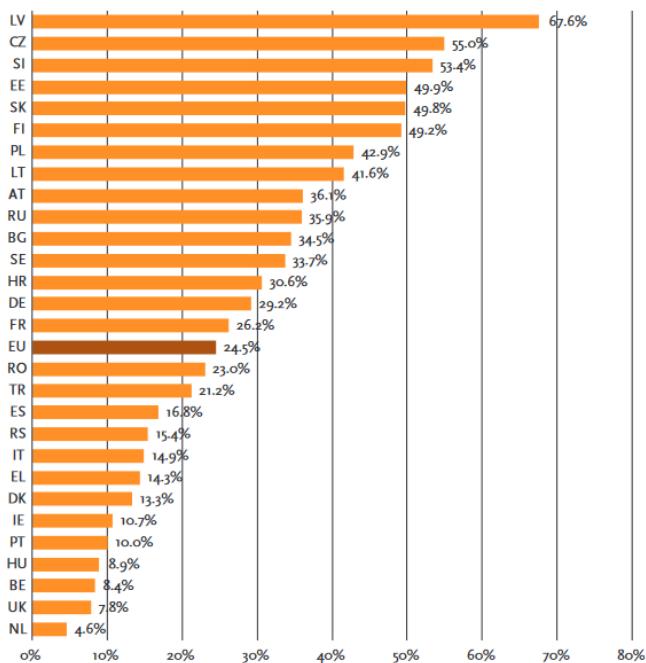


Figure 3 : Représentation du pourcentage national des ménages récoltant des produits forestiers non ligneux en 2016 en Europe (European Forest Institute, 2020).

Ces ressources représentent un levier économique essentiel pour de nombreuses petites et moyennes entreprises, notamment grâce à leur transformation et commercialisation à diverses échelles, du local à l'international (Lovrić et al., 2020). La valeur déclarée des PFNL commercialisés en Europe est passée de 1,1 milliard d'euros en 1995 à 1,7 milliard en 2014, sans compter l'autoconsommation estimée jusqu'à trois fois supérieure. Cependant, le manque de données sur les flux commerciaux et les prix conduit encore à sous-estimer leur importance économique (European Forest Institute, 2020).

Historiquement, les plantes sauvages forestières, qu'elles soient arbres, arbustes ou herbacées, ont joué un rôle essentiel dans la survie et la santé des populations humaines, servant à la fois de source de nourriture en période de disette et de remède naturel pour de nombreux maux (Pinela et al., 2017). Leur usage a toutefois diminué avec l'industrialisation agricole et l'évolution des modes de vie. Aujourd'hui, dans un contexte de recherche d'une alimentation plus saine, locale et durable, ces ressources naturelles font l'objet d'un renouvellement d'intérêt, notamment dans le développement de produits innovants (Pinela et al., 2017; Heinken et al., 2022).

1.3. Composition chimique et bienfaits des produits forestiers utilisés en alimentation

Les PFNL, dont la diversité et l'importance économique ont été présentées précédemment, constituent une source précieuse de composés bioactifs, micronutriments et substances aromatiques. Qu'ils proviennent des fruits, des champignons, des résines, de feuilles, de fleurs ou des plantes médicinales, ces produits jouent un rôle majeur dans l'alimentation traditionnelle, mais également dans le développement de nouveaux aliments fonctionnels. La section suivante détaille leur composition chimique et les bienfaits qui leur sont attribués pour la santé humaine.

1.3.1. Composés chimiques présents dans les produits forestiers

Les forêts constituent une source précieuse de composés bioactifs produits par les végétaux, dont les métabolites secondaires jouent un rôle central dans leur capacité à interagir avec l'environnement (Nilsson, 2011). Bien qu'ils ne soient pas directement impliqués dans les fonctions vitales comme la respiration ou la photosynthèse, ces substances confèrent aux plantes des propriétés de défense, d'adaptation et de régulation (Pagare et al., 2015). Elles sont également à l'origine de nombreux effets bénéfiques pour la santé humaine, qui expliquent leur utilisation traditionnelle et contemporaine (Nawrot-Chorabik et al., 2022).

Ces métabolites secondaires sont classés en trois grandes familles selon leur origine biosynthétique :

- **Les terpènes et terpénoïdes**, dérivés de l'acétyl-CoA ou du pyruvate, constituent le groupe le plus diversifié. Ils incluent :
 - o **Les monoterpènes** (ex. : α -pinène, β -pinène, limonène), largement présents dans les huiles essentielles de résines et d'écorces, connus pour leurs effets antimicrobiens et anxiolytiques (Nilsson, 2011).
 - o **Les sesquiterpènes et diterpènes**, tels que l'acide abiétique et le sclaréol, qui participent à la protection mécanique des arbres et présentent un intérêt comme agents antimicrobiens ou antioxydants (Pagare et al., 2015).
- **Les composés phénoliques**, omniprésents dans les tissus végétaux, jouent un rôle majeur dans la défense contre les UV, les pathogènes et l'oxydation. On distingue plusieurs sous-catégories :
 - o **Les flavonoïdes** (quercétine, kaempférol, rutine), contribuent à la réduction du stress oxydatif et à la protection vasculaire (Viapiana et al., 2017).
 - o **Les anthocyanes**, pigments responsables des teintes rouges et violettes, tels que la cyanidine-3-glucoside, particulièrement abondante dans le sureau noir et reconnue pour son activité antioxydante et anti-inflammatoire (Viapiana et al., 2017).
 - o **Les acides phénoliques** (acide chlorogénique, acide caféïque), contribuent aux effets antiviraux observés dans plusieurs infusions (Nazhand et al., 2020).
 - o **Les tanins**, souvent concentrés dans les écorces et feuilles, exerçant une action astringente et antimicrobienne (Nilsson, 2011).
- **Les alcaloïdes**, issus du métabolisme des acides aminés, sont moins fréquents dans les produits forestiers alimentaires mais jouent un rôle pharmacologique important. Certains alcaloïdes présentent des propriétés analgésiques, antiparasitaires ou neuroactives (Pagare et al., 2015). Bien que leur concentration soit généralement faible (souvent <0,1 % poids sec), leur activité biologique est marquée (Nawrot-Chorabik et al., 2022).

Le Tableau 1 présente une synthèse des principales classes de composés présents dans les plantes en général :

Tableau 1 : Principaux composés bioactifs présents dans les produits forestiers comestibles (Nilsson, 2011; Viapiana et al., 2017; Simsek et Whitney, 2024).

Classe des composés	Exemple de molécules	Teneur indicatives	Sources principales	Références
Flavonoïdes	Quercétine, Kaempférol, Rutoside	Jusqu'à 500 mg/100 g (baies, feuilles)	Fruits, feuilles et fleurs	Viapiana et al., 2017; Simsek et Whitney, 2024

Anthocyanes	Cyanidine-3-glucoside, Delphinidine	200–800 mg/100 g (baies)	Fruits rouges	Viapiana et al., 2017
Acides phénoliques	Acide chlorogénique, acide caféïque	Jusqu'à 100 mg/100 g	Fruits, feuilles	Nazhand et al., 2020
Coumarines	Coumarine, esculine	0,1–0,3 % poids sec	Feuilles	Razzivina et al., 2024
Tanins	Tanins hydrolysables et condensés	Jusqu'à 10 % du poids sec	Ecorces, feuilles et fruits	Nilsson, 2011
Terpénoïdes (huiles essentielles)	α-pinène, β-pinène, limonène	Présence variable, jusqu'à 1 % des extraits	Résines, huiles essentielles	Nilsson, 2011
Vitamine C	Acide ascorbique	30–400 mg/100 g	Fruits et jeunes pousses	Simsek et Whitney, 2024
Saponines	Saponines triterpéniques	Jusqu'à 3% poids sec	Feuilles et fleurs	Nazhand et al., 2020

1.3.2. Bienfaits des produits forestières sur la santé humaine

Les produits forestiers constituent une source majeure de micronutriments et de composés bioactifs qui contribuent à la prévention des maladies chroniques et au maintien d'une bonne santé (Figure 4) (Tableau 2). Selon Simsek et Whitney (2024), l'apport quotidien moyen en polyphénols par l'alimentation végétale peut atteindre 1 g par jour dans certaines populations, soit plus du double des apports estimés dans les régimes occidentaux.

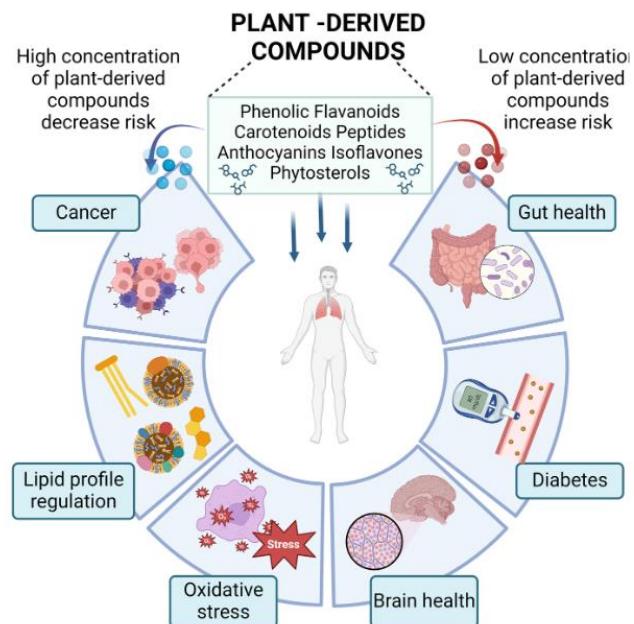


Figure 4 : Représentation des bienfaits des composés végétaux sur la prévalence des maladies chroniques chez l'homme (Simsek et al., 2024).

Les baies et fruits forestiers présentent des concentrations particulièrement élevées : par exemple, les myrtilles et airelles contiennent entre 400 et 800 mg d'anthocyanes pour 100 g de produit frais, tandis que les noisettes et noix apportent jusqu'à 200 mg/100 g de flavonoïdes totaux. Ces polyphénols exercent des effets antioxydants puissants, réduisant le stress oxydatif

systémique de 10 à 20 %, comme le démontrent plusieurs études cliniques contrôlées (Simsek et al., 2024).

Outre les composés phénoliques, les produits forestiers apportent des terpénoïdes volatils, connus pour leurs propriétés antimicrobiennes et anxiolytiques. L'inhalation d'α-pinène et de β-pinène émis par les conifères, même à des concentrations faibles de 50 à 500 ppb, a été associée à une diminution mesurable de la pression artérielle systolique (en moyenne -3,5 mmHg) et à une réduction des niveaux de cortisol salivaire, marqueur biologique du stress (Nilsson, 2011).

Les feuilles et fleurs forestières apportent elles aussi des molécules bénéfiques. Les feuilles d'ortie ou de tilleul, par exemple, renferment jusqu'à 100 mg/100 g de flavonoïdes et des quantités significatives de vitamine C et de calcium (Nilsson, 2011). Les infusions de fleurs de sureau sont utilisées pour leurs effets fébrifuges et antiviraux, attribués à la combinaison de quercétine, rutine et acide chlorogénique (Simsek et al., 2024).

Sur le plan nutritionnel, de nombreux produits forestiers représentent une source importante de vitamine C, de potassium et de fibres. La consommation régulière de baies et plantes forestières riches en polyphénols et fibres a été corrélée à une baisse de 14 % du risque d'hypertension artérielle et à une réduction du risque de diabète de type 2 (Simsek et al., 2024).

Enfin, certains composés comme les lignanes, stilbènes, coumarines et catéchines possèdent des propriétés anti-inflammatoires et prébiotiques qui contribuent à la protection contre les infections et au maintien d'un microbiote sain. Des apports quotidiens de 300 à 500 mg de polyphénols alimentaires sont associés à une augmentation de la population de bactéries bénéfiques, participant à la production d'acides gras à chaîne courte essentiels à la santé digestive (Simsek et al., 2024).

Tableau 2 : Bienfaits des produits forestiers sur la santé humaine (Nilsson, 2011; Wang et al., 2013; Viapiana et al., 2017; Simsek et Whitney, 2024).

Propriété biologique	Mécanismes principaux	Exemples de composés	Teneur observés	Références
Antioxydant	Neutralisation des radicaux libres	Anthocyanes, flavonoïdes, vitamine C	Réduction stress oxydatif systémique de 10–20 %	Simsek et Whitney, 2024
Anti-inflammatoire	Modulation des cytokines et enzymes pro-inflammatoires	Acide phénoliques, flavonoïdes	Baisse marqueurs inflammation (CRP, IL-6)	Nazhand et al., 2020
Antimicrobien	Action directe sur membranes bactériennes	Terpénoïdes, tanins, coumarines	Inhibition croissance bactérienne <i>in vitro</i> (≥80 %)	Nilsson, 2011
Cardioprotecteur	Effet vasodilatateur, réduction pression artérielle	Flavonoïdes de l'aubépine, anthocyanes	Baisse pression artérielle systolique -3 à -5 mmHg	Wang et al., 2013
Sédatif léger et anxiolytique	Modulation neurotransmetteurs (GABA)	Coumarine, terpènes volatils	Diminution du stress perçu et cortisol salivaire	Nilsson, 2011; Razzivina et al., 2024
Prébiotique et digestif	Stimulation microbiote intestinal bénéfique	Catéchines, fibres, polyphénols	Augmentation <i>Lactobacillus</i> et <i>Bifidobacterium</i> spp.	Simsek et Whitney, 2024

Antiviral	Blocage réplication virale	Flavonoïdes, acide chlorogénique	Réduction symptômes infection respiratoire aiguë	Viapiana et al., 2017
------------------	----------------------------	----------------------------------	--	-----------------------

1.3.2.1. Exemples des bienfaits d'infusions de la forêt

Parmi les plantes issues des milieux forestiers, le sureau noir (*Sambucus nigra* L., 1753) (Figure 6) est largement utilisé en alimentation et phytothérapie. Originaire d'Europe, d'Asie occidentale et d'Afrique du Nord, il est surtout apprécié pour ses fleurs, utilisées en infusion, sirop ou boisson fermentée (Viapiana et al., 2017). Celles-ci renferment de fortes concentrations de flavonoïdes (quercétine, rutine), d'acide chlorogénique, de vitamine C (jusqu'à 30 mg/100 g) et d'huiles essentielles, leur conférant des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antivirales. Les extraits aqueux de fleurs ont montré une activité antivirale contre plusieurs virus respiratoires et une réduction de l'inflammation systémique. Les baies contiennent également 200 à 500 mg/100 g d'anthocyanines, associées à des effets vasoprotecteurs et hypoglycémiants, utiles dans la prévention du diabète, de l'athérosclérose et de certains cancers (Viapiana et al., 2017).

L'aspérule odorante (*Galium odoratum* (L.) Scop., 1771) (Figure 5), plante herbacée d'Eurasie et d'Afrique du Nord, se distingue par l'arôme de foin de ses feuilles séchées, lié à la coumarine (jusqu'à 0,1 %) (Razzivina et al., 2024). Elle contient aussi des iridoïdes, flavonoïdes, tanins condensés et saponines, responsables de ses effets sédatifs, digestifs et antispasmodiques. En infusion, elle est traditionnellement utilisée contre les troubles du sommeil et les douleurs gastriques, avec des effets antioxydants, anti-inflammatoires et un soutien potentiel des fonctions hépatiques (Razzivina et al., 2024).

L'aubépine (*Crataegus monogyna* Jacq., 1775) (Figure 7) est réputée pour ses bienfaits cardiovasculaires et apaisants. Ses fleurs et feuilles, riches en flavonoïdes glycosylés (hyperoside, vitexine – jusqu'à 2,5 % du poids sec), procyanidines et acides phénoliques, sont utilisées en infusion pour atténuer l'hypertension, l'anxiété ou l'insomnie (Wang et al., 2013; Nazhand et al., 2020). Plusieurs essais cliniques ont montré que l'aubépine améliore les symptômes de l'insuffisance cardiaque légère à modérée, en agissant sur la circulation coronaire, la vasodilatation et l'inhibition de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (Wang et al., 2013).



Figure 6 : Illustration des fleurs de sureau



Figure 5 : Illustration des parties aériennes de l'aspérule odorante



Figure 7 : Illustration des fleurs de l'aubépine

Le Tableau 3 synthétise les composés et propriétés spécifiques des plantes de sureau, d'aubépine et d'aspérule odorante.

Tableau 3 : Composés et propriétés spécifiques du sureau (*Sambucus nigra L.*), de l'aubépine (*Crataegus spp.*) et de l'aspérule odorante (*Galium odoratum*) (Wang et al., 2013; Viapiana et al., 2017; Nazhand et al., 2020; Razzivina et al., 2024).

Plantes	Principaux composés bioactifs	Teneurs indicatives	Propriétés principales	Références
Sureau noir (<i>Sambucus nigra L.</i>), fleurs et baies	Anthocyanes (cyanidine-3-glucoside), flavonoïdes, acide chlorogénique, vitamine C	Anthocyanes 200–500 mg/100 g ; vitamine C >30 mg/100 g	Antioxydant, antiviral, vasoprotecteur	Viapiana et al., 2017
Aubépine (<i>Crataegus spp.</i>), fleurs et feuilles	Flavonoïdes glycosylés (hyperoside, vitexine), procyanidines	Flavonoïdes jusqu'à 2,5 % poids sec	Cardioprotecteur, hypotenseur, sédatif léger	Wang et al., 2013; Nazhand et al., 2020
Aspérule odorante (<i>Galium odoratum</i>), feuilles	Coumarine, glycosides iridoïdes, flavonoïdes, saponines	Coumarine ~0,1 % poids sec après séchage	Sédatif doux, digestif, antioxydant	Razzivina et al., 2024

2. La fermentation dans le domaine de l'agro-alimentaire

2.1. Définition et avantages de la fermentation

La fermentation est l'une des plus anciennes méthodes de transformation et de conservation des aliments (Marsh et al., 2014). Ce processus repose sur l'action de micro-organismes (MO) (bactéries, levures, moisissures) ou d'enzymes qui dégradent des molécules complexes, comme les glucides, en composés plus simples (Villarreal-Soto et al., 2018). Ces réactions biochimiques modifient la texture, la saveur et l'arôme des aliments, tout en améliorant leur valeur nutritionnelle. En effet, la fermentation accroît la biodisponibilité des vitamines, des acides aminés et des protéines, tout en réduisant les composés antinutritionnels et les substances toxiques (Bamforth et al., 2019; Sharma et al., 2020).

Les travaux de Pasteur au XIX^e siècle ont permis de mieux comprendre le rôle des MO dans ces transformations, ouvrant la voie à des procédés plus contrôlés (Caplice et al., 1999; Bamforth et al., 2019). Ce processus naturel confère également aux aliments divers bienfaits pour la santé, notamment des effets antioxydants, anti-inflammatoires et hypocholestérolémiants, tout en favorisant la digestion, l'immunité et la sécurité sanitaire (Villarreal-Soto et al., 2018; Sharma et al., 2020; Oliveira et al., 2022).

2.2. Microbiologie de la fermentation

2.2.1. Les différents types de fermentations

La fermentation des aliments repose sur deux approches principales. La première, dite spontanée, exploite les MO naturellement présents dans les matières premières ou

l'environnement (comme la choucroute, le kimchi et certains produits fermentés à base de soja). La seconde repose sur l'ajout de ferments permettant l'ensemencement du produit visant à un contrôle plus précis du processus de fermentation, comme pour le kéfir, le kombucha et le natto (Dimidi et al., 2019). Ce processus permet de produire une grande diversité d'aliments et de boissons fermentés, classées en fonction du substrat utilisé (Manna et al., 2021).

Sur le plan biochimique, la fermentation se divise en trois catégories principales (Katz, 2016). La fermentation alcoolique, principalement réalisée par les levures, permet la conversion des sucres composés carbonés en alcool et en dioxyde de carbone, comme dans la production du pain, de la bière et du vin. La fermentation lactique, notamment initiée par les bactéries lactiques (LAB), transforme les composés carbonés en acide lactique, donnant naissance à des aliments tels que le yaourt, le kimchi et les céréales fermentées. La fermentation acétique, réalisée en autre par les bactéries acétiques (AAB) (du genre *Acetobacter* principalement), permet la conversion de l'éthanol et des composés carbonés en acide acétique, jouant un rôle clé dans la fabrication du kombucha (Katz, 2016; Manna et al., 2021).

2.2.2. Diversité des micro-organismes de la fermentation

La présence de MO vivants dans un aliment ou une boisson n'est pas systématiquement garantie, même lorsque celui-ci résulte d'un processus de fermentation. En effet, certaines étapes de transformation, comme la cuisson (pain, certaines bières) ou la filtration (vin, certaines bières), peuvent inactiver ou éliminer ces MO. De plus, de nombreux aliments fermentés subissent un traitement thermique après fermentation afin d'assurer leur sécurité sanitaire et prolonger leur conservation. C'est le cas, par exemple, des saucisses fermentées, souvent cuites après fermentation, ou encore de la sauce soja et de certains légumes fermentés, stabilisés par la chaleur. Toutefois, l'absence de microbes vivants dans le produit fini n'exclut pas leur impact bénéfique, car ils peuvent avoir contribué à la production de vitamines, de molécules bioactives ou à l'élimination de facteurs antinutritionnels lors du processus fermentaire (Rezac et al., 2018).

La diversité des MO présents dans les aliments fermentés est présentée dans le Tableau 4.

Tableau 4 : Liste des micro-organismes fermentaires fréquemment retrouvés dans différents produits (Ray et al., 2014; Dimidi et al., 2019; Sharma et al., 2020).

Produits	Substrat	Mirco-organismes	Sources
Produits laitiers Yaourt, fromage, Kéfir, Yakult®	Lait et caséine du lait	<i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>Lactococcus lactis</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. cremoris</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>L. thermophilus</i> , <i>L. kefiri</i> , <i>L. caucasicus</i> , <i>Penicillium camemberti</i> , <i>P. roqueforti</i> , <i>Acetobacter lovaniensis</i> , <i>Kluyveromyces lactis</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i>	(Ray et al., 2014; Dimidi et al., 2019; Sharma et al., 2020)
Aliments à base de légumes Kimchi, Tempeh, Natto, Miso, Choucroute	Soja, Chou, Gingembre, Concombre, Brocoli, Radis	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Aspergillus sp.</i> , <i>Rhizopus oligosporus</i> , <i>R. oryzae</i> , <i>L. sakei</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>Thermotoga sp.</i> , <i>L. hokkaidonensis</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>Rhodotorula rubra</i> , <i>Leuconostoc carnosum</i> , <i>Bifidobacterium dentium</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Weissella confusa</i> , <i>Candida sake</i>	(Ray et al., 2014; Dimidi et al., 2019; Sharma et al., 2020)

<u>Aliments à base de céréale</u> Bahtura, Ambali, Chilra, Dosa, Kunu-Zaki, Marchu	Blé, Maïs, Sorgho, Millet, Riz	<i>L. pantheris, L. plantarum, Penicillium sp., S. cerevisiae, L. mesenteroides, E. faecalis, Trichosporon pullulans, Pediococcus acidilactici, P. cerevisiae, Delbrueckii hansenii, Deb. tamar</i>	(Dimidi et al., 2019; Sharma et al., 2020)
<u>Boissons</u> Vin, Bière, Kombucha, Sake	Raisins, Riz, Céréales	<i>Aspergillus oryzae, Zygosaccharomyces bailii, S. cerevisiae, Acetobacter pasteurianus, Gluconacetobacter, Acetobacter xylinus, Komagataeibacter xylinus</i>	(Dimidi et al., 2019; Sharma et al., 2020)
<u>Aliments à base de viande</u> Sucuk, Salami, Arjia, Jama, Nham	Viande	<i>L. sakei, L. curvatus, L. plantarum, Leuconostoc carnosum, Leuconostoc gelidum, B. licheniformis, E. faecalis, E. hirae, E. durans, Bacillus subtilis, L. divergens, L. carnis, E. cecorum, B. lentus</i>	(Sharma et al., 2020)

2.3. Focus sur les boissons fermentées

Les boissons fermentées, qu'elles soient préparées à partir de lait, de céréales ou de fruits, partagent la présence de MO bénéfiques, principalement des LAB, des AAB et des levures, qui leur confèrent des propriétés probiotiques et nutritionnelles (Blandino et al., 2003; Irkin, 2019; Yuan et al., 2024). Dans les produits laitiers fermentés comme le kéfir, le koumis ou l'ayran, la fermentation, réalisée à 25 °C pendant 24 h (pH ~4,5), est dominée par des LAB (*Lactobacillus, Streptococcus*) et des levures productrices de kéfiran, un polysaccharide influençant texture et fonctions biologiques (Irkin, 2019).

Les boissons fermentées à base de céréales, incubées à 35 °C pendant 2–3 jours (pH ~4), reposent également sur des LAB, qui améliorent la digestibilité, augmentent la biodisponibilité des vitamines et réduisent les facteurs antinutritionnels comme l'acide phytique, facilitant l'absorption des minéraux (Blandino et al., 2003). Enfin, les fermentations à base de fruits, réalisées à 20 °C sur 7 jours (pH ~3,5), impliquent surtout *Lactobacillus plantarum* et *L. acidophilus*, qui stimulent la production d'acides organiques, d'antioxydants et d'arômes (Yuan et al., 2024). Ces matrices peuvent aussi accueillir des AAB, participant à la transformation en vinaigre par oxydation biologique plutôt que par fermentation stricte.

Ainsi, bien qu'appuyées sur des principes microbiologiques communs, ces boissons se distinguent par la composition spécifique de leur population microbienne, les conditions de fermentation et les transformations biochimiques qui en résultent.

3. Le kombucha

3.1. Description du kombucha

Le kombucha est une boisson fermentée d'origine asiatique, traditionnellement élaborée à partir de thé noir sucré (*Camellia sinensis*). Il est consommé depuis 220 av. J.-C. en Mandchourie, notamment pour ses vertus thérapeutiques (Coelho et al., 2020; Zailani et al., 2022). Son nom viendrait de l'association de "Kombu", nom d'un médecin qui l'aurait introduit au Japon, et de "Cha", qui signifie "thé" en japonais (Coelho et al., 2020). Diffusé ensuite vers la Russie et l'Europe de l'Est, le kombucha était traditionnellement préparé de manière artisanale et transmis sous

forme de souche mère. Aujourd’hui, il connaît un renouvellement d’intérêt mondial en raison de ses potentiels bienfaits sur la santé (Dufresne et al., 2000; Zailani et al., 2022).

La fermentation du kombucha repose sur l’action d’une culture symbiotique de bactéries et de levures, appelée SCOPY (*Symbiotic Colony of Bacteria and Yeasts*), formant un biofilm flottant à la surface de la boisson. Ce processus implique principalement trois types de fermentation : alcoolique, lactique et acétique. Après inoculation du thé sucré avec du SCOPY et du jus de repiquage (JR), les levures hydrolysent le saccharose en glucose et en fructose lesquels sont ensuite fermentés en éthanol. Cet alcool est ensuite utilisé par les AAB comme substrat pour produire de l’acide acétique par oxydation, ce qui conduit à un faible taux d’alcool, bien que le kombucha soit considéré comme une boisson non alcoolisée. De plus, les AAB transforment le glucose en acide gluconique et en cellulose (SCOPY), et le fructose en acide acétique (Figure 8). Ces composés confèrent au kombucha son goût acidulé et jouent un rôle dans sa protection contre la contamination par des bactéries pathogènes (Villarreal-Soto et al., 2018; Manna et al., 2021; Suffys, Richard, et al., 2023).

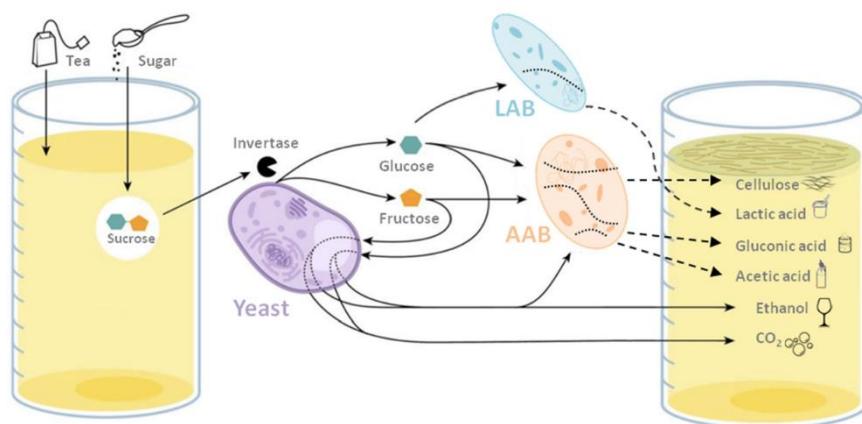


Figure 8 : Représentation schématique de l’interaction symbiotique entre les MO et les principaux métabolites produits lors de la fabrication du kombucha (Diez-Ozaeta et al., 2022).

Grâce à sa saveur légèrement acide, le kombucha est apprécié par les consommateurs et peut être considéré comme une alternative plus saine aux sodas ou aux vins mousseux. Le kombucha est disponible sur le marché comme boisson non alcoolisée car sa teneur en alcool est inférieure à 1,2% conformément à la législation européenne (1169/2011) (0,5 % pour les pays non-membres de l’UE) (RÈGLEMENT (UE) No 1169/2011, 2011; Coelho et al., 2020). Son attrait croissant, notamment en Occident, est lié à ses effets potentiels sur la santé, attribués à la présence de polyphénols, flavonoïdes et autres composés bioactifs. Ces éléments, naturellement présents dans le thé et modifiés par la fermentation, pourraient contribuer à des effets antioxydants et antimicrobiens, bien que des études complémentaires soient nécessaires pour valider ces bienfaits (Coelho et al., 2020; Soares et al., 2021).

3.1.1. SCOPY, micro-organismes et levures

3.1.1.1. SCOPY

Le SCOPY est un biofilm résultant de l’association symbiotique entre les levures, les AAB et les LAB (Figure 9). Aussi appelé « champignon de thé » en raison de son apparence gélatineuse, il se forme à la surface du kombucha sous l’effet de la fermentation. Ce biofilm est constitué principalement de cellulose bactérienne, produite par certaines AAB, qui permet aux MO de s’organiser en un écosystème stable (Jayabalan et al., 2014; Coelho et al., 2020).

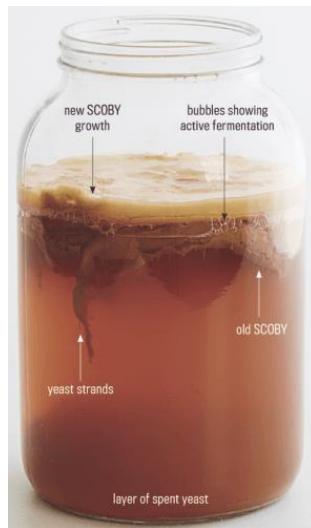


Figure 9 : Illustration d'une boisson fermentée de type kombucha et de son biofilm (SCOBY)

Le processus de formation du kombucha débute par l'infusion de thé noir ou vert, sucré au saccharose, puis refroidi à température ambiante (Figure 10). Ce mélange est ensuite inoculé par ensemencement avec le SCOBY et le JR, un kombucha préalablement fermenté et stable, contenant des bactéries et levures issues d'une culture mère. Dès cette étape, les levures hydrolysent le saccharose en glucose et fructose, fournant ainsi les substrats nécessaires à la fermentation (Leal et al., 2018; Abaci et al., 2022; Oliveira et al., 2022).

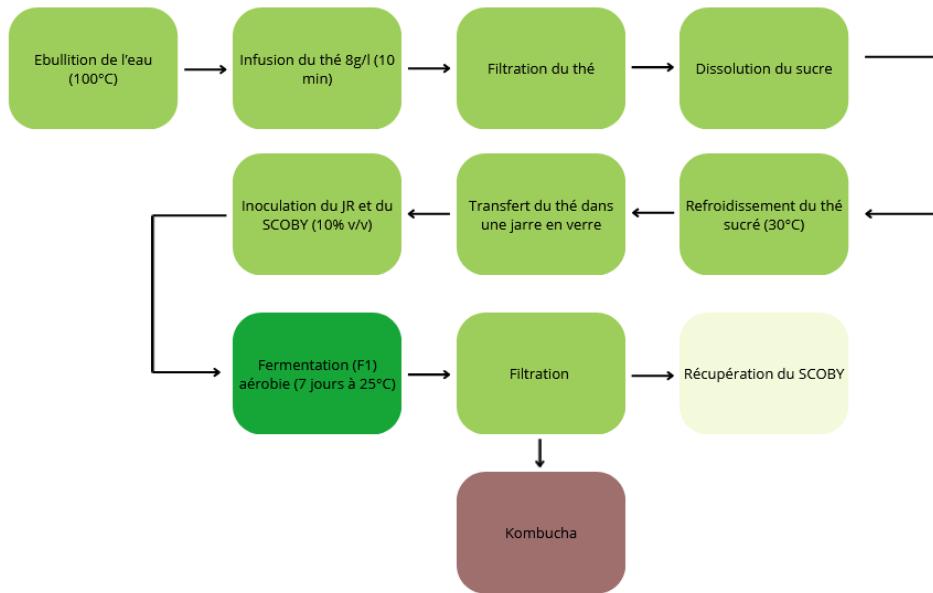


Figure 10 : Diagramme du processus de production d'une boisson fermentée de type kombucha (adaptation de Watawana et al., 2015).

La structure du SCOBY est essentielle au bon déroulement de la fermentation. Les AAB, nécessitant un environnement aérobique, restent en surface grâce à la matrice cellulosique, tandis que les levures, situées en profondeur, réalisent une fermentation anaérobique. Ce biofilm joue un rôle protecteur en stabilisant la culture et en limitant les contaminations extérieures. Sa qualité peut être évaluée selon plusieurs critères physiques : il doit mesurer entre 6 et 12 mm d'épaisseur, présenter une couleur allant du blanc au brun clair, et offrir une résistance suffisante lorsqu'il est manipulé (Soares et al., 2021).

3.1.1.2. Micro-organismes et levures

Les AAB jouent un rôle essentiel dans la fermentation du kombucha en contribuant à son acidité et à ses propriétés antimicrobiennes. Elles utilisent l'éthanol produit par les levures comme substrat pour la synthèse d'acide acétique, ce qui donne au kombucha son goût acidulé caractéristique tout en maintenant un faible taux d'alcool, généralement inférieur à 0,5 % (v/v) (Teoh et al., 2004; Villarreal-Soto et al., 2018). En parallèle, les AAB transforment également le glucose en acide gluconique et en cellulose, cette dernière entrant dans la composition du biofilm observable à la surface du liquide. Le fructose, quant à lui, est converti en acide acétique, renforçant l'action conservatrice du produit (Marsh et al., 2014; Suffys, Richard, et al., 2023).

Parmi les AAB les plus fréquemment rencontrées sont les genres *Acetobacter*, *Gluconacetobacter*, notamment *Acetobacter xylinum*, reconnu pour ses capacités de biosynthèse de matrice cellulosique (Jayabalan et al., 2014; Villarreal-Soto et al., 2018; Suffys, Richard, et al., 2023; Wang et al., 2024). Les levures, telles que *Saccharomyces*, *Dekkera*, *Zygosaccharomyces*, *Pichia*, *Lachancea* et *Starmerella*, participent à l'hydrolyse du saccharose en glucose et fructose, puis métabolisent ces sucres en éthanol et CO₂, ce qui sert de base au métabolisme des AAB (Marsh et al., 2014; Villarreal-Soto et al., 2018; Coelho et al., 2020; Jakubczyk et al., 2022; Suffys, Richard, et al., 2023). Leur activité influence non seulement la composition chimique mais aussi les caractéristiques sensorielles du produit final (Figure 11).

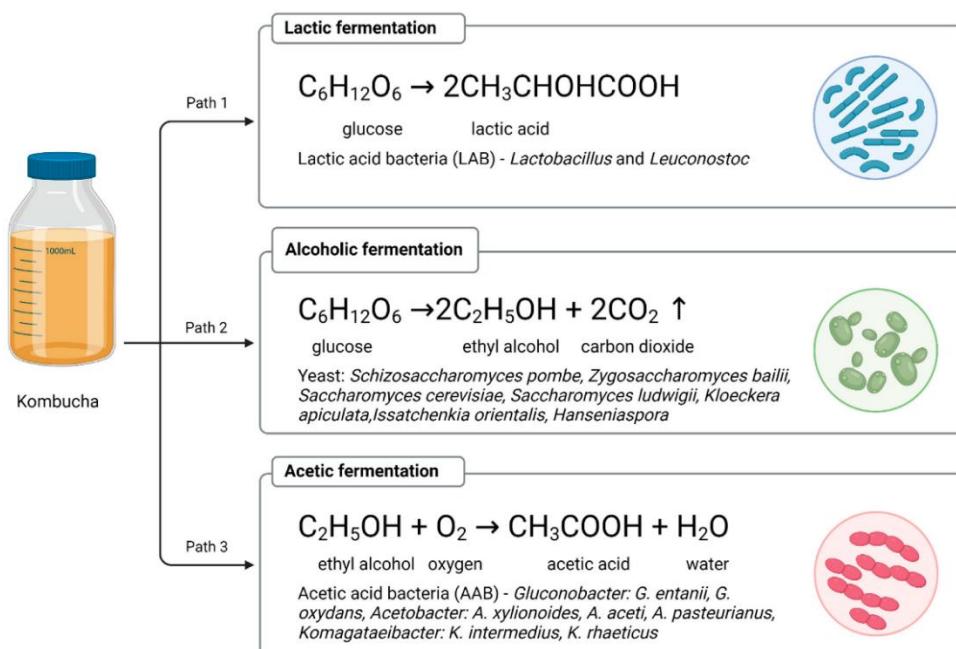


Figure 11 : Différents types de fermentation du kombucha (Jakubczyk et al., 2022).

L'utilisation croissante des levures non-*Saccharomyces* est particulièrement recherchée dans l'industrie agroalimentaire, car elles enrichissent le profil aromatique, améliorent la cinétique fermentaire et limitent le développement de MO indésirables. Leur interaction avec les levures *Saccharomyces* contribue à éviter les blocages fermentaires et à moduler les caractéristiques organoleptiques. Ce consortium microbien forme ainsi un système symbiotique complexe qui régule la qualité, la stabilité et les propriétés fonctionnelles du kombucha (Villarreal-Soto et al., 2018).

3.2. Facteurs de variation et paramètre d'analyse des boissons fermentées

La fermentation du kombucha est influencée par de nombreux facteurs physico-chimiques tels que la température, le pH, la concentration en oxygène, la durée de fermentation, la nature du substrat et la composition du SCOPY, qui modulent la production des métabolites et les propriétés finales du produit (Jayabalan et al., 2014; Marsh et al., 2014; Chakravorty et al., 2016). Parmi ces paramètres, la durée de fermentation est l'un des plus déterminants, influençant fortement la composition des produits fermentés, suivie par la température et la concentration en JR (Lončar et al., 2006).

La température, généralement comprise entre 22 et 30 °C, influence la croissance microbienne, l'activité enzymatique, la consommation du saccharose et la production de métabolites comme les acides organiques et la vitamine C (Villarreal-Soto et al., 2018; de Miranda et al., 2022; Oliveira et al., 2022). Elle peut également induire des changements dans la composition microbienne : par exemple, une élévation de 20 à 30 °C peut entraîner une transition de *Gluconacetobacter xylinus* vers *G. saccharivorans*, modifiant ainsi les concentrations en acide glucuronique et gluconique.

Le pH est un paramètre de fermentation clé, influençant à la fois la stabilité microbiologique, les voies métaboliques et les caractéristiques sensorielles. En début de fermentation, un pH inférieur à 3,8 permet d'éviter le développement de MO pathogènes (Villarreal-Soto et al., 2018). Le pH diminue progressivement à mesure que bactéries et levures métabolisent le saccharose en divers acides organiques, augmentant ainsi l'acidité totale et conférant à la boisson une acidité plus ou moins marquée tout en rehaussant certains arômes (Suffys, Goffin, et al., 2023). Lorsque l'acidité totale atteint environ 4 à 5 g/L, il est généralement conseillé d'arrêter la fermentation pour garantir un bon équilibre sensoriel.

Le choix du substrat et sa concentration exercent également une influence. Une concentration en saccharose d'environ 50 g/L semble optimale pour obtenir de bonnes teneurs en éthanol et en acide lactique en fin de fermentation (Jayabalan et al., 2014). Par ailleurs, la teneur en substrats solubles varie selon la capacité de la matrice de départ à libérer sucres libres et acides aminés, qui peuvent contribuer à des notes sucrées ou amères.

3.3. Propriétés et bienfaits du kombucha

Le kombucha est une boisson fermentée à base de thé sucré et d'une culture symbiotique de bactéries et de levures. La fermentation, génère divers composés bioactifs comme les acides organiques, les polyphénols, les enzymes et les vitamines, issus du thé et des transformations métaboliques microbiennes (Suffys, Richard, et al., 2023). Ses effets thérapeutiques incluent des propriétés antimicrobiennes, antioxydantes, antidiabétiques et anticancérigènes, ainsi qu'un rôle bénéfique dans la réduction du cholestérol, le soulagement des troubles digestifs et inflammatoires, et le renforcement du système immunitaire (Watawana et al., 2015; Coelho et al., 2020). Ces effets sont principalement attribués à la richesse en métabolites secondaires, aux vitamines produites pendant la fermentation, et à la présence de l'acide glucuronique, un composé impliqué dans les processus de détoxicification de l'organisme (Dufresne et al., 2000).

Son effet antioxydant dépasse celui du thé non fermenté, grâce à la transformation des polyphénols en métabolites plus actifs et à l'augmentation temporaire des flavonoïdes et de la vitamine C durant la fermentation (Jayabalan et al., 2014; Coelho et al., 2020; Zailani et al., 2022).

Il protège ainsi les cellules contre le stress oxydatif, notamment au niveau hépatique (Sinir et al., 2019).

Les propriétés anti-inflammatoires sont principalement liées à la capacité de l'acide glucuronique à se lier aux toxines endogènes et exogènes, favorisant leur excrétion et réduisant ainsi l'inflammation (Dufresne et al., 2000; Watawana et al., 2015). Cette action pourrait être bénéfique dans des maladies inflammatoires chroniques telles que « la goutte », l'arthrite ou les troubles rénaux, bien que son rôle précis reste à discuter (Dufresne et al., 2000; Czarnowska-Kujawska et al., 2024).

Son activité antimicrobienne, notamment contre les bactéries Gram-positives, résulte de la production d'acide acétique, qui pénètre les membranes bactériennes, acidifie le cytoplasme, inhibe la glycolyse et altère le métabolisme cellulaire (Zailani et al., 2022). Les catéchines et autres polyphénols renforcent cet effet (Coelho et al., 2020).

Le kombucha est aussi une source de vitamines hydrosolubles, notamment du groupe B (B1, B2, B6, B12) et de vitamine C, essentielles pour le métabolisme énergétique, la régulation du système nerveux et la protection antioxydante (Antolak et al., 2021; Suffys, Richard, et al., 2023).

Enfin, les MO présents dans le kombucha (levures et AAB) lui confèrent des propriétés probiotiques, en favorisant l'équilibre du microbiote intestinal et la modulation de l'immunité. Bien que des études complémentaires soient nécessaires, plusieurs travaux suggèrent un effet bénéfique sur la santé digestive (Coelho et al., 2020; Zailani et al., 2022).

3.4. Formation et transformation des composés aromatiques au cours de la fermentation

Le profil aromatique des boissons fermentées (Figure 12), comme le kombucha, est le résultat d'une combinaison complexe de composés organiques volatils (COV) qui évoluent tout au long du processus de fermentation. Ces arômes sont essentiels à l'identité sensorielle de la boisson, et leur formation est influencée par divers facteurs comme le substrat utilisé, les conditions de fermentation (notamment la température et la durée), et l'activité métabolique des MO impliqués. D'un point de vue analytique, les COV présents dans le kombucha peuvent être regroupés selon leur origine en trois grandes catégories : ceux directement issus des composants initiaux (comme le thé ou d'éventuels ingrédients ajoutés), ceux dérivés des sucres utilisés comme substrat, et enfin ceux produits par les MO au cours de la fermentation (Suffys, Goffin, et al., 2023).

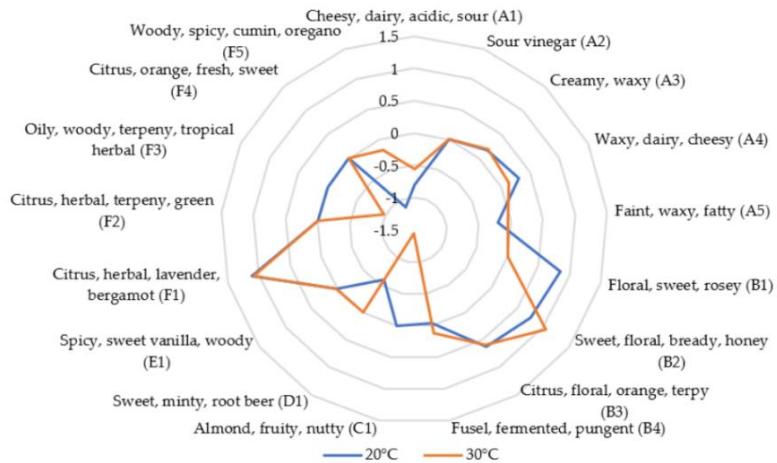


Figure 12 : Profil sensoriel (exprimé sous forme de logarithme de l'OAV ; OAV = concentration/seuil de perception) des composés volatils les plus représentatifs (% de surface > 1%) en fonction de la température (°C) lors de la fermentation du kombucha après 7 (Suffys et al., 2023).

Ces composés volatils, bien que présents en faibles concentrations, ont un impact olfactif majeur. Ils appartiennent principalement à six familles chimiques : les alcools, les esters, les acides carboxyliques, les cétones, les aldéhydes et les composés benzoïques (Kang et al., 2023; Suffys, Richard, et al., 2023). Leur concentration n'est pas stable au cours du temps : certaines molécules augmentent de manière progressive, tandis que d'autres diminuent ou disparaissent, ce qui modifie continuellement la flaveur perçue de la boisson. Cette dynamique traduit une cinétique de transformation propre à chaque composé, dépendante à la fois de la nature des MO présents (levures, AAB, etc.) et des réactions biochimiques qu'ils induisent (Zhao et al., 2018; Liszkowska et al., 2021).

Le développement de ces arômes résulte d'une diversité de processus biochimiques, incluant l'oxydation, la dégradation enzymatique de composés organiques complexes, ou encore la transformation de sucres et d'acides. La complexité du kombucha, comme d'autres produits fermentés, repose sur cette richesse aromatique en constante évolution, pouvant inclure des dizaines, voire des centaines de composés odorants détectables (Parker et al., 2014). L'accumulation progressive de certains métabolites, notamment les acides organiques, contribue également à la perception gustative et à l'équilibre global entre acidité, fraîcheur, et notes fruitées ou florales.

Afin d'étudier cette dynamique aromatique, l'analyse des COV s'appuie sur des méthodes sensibles et adaptées aux matrices aqueuses complexes. L'extraction par *stir bar sorptive extraction* (SBSE), suivie d'une analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS), permet une caractérisation fine et reproductible des composés volatils. Cette technique repose sur l'utilisation d'un barreau magnétique recouvert de polydiméthylsiloxane (PDMS), immergé dans l'échantillon pour y concentrer les composés d'intérêt sans recours aux solvants, grâce à des effets de salting-in et salting-out (Ochiai et al., 2018). Elle est particulièrement efficace pour détecter les COV à faible concentration et suivre leur évolution au cours du processus de fermentation. En combinant les données physico-chimiques (comme le pH, l'acidité ou la densité microbienne) avec les profils volatils, il est ainsi possible de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents à la formation de l'arôme du kombucha et son évolution au fil du temps (Zhao et al., 2018).

Objectifs

L'objectif de ce travail est de développer une boisson fermentée de type kombucha à partir de plantes forestières locales récoltées en Belgique. Pour cela, le travail s'articule autour de deux objectifs : la première consiste à identifier et sélectionner les plantes forestières les plus pertinentes pour l'élaboration d'un kombucha, la seconde à déterminer les paramètres de transformation à faire varier afin d'obtenir une formulation optimale.

Tout d'abord, la sélection des plantes se déroule en plusieurs étapes. Dans un premier temps, une recherche bibliographique approfondie est réalisée afin d'identifier la diversité des espèces forestières présentes dans nos régions, d'en caractériser les propriétés médicinales et aromatiques, ainsi que de recenser leur période de floraison respective. Sur base de ces informations, une première liste de plantes potentielles est établie (Annexe 1).

Ensuite, il est nécessaire de déterminer les critères de sélection définitive. Les espèces arborées sont écartées, en effet la société So Wood a déjà testé et commercialisé une large gamme de produits élaborés à partir de ces plantes. L'attention se porte donc sur les arbustes et les plantes herbacées. Afin d'orienter ce choix, un profil flash (expérimentation 2) est réalisé en testant différents kombucha à base d'infusion préparées avec plusieurs organes végétaux (racines, feuilles et fleurs). Les plantes sélectionnées sont la valériane et la consoude pour les racines, l'aspérula odorante et l'ortie pour les feuilles et la bruyère et la reine-des-prés pour les fleurs.

En tenant compte des périodes de floraison et de la disponibilité des matières premières en Belgique, trois espèces sont retenues pour les expérimentations suivantes : l'aubépine (Ab), l'aspérula odorante (As) et le sureau (S). Il est également crucial que ces plantes soient accessibles en herboristeries afin de pouvoir réaliser les analyses sensorielles prévues par la suite.

Une fois ces plantes sélectionnées, il faut déterminer quels paramètres de production vont être testés. Le choix se porte sur deux facteurs principaux : la température d'infusion (à chaud et à froid) et le taux de dessiccation du matériel végétal utilisé (frais ou sec). Ces deux variables combinées donnent lieu à quatre modalités expérimentales par plante : infusion à chaud avec des plantes fraîches (ICf), infusion à chaud avec des plantes sèches (ICs), infusion à froid avec des plantes fraîches (IFf) et infusion à froid avec des plantes sèches (IFs). Ces combinaisons servent de base aux essais de fermentation en vue de comparer leurs effets sur les propriétés sensorielles et biochimiques des boissons obtenues.

Matériel et méthode

1. Préparation du kombucha

La préparation du kombucha est réalisée selon un protocole standardisé permettant d'assurer la reproductibilité des fermentations. Cette formulation est utilisée uniquement dans le cadre de l'expérimentation 1, ainsi que pour la production de JR servant à l'ensemencement des kombuchas à base d'infusion de la forêt. Pour chaque litre de préparation, 300 mL d'eau de distribution est porté à ébullition. Un mélange de thé vert *Chun Mee Moon Palace* et de thé noir *Lien Son*, est ajouté à raison de 8 g/L (4 g/L de chaque type de thé). L'infusion est laissée à infuser pendant 10 minutes. Ensuite, 60 g de saccharose sont incorporés à chaud afin d'assurer une

dissolution totale. Enfin, 600 mL d'eau de refroidissement sont ajoutés. L'infusion sucrée est ensuite laissée à température ambiante jusqu'à atteindre 30 °C.

Une fois la température stabilisée, 10 g de SCODY sont ajoutés, ainsi que 100 mL de JR, issu d'un lot de kombucha précédemment fermenté dans les mêmes conditions. Le mélange est transféré dans des contenants en verre recouverts d'une gaze maintenue par un élastique afin de permettre des conditions de fermentation aérobies. La fermentation est conduite à 25 °C pendant 7 jours dans une étuve ventilée (Memmert UF55 ; F-Nr : B220 0023 ; 230 V – 56/60 Hz).

2. Infusions de la forêt

2.1. Préparation des kombuchas à base d'infusions de la forêt

Les infusions de la forêt sont élaborées à partir de plantes forestières récoltées localement. Trois espèces sont sélectionnées pour cette étude : l'aubépine, récoltée le 9 avril 2025 dans le bois de Rondeux à Gembloux ; l'aspérule odorante, récoltée le 25 avril 2025 dans le bois de Marche-les-Dames ; et le sureau noir, récolté le 22 mai 2025 dans le bois de Grand Leez. Deux types de préparations sont appliquées à ces plantes : l'infusion à chaud et l'infusion à froid. Dans les deux cas, 8 g de plantes (feuilles ou inflorescences) sont infusés dans 300 mL d'eau, à une concentration de 8 g/L.

Pour l'infusion à chaud, le protocole est le même qu'énoncé au-dessus (cf. 1.). Pour l'infusion à froid, les plantes sont placées directement dans 300 mL d'eau à température ambiante, puis laissées à macérer pendant 24 heures. Chaque type d'infusion est réalisé à partir de deux formes de matériel végétal : du matériel frais, directement utilisé après récolte, et du matériel sec, obtenu après déshydratation des plantes fraîches pendant 24 heures à 35 °C à l'aide d'un déshydrateur (Klarstein Master Jerky 300 ; Art.-Nr : 10031383 ; 220–240 V ~ 50/60 Hz ; 2000 W).

Quel que soit le mode d'infusion ou l'état du matériel végétal, la formulation du kombucha reste inchangée (cf. 1.) à la seule différence que pour les infusions de la forêt, le saccharose est ajouté à une concentration de 40 g/L.

3. Caractéristiques physico-chimiques des kombuchas et des kombuchas à base d'infusion de la forêt

3.1. Mesure du pH

Le suivi du pH est réalisé à l'aide d'un pH-mètre (HACH BeRight ; SensION+ pH1 ; S/N 605069 ; IP67), par mesure directe dans le milieu de culture. Les relevés ont été effectués aux jours J0, J1, J3 et J7 lorsque cela est possible, certaines mesures n'ayant pas pu être réalisées en raison des week-ends et jours fériés.

3.2. Dosage des composés majoritaires par HPLC

L'analyse quantitative des sucres (saccharose, fructose et glucose), de l'éthanol et des acides organiques (acide acétique et lactique) contenus dans les échantillons de kombucha est réalisée par chromatographie liquide à haute performance (HPLC).

Pour chaque échantillon, 1,5 mL de kombucha est prélevé et centrifugé (Centrifuge eppendorf MiniSpin ; F-45-12-11, 230 V/50–60 Hz) à 10 000 rpm pendant 10 minutes à température ambiante afin d'éliminer les particules en suspension. Le surnageant est ensuite récupéré et une prise d'essai de 1 mL est conservée pour l'analyse.

Les analyses sont effectuées sur un système HPLC Agilent Technologies modèle 1200 équipé d'un détecteur à indice de réfraction (RID) maintenu à 30 °C. La séparation des sucres est réalisée sur une colonne Aminex HPX-87C (Bio-Rad) avec de l'eau distillée comme phase mobile, appliquée en mode isocratique à un débit de 0,6 mL/min. La température de la colonne est maintenue à 85 °C et le volume d'injection est de 10 µL, pour une durée totale d'analyse de 24 minutes par échantillon. Concernant l'analyse de l'éthanol et des acides organiques, la séparation est effectuée sur une colonne Aminex HPX-87H (Bio-Rad) en utilisant comme phase mobile une solution d'acide sulfurique 5 mM, également appliquée en mode isocratique à un débit de 0,6 mL/min. La température de la colonne est de 50 °C et la durée d'analyse par injection est identique. L'identification des composés est réalisée par comparaison des temps de rétention avec ceux des standards, et la quantification se base sur l'intégration des aires des pics et l'application des courbes d'étalonnage correspondantes.

3.3. Analyse des composés organiques volatils par GC-MS

Les composés organiques volatils (COV) présents dans les échantillons de kombucha sont extraits par sorption sur barreau magnétique (SBSE), puis analysés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) (Agilent 7890A / 5975C inert XL EI/Cl MSD). Avant utilisation, les barreaux sont conditionnés pendant 2 h dans une solution ACN/H₂O (50 : 50, v/v) sous agitation magnétique, rincés à l'eau distillée, puis séchés par désorption thermique (40 °C → 260 °C, 10 °C/min, 2 h sous N₂ à 2 bars).

Les échantillons, préalablement décongelés et homogénéisés, sont transférés (5 mL) dans des vials de 20 mL contenant 1 g de NaCl. Un barreau SBSE conditionné est introduit dans chaque vial, puis agité pendant 2h à température ambiante. Les barreaux sont ensuite rincés, séchés et placés dans les tubes de désorption thermique. Un étalon interne (1 µL de 1-heptanol à 100 mg/L dans l'éthanol absolu) est ajouté à chaque échantillon. L'injection se fait en splitless mode, avec un débit de 1,2 mL/min (gaz vecteur : hélium). Les COV sont séparés sur une colonne VF-Wax (30 m × 250 µm × 0,25 µm). Le programme de température va de 40 °C (2 min) à 300 °C (6 °C/min), avec un palier final de 5 min (analyse totale : 50 min). Le spectromètre fonctionne en mode Full Scan (30–300 m/z), avec une ionisation par impact électronique (70 eV).

Les indices de rétention (IR) sont calculés à partir d'un mélange d'alcanes linéaires C6–C30. Les chromatogrammes sont interprétés via Mass Hunter Analysis (v. B.08.00). L'identification des composés se fait par comparaison aux bibliothèques NIST17 et WILEY275, suivie d'une vérification manuelle (nom IUPAC, CAS, RI). Les données sont filtrées selon deux critères : facteur de correspondance ≥ 80 % et aire relative ≥ 1 %.

Les concentrations sont calculées sur base de l'étalon interne. Concernant l'analyse aromatique des échantillons, les seuils de perceptions théoriques (référence dans l'eau) et les descripteurs aromatiques renseignés dans la littérature (PubChem, The Good Scents Company) sont utilisés. Afin de déterminer les molécules participant au bouquet aromatique final du produit, l'OAV (*odor activity value*) est calculé en faisant le ratio de la concentration par le seuil de perception théorique de chaque molécule. Seuls les composés présentant une OAV ≥ 1 sont retenus par l'analyse aromatique.

3.4. Analyse sensorielle

L'analyse sensorielle vise à décrire objectivement les caractéristiques perçues et à mesurer subjectivement l'appréciation globale d'un produit. Dans le cadre de ce travail, deux approches sont mises en œuvre : un test d'appréciation hédonique et un profil flash.

3.4.1. Profil flash

Le profil flash est une méthode descriptive rapide, adaptée à un panel restreint de sujets semi-entraînés. Dans ce sens, les participants sont recrutés en interne parmi des personnes ayant une familiarité avec les produits fermentés et capables de les décrire de manière précise. Le test est réalisé avec six juges, conformément aux recommandations méthodologiques.

Les six échantillons sont présentés simultanément, dans un ordre identique pour l'ensemble des juges. Chaque participant a, dans un premier temps, établi individuellement une liste de descripteurs sensoriels (ex. arôme, intensité gustative, couleur...), fondée sur ses propres perceptions après dégustation (cf. Annexe 2). Ces listes sont ensuite mises en commun, ce qui permet à chacun de réajuster ou d'enrichir sa propre terminologie, sans pour autant chercher un consensus. Chaque juge peut ainsi modifier ou compléter sa liste initiale afin de mieux refléter ses ressentis sensoriels (Dairou et al., 2002; Delarue et al., 2004). Enfin, pour chaque descripteur retenu, les juges procèdent à un classement des six échantillons, du plus au moins intense.

3.4.2. Test d'appréciation hédonique

Le test d'appréciation hédonique a pour objectif d'évaluer la satisfaction des consommateurs vis-à-vis des produits proposés, en mesurant leur degré d'acceptabilité et leurs préférences. Un panel de consommateurs dits « naïfs » (non entraînés) est constitué, conformément aux recommandations qui préconisent un minimum de 60 participants. Le recrutement est réalisé par diffusion d'une invitation auprès des étudiants et du personnel de Gembloux Agro-Bio Tech. Afin d'atteindre le nombre requis d'individus, des participants externes à la faculté sont également sollicités.

Les produits testés sont des kombuchas à base d'infusions de la forêt sélectionnées suivantes : l'aspérula odorante, l'aubépine, le sureau et la reine-des-prés. Afin d'harmoniser les profils aromatiques et pour des raisons de praticité, les plantes sont achetées dans l'herboristerie Prakriti à Walhain et sont préparées selon la méthode mentionnée au point 2.2. (ICs). Toutefois, en raison de la capacité limitée de la cuisine et des étuves, pour la production simultanée des quatre infusions, l'une d'entre elles est préparée selon un protocole légèrement différent, en fermenteur.

L'expérimentation s'est déroulée au rez-de-chaussée du Smart Gastronomy Lab (Gembloux, Belgique), dans des conditions standardisées. Quatre box sensoriels sont aménagés, conformes aux normes en matière d'éclairage, de neutralité des couleurs et l'absence d'odeur parasite. Avant le test, un formulaire (cf. Annexe 3) est remis à chaque participant. Il comprend des questions sur le profil du consommateur et ses habitudes de consommation. De l'eau et des biscuits sont fournies aux participants entre chaque dégustation. Au cours du test, les produits sont présentés de manière monadique. Les participants ont noté leur appréciation sur une échelle de type hédonique, selon différents critères.

3.5. Analyses des données brutes

Sauf indication contraire, l'ensemble des mesures est effectué en trois répétitions, et les valeurs sont exprimées en moyennes ($n=3$) \pm écart-type. Le traitement statistique des données s'est fait grâce au logiciel RStudio. Une analyse de la variance (ANOVA) est réalisée sur l'ensemble des données afin de déterminer s'il existe des différences significatives entre les modalités testées ($n=3$; $\alpha=0,05$). En cas de résultats significatifs, un test de Tukey est appliqué afin de comparer les moyennes. Lorsque cela est pertinent, une analyse en composante principale (ACP) est également menée pour visualiser les relations entre les échantillons et les variables mesurées. Pour les ACP réalisées sur les COV, seules les 20 molécules les plus représentatives ; c'est-à-dire celles présentes aux plus fortes concentrations, sont conservées afin d'obtenir un graphique plus lisible.

Résultats et discussions

1. Présentation du schéma expérimental

L'ensemble des expérimentations menées au cours de cette étude sont représentées à la Figure 13. L'expérimentation 1 constitue une étape préliminaire essentielle pour la prise en main du procédé de production de kombucha selon un protocole classique en jarre en verre (JV). Ensuite, la possibilité d'un mode de production alternatif est explorée en utilisant des silicones bags (SB), dans le but de comparer les profils physico-chimiques obtenus dans les deux types de contenants (JV et SB). Les résultats obtenus dans ses conditions expérimentales n'ont révélé aucune différence significative entre ces deux systèmes de production. Sur cette base, une cinétique d'évolution du kombucha est suivie sur 21 jours afin de caractériser les dynamiques de fermentation dans les deux contenants. Toutefois, la littérature indique que 7 jours représentent généralement la durée optimale de fermentation pour obtenir un équilibre satisfaisant entre acidité, effervescence et profil aromatique (Lončar et al., 2006; Jayabalan et al., 2014). C'est pourquoi, pour la suite des expérimentations, les mesures sont standardisées et réalisées uniquement après 7 jours de fermentation dans des jarres en verres.

L'expérimentation 2 vise à sélectionner les espèces végétales utilisées pour la préparation des infusions, en testant différentes plantes herbacées et arbustives. Les essais sont réalisés selon l'organe utilisé : racines, feuilles ou fleurs. L'expérimentation 3 s'intéresse à l'influence des procédés de transformation du matériel végétal sur les propriétés de la boisson finale. Les paramètres étudiés incluent la température d'infusion (à chaud ou à froid) ainsi que le matériel végétal utilisé (frais ou sec). Certains facteurs tels que la quantité de matière première et le temps d'infusion ne sont pas testés dans cette étude. En effet, dans une optique économique, ces paramètres sont fixés sur base de la formulation déjà utilisée pour la gamme d'infusions forestières « So Wood ». Le coût élevé des plantes récoltées en milieu forestier impose un compromis entre richesse aromatique et accessibilité économique. C'est pourquoi une faible concentration en végétaux, associée à un temps d'infusion prolongé, est privilégiée : cette

stratégie permet d'obtenir une boisson suffisamment aromatique tout en respectant le *food cost* nécessaire à la viabilité commerciale du produit.

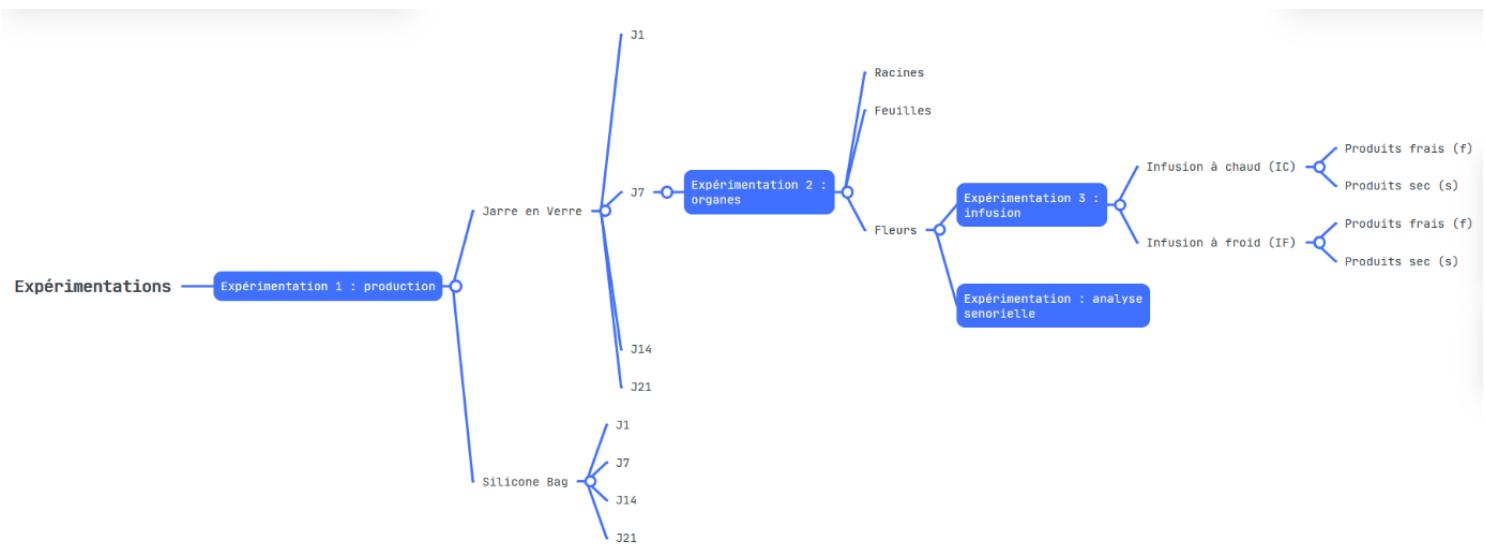


Figure 13 : Schéma expérimental des expérimentations menées.

2. Caractérisation physico-chimique des kombuchas et des kombuchas à base d'infusion de la forêt

2.1. Mesure du pH

Les cinétiques d'évolution du pH des kombuchas pour l'ensemble des échantillons étudiés sont représentés dans les Figures 14 à 16. Les données brutes sont reprises en Annexe 4.

2.1.1. Expérimentation 1

Dans l'expérmentation 1 (SB & JV), les valeurs initiales de pH se situent légèrement en dessous de 3,0 (moyenne : $2,92 \pm 0,00$). Une diminution progressive est observée tout au long de la fermentation, atteignant $2,65 \pm 0,02$ après 21 jours. L'évolution de la cinétique se décompose en deux phases : une phase de diminution rapide entre J0 et J7, suivie d'une baisse plus lente et stabilisée entre J7 et J21 (Figure 14).

Cependant, on peut constater qu'il existe un biais probable sur la mesure du pH au J0, avec une valeur de 2,92, alors qu'en J1, que ce soit pour les SB ou les JV, le pH mesuré est de l'ordre de 3,8. Cette divergence suggère une erreur de prélèvement. Par ailleurs, on observe également une chute de pH plus rapide dans les SB que les JV durant la première phase de fermentation. Néanmoins, après 21 jours, le pH final des deux types de productions est similaire, avec un pH moyen de 2,79 pour les SB et de 2,60 pour les JV. De plus aucune différence significative n'est observée entre les deux types de contenant ($p>0,05$).

Ces tendances correspondent à celles décrites par Zhao et al. (2018), qui ont observé une diminution du pH de $4,05 \pm 0,00$ à $3,00 \pm 0,03$ sur 14 jours, avec une dynamique linéaire et des différences très hautement significatives ($p<0,0001$) tout au long du processus. Elles reflètent l'accumulation progressive d'acides organiques produits par l'activité des levures et des bactéries acétiques. De plus, la dynamique en deux phases (chute rapide puis stabilisation) s'inscrit dans la tendance généralement rapportée dans la littérature, et témoigne du déroulement correct de la fermentation (Suffys, Richard, et al., 2023).

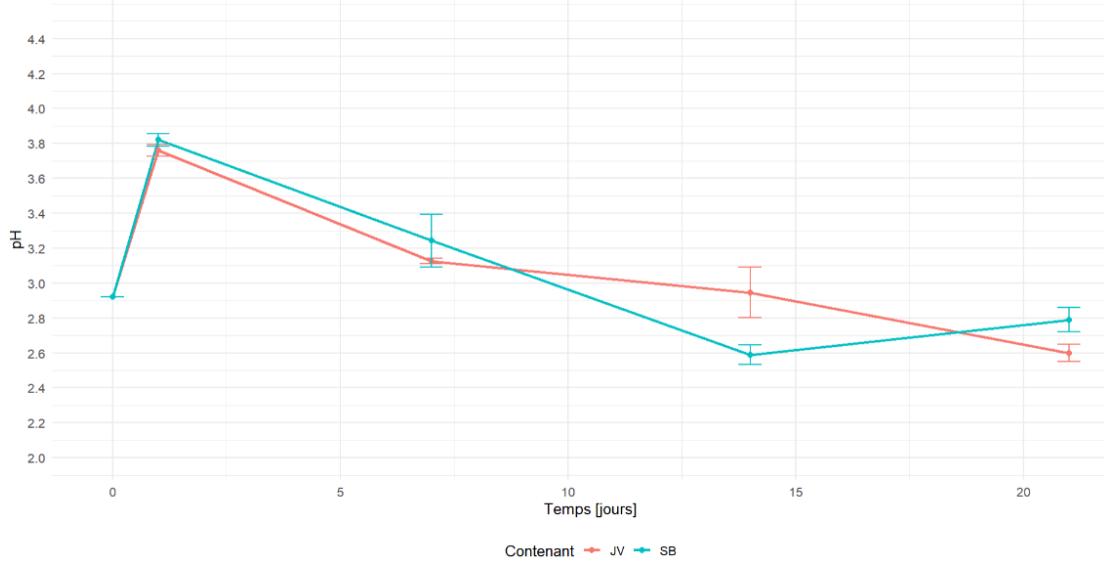


Figure 14 : Evolution du pH du kombucha en fonction des contenants (JV et SB) et de la durée de fermentation (jour) (moyenne \pm écart-type ; $n = 3$).

2.1.2. Expérimentation 3

Concernant l'expérimentation 3, les kombuchas à base d'infusions d'aubépine, d'aspérule odorante et de sureau présentent un pH initial moyen de $4,00 \pm 0,04$. Après 7 jours de fermentation, le pH atteint respectivement $3,10 \pm 0,03$ (aubépine), $3,12 \pm 0,04$ (aspérule) et $3,15 \pm 0,02$ (sureau) (Figure 15). La dynamique observée suit le même schéma cinétique que celle de l'expérimentation 1, à savoir une baisse plus marquée durant les 3 premiers jours (J0–J3), puis un ralentissement de la diminution entre J3 et J7. Cette cinétique est cohérente avec celle décrite par Suffys, et al. (2023), qui a mis en évidence une diminution rapide du pH en phase initiale (0–10 jours) suivie d'une stabilisation (10–14 jours), considérée comme un indicateur indirect de l'accumulation d'acides organiques et de la croissance microbienne.

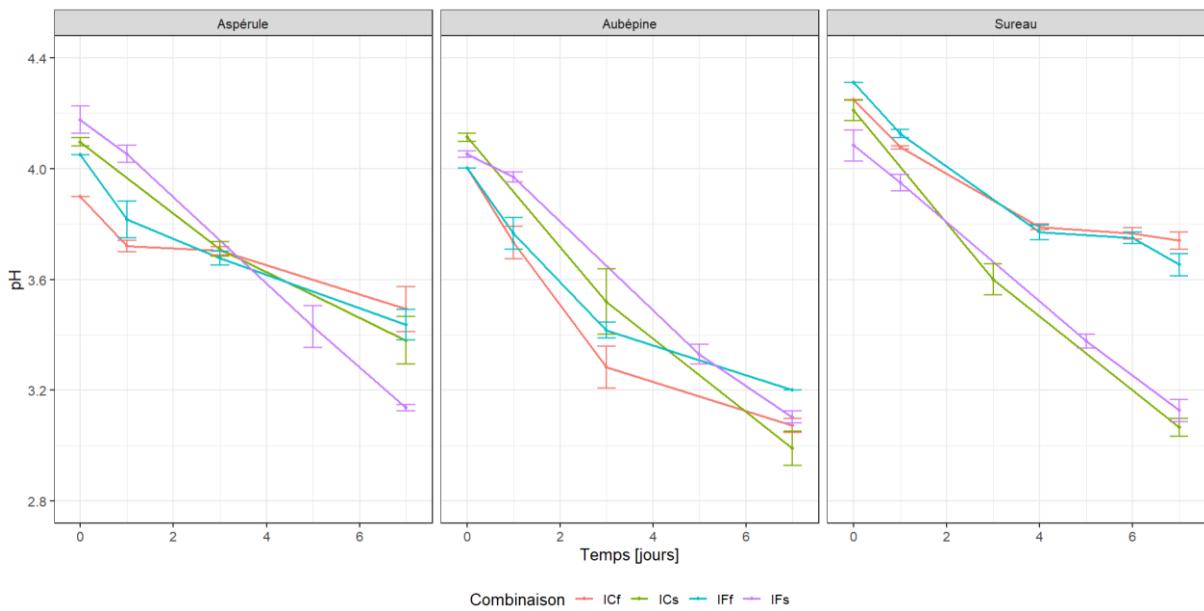


Figure 15 : Évolution du pH des kombuchas à base d'infusions d'aspérule odorante, d'aubépine et de sureau dans le temps, selon quatre traitements combinant température d'infusion (IC : infusion chaude, IF : infusion froid) et matériel végétal (f : frais, s : séché) (moyenne ± écart-type ; n = 3).

Aucune différence significative ($p>0,05$) n'est observée entre les trois espèces végétales testées ou entre la température d'infusion (à chaud et à froid) en termes de pH final après 7 jours de fermentation. En revanche, une différence significative ($p<0,05$) est constatée entre les plantes fraîches et sèches, les plantes sèches présentent un pH final légèrement plus faible (Figure 16). Ce résultat peut s'expliquer par les effets du séchage sur la structure cellulaire des plantes, qui facilite la libération des composés solubles dans l'eau, tels que les sucres simples, les polyphénols ou les acides organiques. Plusieurs travaux ont montré que la déshydratation induit une rupture des parois cellulaires, augmentant la biodisponibilité des composés d'intérêt lors de l'infusion (Villarreal-Soto et al., 2018; Vallino et al., 2022). Cette meilleure disponibilité en substrats fermentescibles favorise ensuite une activité métabolique accrue des levures et bactéries, entraînant une production plus importante d'acides organiques et donc une acidification plus marquée (Manna et al., 2021).

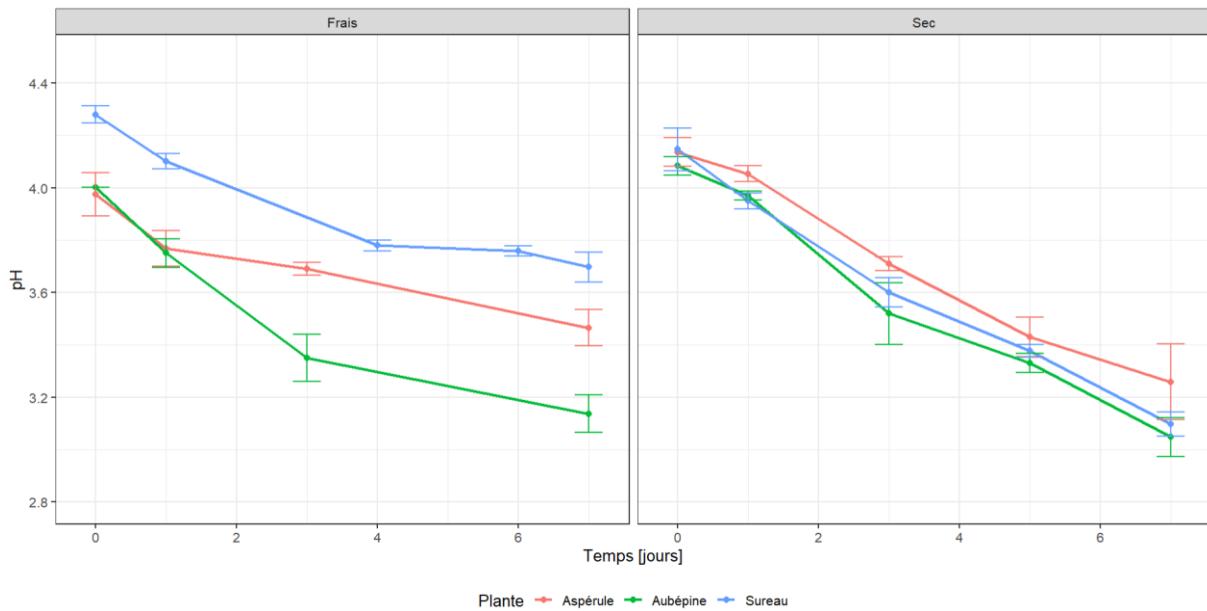


Figure 16 : Evolution du pH des kombuchas à base d'infusions d'aspérule odorante, d'aubépine et de sureau en fonction de la durée de fermentation et du matériel végétal (sec et frais) (moyenne ± écart-type ; $n = 3$).

Il est également intéressant de souligner qu'une plus grande variabilité des valeurs de pH est observée dans les échantillons élaborés avec du matériel frais par rapport aux produits secs. Ce phénomène peut être lié à une composition plus hétérogène des produits frais, notamment en termes d'humidité, de degré de maturation ou de concentration en composés secondaires, comme cela est suggéré par Coelho et al. (2020) dans le cadre de l'évaluation de la stabilité microbiologique du kombucha.

Enfin, quel que soit le type d'infusion et l'état du produit, l'aubépine présente systématiquement un pH final légèrement plus acide que les autres matrices végétales. Cette observation peut être liée à la composition chimique spécifique de l'aubépine, notamment sa richesse en polyphénols et tanins hydrolysables, qui peut influencer le métabolisme microbien (Nazhand et al., 2020).

Toutes les valeurs mesurées restent dans l'intervalle de sécurité défini par Coelho et al. (2020), compris entre 2,5 et 4,2. Ce maintien des conditions optimales d'acidité contribue à la stabilité microbiologique et à la sécurité du produit, tout en respectant les standards sensoriels décrits dans la littérature (Jayabalan et al., 2014).

2.2. Dosage des composés majoritaires par HPLC

Le dosage des sucres (saccharose, fructose et glucose), de l'éthanol et des acides organiques (acide acétique et lactique) présents dans les échantillons de kombucha et de kombucha à base d'infusion de la forêt sont présentés dans les Figures 17 à 21. Les données brutes sont reprises en Annexe 5.

2.2.1. Expérimentation 1

Concernant l'expérimentation 1, le facteur temps exerce un effet hautement significatif ($p<0,001$) sur la concentration des trois sucres mesurés. Quelle que soit la nature du contenant utilisé (SB ou JV), aucune différence significative n'est observée ($p>0,05$) (Figure 17). Les kombuchas présentent une concentration initiale en saccharose de $70\text{ g/L} \pm 2,5$. Au cours de la fermentation, cette concentration diminue progressivement, pour atteindre $51\text{ g/L} \pm 1,4$ en SB et $40\text{ g/L} \pm 0,8$ en JV après 21 jours de fermentation. La diminution est particulièrement marquée entre J14 et J21 dans les JV, traduisant probablement d'une intensification de l'activité enzymatique et microbienne sur cette période. En parallèle, les concentrations en fructose et en glucose augmentent de manière corrélée à la baisse du saccharose, traduisant une hydrolyse progressive de ce disaccharide en monosaccharides sous l'action de l'invertase produite par les levures (Kulshrestha et al., 2013). Cette accumulation transitoire de sucres simples reflète une étape intermédiaire dans la dynamique fermentaire, telle que décrite par (Neffe-Skocińska et al., 2017) : les levures scindent activement le saccharose, tandis que les bactéries acétiques utilisent ensuite ces produits pour métaboliser le glucose (en acide gluconique et cellulose) et convertir l'éthanol issu de la glycolyse en acide acétique. Cette transformation conjointe des substrats, observée également par Suffys et al. (2023), explique la diminution progressive du saccharose, suivie de l'épuisement des sucres simples au profit de métabolites secondaires comme les

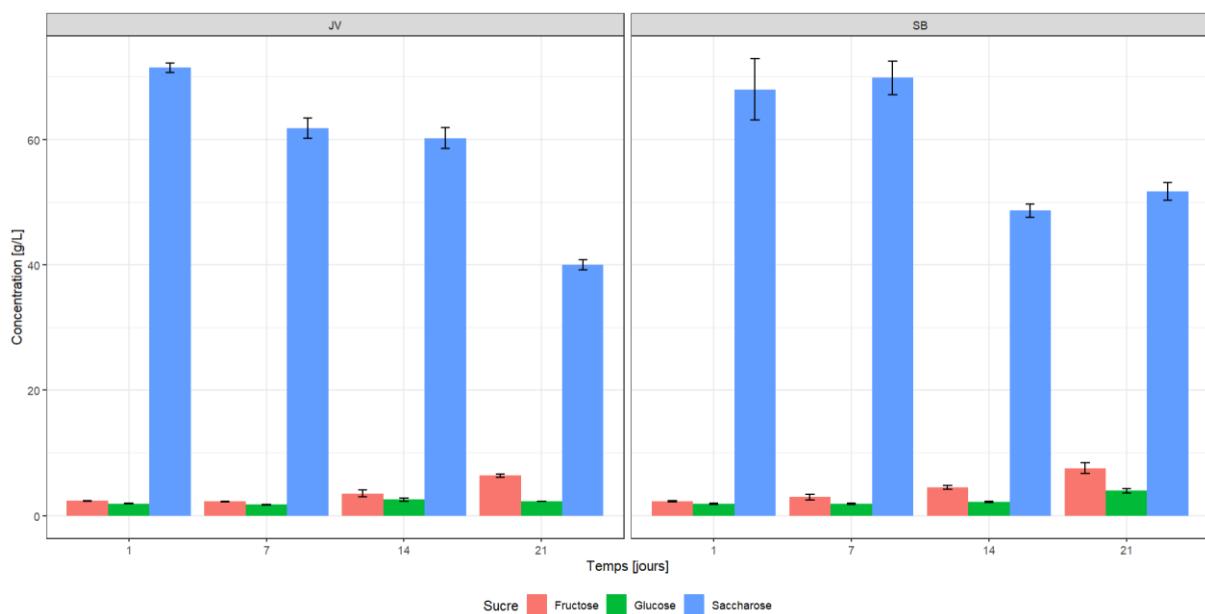


Figure 17 : Evolution des concentrations en saccharose, fructose et glucose en fonction de la durée de fermentation et du type de contenant utilisé (JV = jarre en verre et SB = silicone bag) (moyenne ± écart-type ; $n = 3$).

La cinétique des concentrations montre que le facteur temps de fermentation exerce un effet significatif ($p<0,05$) sur la production d'acide acétique, avec une augmentation progressive jusqu'au 14^e jour, atteignant un maximum de $15\text{ g/L} \pm 0,17$, suivie d'une légère diminution (Figure 18). Cette évolution est cohérente avec celle observée par (Jayabalan et al., 2007), qui rapportent une concentration maximale de $9,5\text{ g/L}$ au 15^e jour dans un kombucha préparé à partir de thé vert. Cette cinétique s'explique par la croissance progressive des AAB, qui utilisent de grandes quantités d'oxygène pour oxyder l'éthanol (issu de la fermentation primaire par les levures) en acétaldéhyde, puis en acide acétique, via l'enzyme acétaldéhyde déshydrogénase (Jayabalan et al., 2007; Villarreal-Soto et al., 2018).

En revanche, aucune variation significative ($p>0,05$) n'est détectée pour la synthèse d'éthanol et d'acide lactique en fonction de la durée de fermentation. La concentration en éthanol reste stable, ce qui suggère un équilibre entre sa production par les levures et sa consommation par les AAB. L'acide lactique reste quant à lui présent en faible quantité (environ $2,5 \text{ g/L} \pm 0,04$), ce qui est attendu au vu de la faible abondance des LAB dans le SCOPY. Comme le rapportent Suffys et al. (2023), les LAB sont minoritaires et leur contribution à la fermentation est souvent minimale en comparaison à celle AAB.

De plus, les analyses statistiques n'ont montré aucun effet significatif ($p>0,05$) du type de contenant utilisé sur la production de l'éthanol et des acides organiques (acétique et lactique). Les kombuchas produit en silicones bags entraînent une production plus rapide et plus importante d'acide acétique, ce qui laisse penser que ces dispositifs favorisent l'activité des AAB. Cette tendance peut s'expliquer par une meilleure gestion de l'exposition à l'oxygène grâce aux propriétés perméables à l'air des silicones bags, favorisant ainsi la conversion de l'éthanol en acide acétique. Ces observations rejoignent les résultats de (Czarnecki et al., 2024), qui ont mis en évidence que certaines configurations physiques de fermentation peuvent stimuler la conversion de l'éthanol en acides organiques.

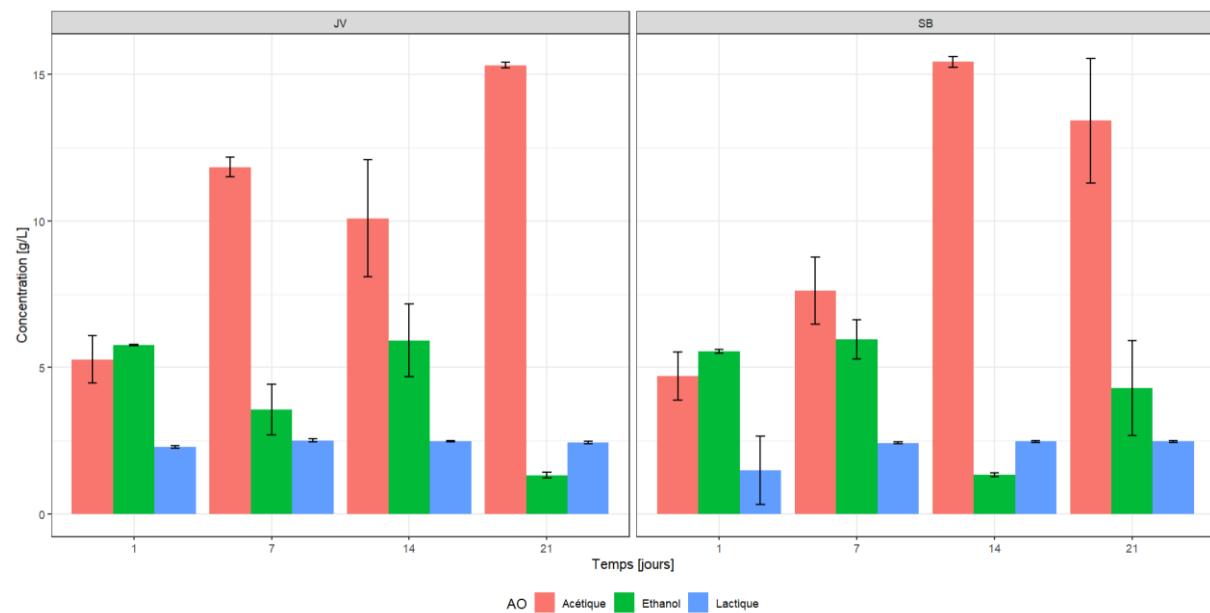


Figure 18 : Evolution des concentrations en acide acétique, lactique et éthanol en fonction de la durée de fermentation et du contenant utilisé (JV = jarre en verre, SB = silicone bag) (moyenne \pm écart-type ; $n = 3$).

2.2.2. Expérimentation 3

2.2.2.1. Espèces végétales

L'expérimentation 3 permet de mettre en évidence que l'espèce de plante (aspérule odorante, aubépine ou sureau) n'influence pas significativement la concentration en sucres à l'issue de 7 jours de fermentation ($p>0,05$) (Figure 19). Plus précisément, les kombuchas à base d'infusions de sureau se distinguent par une teneur particulièrement faible en saccharose ($11,01 \text{ g/L} \pm 4,79$) et plus élevée en fructose ($15,53 \text{ g/L} \pm 4,09$) et glucose ($9,46 \text{ g/L} \pm 1,14$) en comparaison aux autres matrices végétales et aux valeurs de référence du kombucha classique. Cette tendance peut être attribuée à une plus forte activité enzymatique ou à une meilleure disponibilité initiale des sucres présents dans les fleurs de sureau.

Après 7 jours de fermentation, les résultats montrent que la concentration en acide lactique est semblable quelle que soit l'infusion, avec une moyenne de $1,25 \text{ g/L} \pm 0,65$. Cette faible teneur en acide lactique confirme la contribution limitée des LAB au sein du consortium microbiologique du kombucha, indépendamment de la matrice végétale utilisée, confirmant ainsi les observations tirées de l'expérimentation 1. La composition du SCODY étant généralement dominée par les levures et les AAB, la présence des LAB reste minimale, en raison d'une plus faible production d'acide lactique (Manna et al., 2021; Suffys, Richard, et al., 2023).

En revanche, une différence significative ($p<0,05$) de la concentration en acide acétique en fonction des plantes utilisée est observée. Cette variabilité peut s'expliquer par des différences dans la composition biochimique des extraits végétaux, notamment en termes de substrats carbonés disponibles, de tanins ou de polyphénols, pouvant potentiellement influencer directement l'activité métabolique des AAB. Certaines plantes, comme le sureau, peuvent offrir un environnement plus favorable à la croissance bactérienne ou à l'oxydation de l'éthanol, en raison de leur richesse en composés antioxydants et en métabolites secondaires (Jimenez-Garcia et al., 2020).

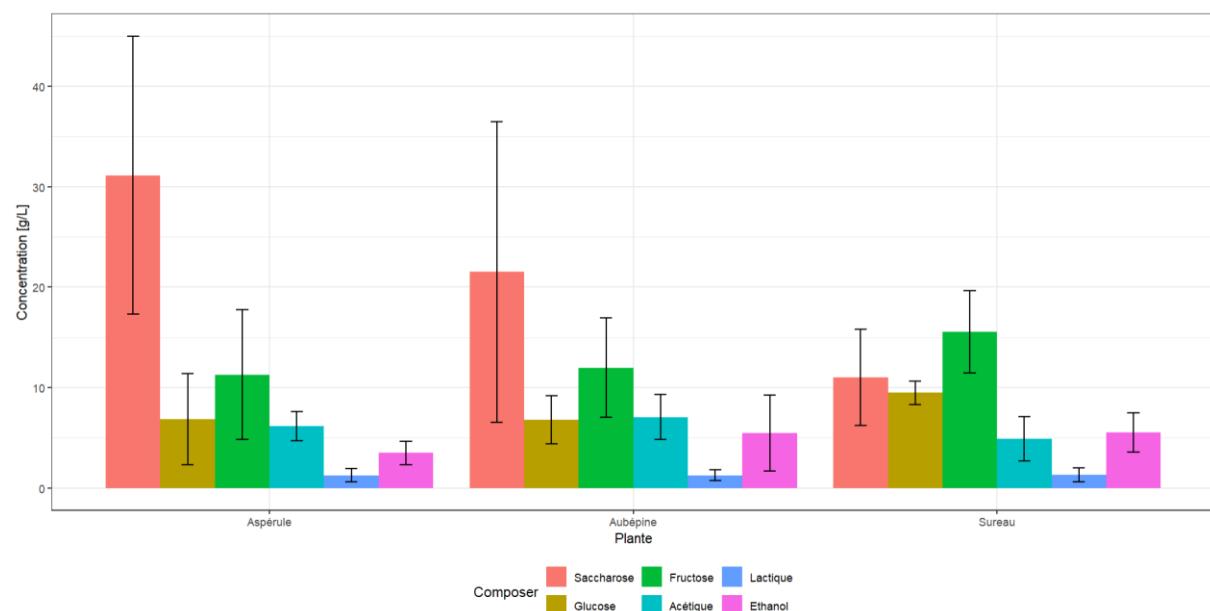


Figure 19 : Concentration des sucres (g/L) (saccharose, fructose et glucose), de l'éthanol (g/L) et des acides organiques (g/L) (acide acétique et lactique) par espèces végétales (aspérule odorante, aubépine et sureau) après 7 jours de fermentation (moyenne \pm écart-type ; $n = 3$).

2.2.2.2. Taux de dessiccation du matériel végétal

Concernant les modalités d'infusion des plantes fraîches et sèches, une différence significative ($p<0,05$) est observée. Ce constat peut s'expliquer par plusieurs mécanismes liés aux effets du séchage sur la structure cellulaire et la composition biochimique des matrices végétales. En effet, le séchage induit une désorganisation des tissus foliaires et une déformation des cellules. Ces modifications anatomiques facilitent la rupture des membranes cellulaires et l'extraction des composés intracellulaires, notamment les sucres et les enzymes comme les invertases (Vallino et al., 2022).

Les invertases, présentes naturellement dans les tissus végétaux, sont des β -fructofuranosidases capables d'hydrolyser le saccharose en fructose et glucose, particulièrement actives à un pH compris entre 3,5 et 4,0 (Kulshrestha et al., 2013). Le séchage rend ces enzymes plus accessibles,

tout comme les sucres piégés dans les cellules végétales, ce qui favorise leur transformation dès le début de la fermentation (Vallino et al., 2022).

En effet, les résultats obtenus confirment ces hypothèses. La concentration moyenne en saccharose est de $30,43 \text{ g/L} \pm 14,31$ pour les plantes fraîches contre $11,99 \text{ g/L} \pm 6,44$ pour les plantes sèches, tandis que le fructose atteint respectivement $8,31 \text{ g/L} \pm 2,92$ et $17,52 \text{ g/L} \pm 2,78$, et le glucose $5,54 \text{ g/L} \pm 2,87$ et $9,82 \text{ g/L} \pm 1,77$ (Figure 20). Ces données illustrent un rapport inverse entre la teneur en saccharose et celle en sucres simples, phénomène précédemment décrit dans la littérature par Zhang et al., (2021), rapportant une diminution progressive du saccharose accompagnée d'une accumulation parallèle du fructose et du glucose au cours de la fermentation du kombucha.

L'analyse met également en évidence des différences hautement significatives ($p<0,001$) entre les taux de dessiccation du matériel végétal (frais et secs) concernant la synthèse de l'éthanol et des acides acétiques et lactiques. De manière générale, les infusions formulées sur base de plantes sèches ont conduit à des concentrations plus élevées en acides organiques, ce qui suggère que le séchage permet l'optimisation de l'extraction des substrats augmentant la disponibilité des composés bioactifs pour le consortium microbien (Manna et al., 2021).

Sur le plan quantitatif, les plantes sèches générèrent en moyenne $7,43 \pm 1,65 \text{ g/L}$ d'acide acétique, $1,04 \pm 0,47 \text{ g/L}$ d'acide lactique et $6,07 \pm 2,69 \text{ g/L}$ d'éthanol, contre respectivement $4,62 \pm 1,57 \text{ g/L}$, $1,48 \pm 0,67 \text{ g/L}$ et $3,58 \pm 1,98 \text{ g/L}$ pour les plantes fraîches. Ces résultats confirment que le séchage, en modifiant les structures cellulaires des tissus végétaux, facilite l'extraction des composés solubles tels que les sucres et les enzymes, qui servent de substrats au MO. Et cette meilleure disponibilité favorise la fermentation, conduisant une production accrue d'éthanol et d'acides organiques. Ces observations soulignent l'intérêt du séchage pour optimiser les fermentations à base de plantes, même si des analyses complémentaires seraient nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes sous-jacents.

Par ailleurs, une autre hypothèse est que le processus de séchage entraîne une concentration des composés actifs et des MO. À masse équivalente, une infusion préparée avec 10 g de matière sèche équivaut à environ 60 g de matière fraîche, ce qui implique une concentration des composants bioactifs et fermentescibles dans les infusions à base de plantes sèches. Cette concentration, couplée à la meilleure accessibilité des substrats, peut expliquer la plus forte hydrolyse du saccharose et la fermentation spontanée observée dans les infusions de plantes sèches.

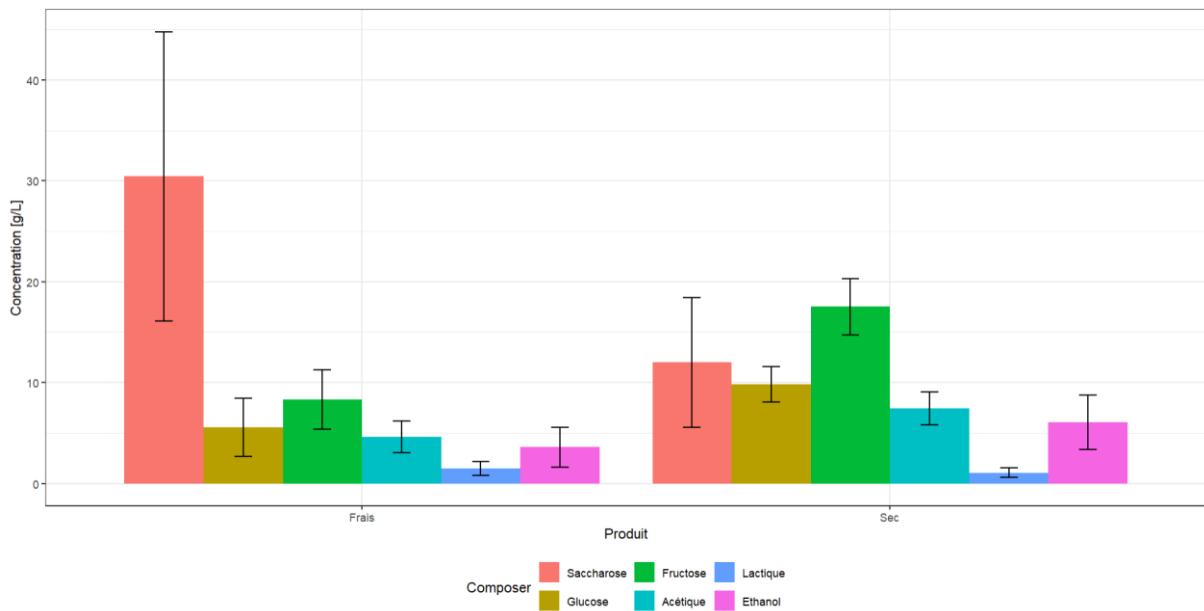


Figure 20 : Concentration des sucres (g/L) (saccharose, fructose et glucose), éthanol (g/L) et des acides organiques (g/L) (acide acétique et lactique) par taux de dessiccation du matériel végétal (frais ou secs) après 7 jours de fermentation (moyenne \pm écart-type ; $n = 3$).

2.2.2.3. Température d'infusion

Enfin, concernant la température d'infusion, les résultats indiquent que les infusions à chaud et à froid présentent des profils comparables en termes de composition en sucres. Pour les infusions à chaud, les concentrations moyennes sont de $19,93 \text{ g/L} \pm 16,14$ en saccharose, $7,95 \text{ g/L} \pm 3,11$ en glucose et $12,87 \text{ g/L} \pm 5,41$ en fructose, tandis que pour les infusions à froid, elles sont de $22,49 \text{ g/L} \pm 12,73$, $7,41 \text{ g/L} \pm 2,78$ et $12,96 \text{ g/L} \pm 5,64$ respectivement (Figure 21). L'absence de différence significative ($p > 0,05$) entre ces modalités confirme que la température initiale d'infusion n'a pas d'effet marqué sur l'hydrolyse des sucres dans les conditions expérimentales.

Un autre résultat remarquable concerne la distribution des monosaccharides. Dans l'ensemble des conditions testées, le fructose atteint systématiquement des concentrations plus élevées que le glucose. Cette observation est en accord avec les travaux de Suffys et al. (2023), qui expliquent que les bactéries acétiques consomment préférentiellement le glucose pour produire de l'acide gluconique et de la cellulose, tandis que le fructose s'accumule plus facilement dans le milieu.

Les résultats montrent également que les infusions à froid induisent une production d'éthanol significativement plus élevée ($p < 0,05$) que les infusions à chaud. Cette tendance peut s'expliquer par le fait que l'infusion à froid préserve davantage certains enzymes sensibles à la chaleur, celle-ci participant à la transformation des sucres en éthanol. En limitant la dégradation thermique, ce mode d'infusion favorise donc une fermentation alcoolique plus active au début du processus. Ces enzymes peuvent ensuite soutenir l'activité fermentaire des levures, notamment des souches du genre *Saccharomyces spp.*, au début de la fermentation (Suffys, Richard, et al., 2023). À l'inverse, les infusions à chaud peuvent entraîner une dégradation thermique des enzymes et une précipitation de composés solubles essentiels à la fermentation, réduisant ainsi la conversion de sucres en éthanol.

Il est intéressant de souligner que les résultats obtenus à 7 jours dans cette expérimentation recoupent ceux observés dans l'expérimentation 1 au même stade de fermentation : une

concentration élevée en acide acétique ($6,22 \text{ g/L} \pm 2,35$), une concentration intermédiaire en éthanol ($3,9 \text{ g/L} \pm 1,6$), et une concentration faible en acide lactique ($1,37 \text{ g/L} \pm 0,64$). Cette convergence suggère que, quels que soient les modalités testées : les espèces végétales, le taux de dessiccation de la plante ou la température d'infusion, la cinétique fermentaire du kombucha suit un schéma commun, caractérisé par une synthèse rapide de l'acide acétique en début de fermentation, suivie d'une phase de stabilisation.

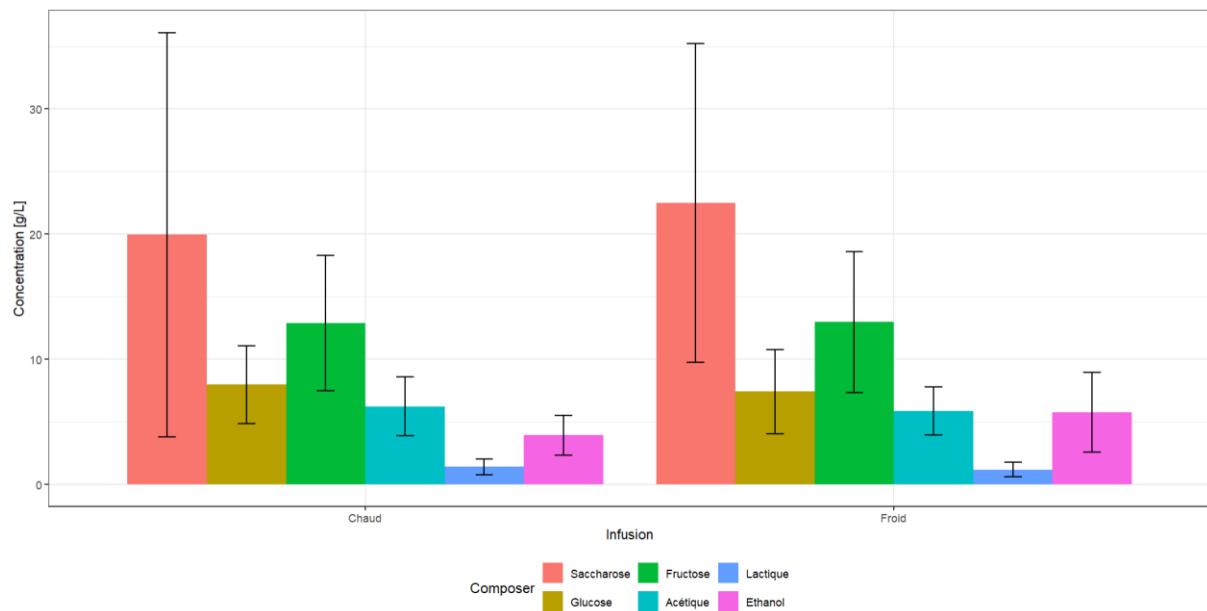


Figure 21 : Concentration des sucres (g/L) (saccharose, fructose et glucose), éthanol (g/L) et des acides organiques (g/L) (acide acétique et lactique) par température d'infusion (à chaud ou à froid) après 7 jours de fermentation (moyenne \pm écart-type ; $n = 3$).

2.3. Analyses des composés organiques volatils par SBSE GC-MS

2.3.1. Analyse chimique des COV

Une analyse ciblée des composés organiques volatils (COV) permet d'identifier un total de 64 composés dans les kombuchas (JV et SB) et les kombuchas à base d'infusion de la forêt. Ces composés, ainsi que leurs concentrations respectives (exprimées en mg/L), sont présentés dans la Table 5. La Figure 22 illustre la répartition relative des grandes familles chimiques identifiées.

Globalement, plusieurs tendances se dégagent : toutes les kombuchas présentent une dominance en acides carboxyliques (30-55%), suivis des alcools, cétones, esters et terpènes, tandis que les aldéhydes, phénols, éthers et alcanes apparaissent en proportions plus faibles. Cette répartition des familles chimiques est cohérente avec les données disponibles dans la littérature sur les COV présents dans les matrices à base de thé et de produits fermentés. Avant fermentation, les acides carboxyliques, alcools, cétones, aldéhydes et terpènes sont prédominants dans les matrices végétales. En revanche, la fermentation entraîne l'apparition de nouvelles classes de composés, notamment les esters et les phénols, en réponse à l'activité métabolique du microbiome du kombucha (Zhang et al., 2021; Bishop et al., 2022; Suffys, Goffin, et al., 2023). Il est important de souligner que l'absence apparente d'un composé dans un échantillon ne signifie pas nécessairement son absence totale, mais peut refléter une concentration inférieure au seuil de détection analytique fixé (% air max ≥ 1).

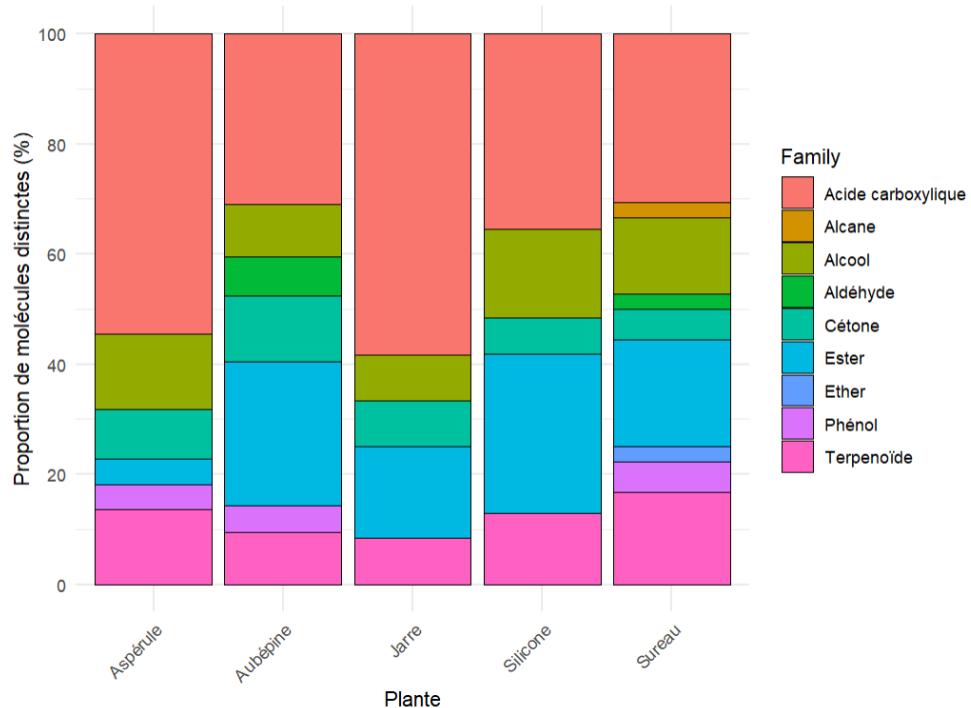


Figure 22 : Représentation graphique de la proportion des familles des COV par espèces végétales ($n = 3$).

Les acides carboxyliques, majoritaires dans l'aspérule (54,54 %), l'aubépine (30,95 %) et le sureau (30,5 %), proviennent à la fois des tissus végétaux (ex. acides dodécanoïque, nonanoïque) et de la lipolyse microbienne. Leur présence contribue à l'acidification du kombucha, avec des métabolites clés tels que les acides décanoïque, hexadécanoïque, hexanoïque et octanoïque (Zhao et al., 2018; Suffys, Richard, et al., 2023). Les alcools (jusqu'à 13,63 % dans l'aspérule) incluent des molécules caractéristiques comme le 2-phényléthanol et le 3-méthylbutan-1-ol, typiquement formées par le métabolisme fermentaire des levures et associées à des notes florales et fruitées (Suffys, Richard, et al., 2023).

Certains composés secondaires, comme les esters et les phénols, semblent résulter de la transformation de molécules présentes en début de fermentation. Les esters, abondants dans l'aubépine (26,19%) et le sureau (19,4%), sont formés par estérification enzymatique entre acide et alcool produits lors de la fermentation. Quant aux phénols, leur apparition est liée à des réactions de dégradation de précurseurs phénoliques présents dans les plantes. La corrélation positive entre esters, phénols et acides carboxyliques, ainsi que la corrélation négative entre aldéhydes et esters, appuient l'hypothèse d'une conversion progressive des précurseurs par les MO fermentaires. Ces observations suggèrent que la fermentation induit une reconfiguration du profil volatil, contribuant à la complexité aromatique du profil final (Zhang et al., 2021; Bishop et al., 2022; Suffys, Richard, et al., 2023).

Les terpènes, tels que le linalool, le géraniol, le citronellol ou le bornéol, sont principalement d'origine végétale. Ils participent à la défense chimique des plantes (Gershenson et al., 2007) et confèrent des notes florales ou fruitées au kombucha. Leur stabilité varie : les terpènes sensibles à la chaleur, comme le bornéol, peuvent diminuer en infusion chaude, tandis que d'autres plus thermostables persistent.

Tableau 5 : Composés organiques volatils (ppm) des kombuchas à base d'infusions de la forêt (ICf = infusion à chaud de plante fraîche, ICs = infusion à chaud de plante sèche, IFF = infusion à froid de plante fraîche et IFs = infusion à froid de plante sèche) et de kombucha (JV = jarre en verre et SB = silicone bags) (moyenne ± écart-type ; n = 3).

Classes	Noms	CAS	RI obser	RI lit	Kombucha à base d'infusion d'aubépine				Kombucha à base d'infusion d'aspérule odorante				Kombucha à base d'infusion de sureau				Kombucha	
					ICf	IFF	ICs	IFs	ICf	IFF	ICs	IFs	ICf	IFF	ICs	IFs	JV	SB
Acides carboxyliques	2-ethylhexanoic acid	149-57-5	1628	1934														4,96±0,57
	3-methylbutanoic acid	503-74-2	1360	1664	28,12±1,23	14,15±0,89			6,36±0,86						22,73±23,52	15,12±8,69	18,88±1,71	22,56±5,64
	acetic acid	64-19-7	1146	1449	66,83±26,34	25,87±12,92	126,08±5,085		35,29±1,70,01	26,76±10,7						15,56±5,01		95,76±25,85
	benzoic acid	65-85-0	2103	2405	29,15±5,32	19,62±3,91	39,52±9,72	80,3±17,71	5,08±2,57							9,86±0,89		
	dec-9-enoic acid	1443-6-32-9	2011	2335				61,32±42,18										
	decanoic acid	334-48-5	1960	2262	645,37±1,37,2	465,75±4,17	845,23±2,91,84	964,36±9,9,08	413,47±97,42	353,09±27,15	1735,35±8,58,41	514,56±75,46	577,93±22,8,91	629,82±69,61	990,4±520,97	771,54±19,5,59	93,28±3,74	401,42±0,54
	dodecanoic acid	143-07-7	2171	2471	342,68±6,73,2	270,41±34,73	324,34±2,01,74	250,99±6,2,85	226,8±4,6,93	224,99±23,27	953,6±406,17	216,58±37,56	455,76±91,88	329,42±24,8,88	344,28±38,3,07	290,36±14,0,21	118,8±27,5	162,58±9,4
	heptanoic acid	111-14-8	1640	1934	16,23±2,48	11,48±1,41	19,26±7,54		12,12±5,3					8,04±2,21		21,39±1,1		10,74±1,17
	hexadecanoic acid	57-10-3	2592	2890	111,43±1,16,6	141,13±110,73	36±21,34	126,2±90,6	42,84±8,51	93,13±43,9	489,03±93,16	37,92±12,8	82,53±42,86	61,56±22,13	21,31±17,36	71,03±12,72	19,05±0,56	58,36±8,83
	hexanoic acid	142-62-1	1534	1834	26,09±0,31	18,9±1,18	65,87±30,98		16,55±8,01									
	nonanoic acid	112-05-0	1854	2159	608,03±9,2,65	511,35±26,99	544,79±7,7,36		464,83±135,8	441,19±18,82	1552,14±7,62,62	136,07±9,19	291,7±157,93	354,55±21,7,06	273,82±32,3,29	342,57±15,9,3	245,81±15,1,22	293,13±2,7,11
	octanoic acid	124-07-2	1747	2046	377,61±3,9,34	246,35±8,12	651,77±1,18,36	603,25±8,8,83	230,15±72,69	192,08±20,24	669,49±34,2,95	280,87±70,36	88,43±68,49	101,07±37,86	263,57±23,1	546,55±59,85	147,02±46,91	319,89±6,6,76
	tetradecanoic acid	544-63-8	2380	2684	64,69±47,15	67,74±46,84	31,99±19,87	33,41±4,81	40,86±5,5	49,88±5,2,98	182,66±10,7		104,54±58,12	57,68±38,82	22,43±23,32	47,35±20,6	12,69±3,8	31,82±3,34
	undecanoic acid	112-37-8	2064	2365	18,89±3,54	16,91±0,64	15±6,08		17,06±4,3	17,37±0,97			20,17±5,36	27,68±3,47		17,68±0,4		5,48±0,065
Alcanes	cyclododecane	294-62-2	1659	1519									7,93±1,85	8,83±0,45				
Alcools	(3R,6S)-6-ethenyl-2,2,6-trimethyloxan-3-ol	3902-8-58-5	1427	1731									19,85±7,23	8,72±1,42	94,14±14,84	92,46±7,45		
	2-[(2S,5S)-5-ethenyl-5-methyloxolan-2-yl]propan-2-ol	3499-5-77-2	1138	1430									6,64±1,28			10,1±0,3		9,06±1,47
	2-ethylhexan-1-ol	104-76-7	1186	1484	15,15±1,59	12,21±1,27	18,59±8,25		10,37±3,92				12,7±3,67	16,63±5,36				8,55±1,53
	2-phenylethanol	60-12-8	1592	1896	35,39±6,97	35,64±1,5	120±67,9	139,21±7,4,25	15,52±6,93	20,5±1,75	200,41±2,39	67,12±13,26	91,01±48,13	77,12±11,65		152,22±16,19	131,24±11,42	167,82±3,4,84

	3-methylbutan-1-ol	123-51-3	918	1221	27,36±0,2	21,81±1,74	108,85±3,733	35,01±6,1	16,4±0,81	15,5±1,24					45,06±29,01		82,85±23,17
	octan-1-ol	111-87-5		1247	1546											4,8±0,036	
	phenylmethanol	100-51-6		1553	1857					81,73±11,91							
Aldéhydes	2-(4-methylcyclohex-3-en-1-yl)propanal	2954-8-14-9		1299	1590				12,15±0,99								
	benzaldehyde	100-52-7		1210	1502	35,3±6,32	6,07±0,95	21,7±3,2									
	decanal	112-31-2		1193	1495		9,35±1,34										
	nonanal	124-19-6		1078	1368									15,65±8,42			
Cétones	(7aR)-4,4,7a-trimethyl-6,7-dihydro-5H-1-benzofuran-2-one	1709-2-92-1		2011	2315	12,48±5,2		20,91±6,15	19,5±5,03	8,5±2,04	8,25±0,37			8,27±0,94	9,028±1,46		
	(E)-1-(2,6,6-trimethylcyclohexa-1,3-dien-1-yl)but-2-en-1-one	2372-6-93-4		1498	1800				10,77±1,4								
	3,5-dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydropyran-4-one	2856-4-83-2		1929	2240											6,11±2,15	
	4-(2,2,6-trimethyl-7-oxabicyclo[4.1.0]heptan-1-yl)but-3-en-2-one	2326-7-57-4		1666	1968											6,52±1,15	
	5-methyl-3H-furan-2-one	591-12-8		1123	1429	36,25±7,9	5,41±0,34										
	6-methylheptan-2-one	928-68-7		937	1236											11±0,4	
	chromen-2-one	91-64-5		2119	2428					171,6±127,49	1288,11±297,9	7587,47±3199	2500,96±126,5			16,4±7,43	
	cyclopent-4-ene-1,3-dione	930-60-9		1272	1573	55,12±6,22	12,1±1,84										
Esters	3-methyl-2-[(Z)-pent-2-enyl]cyclopent-2-en-1-one	488-10-8		1622	1923			5,89±0,18	10,99±2,84	12,45±1,45							
	[(2E)-3,7-dimethylocta-2,6-dienyl] acetate	105-87-3		1442	1746										8,24±0,67		
	2-methylbutyl acetate	624-41-9		830	1134										16,42±1,25		
	2-phenylethyl acetate	103-45-7		1499	1791	22,2±1,87	17,99±4,13	113,29±29,29	100,81±41,27						58,86±24,99	105,91±8,99	
	3-methylbutyl acetate	123-92-2		835	1130	7,93±0,72		63,64±20,71									
	benzyl acetate	140-11-4		1408	1711				41,27±3,61								
	diethyl butanedioate	123-25-1		1361	1667											10,54±3,23	
	ethyl 2-methylbutanoate	7452-79-1		791	1097	7,77±1,21											

	ethyl 2-phenylacetate	101-97-3	1470	1767	8,27±1,1 6													7,55±1,7 3
	ethyl benzoate	93-89-0	1347	1644				19,35±5, 82										
	ethyl decanoate	110-38-3	1331	1629	47,04±11 ,94			88,12±42 ,45				13,67±0,3 4				73,33±13, 21		7,24±4,0 4
	ethyl dodecanoate	106-33-2	1533	1835				51,84±8, 39										
	ethyl heptanoate	106-30-9	1028	1329														4,9±0,4
	ethyl hexanoate	123-66-0	935	1234	16,09±6, 19	8,18±0,67	154,31±9 7,36	139,28±7 4,63				21,62±9,3 1	18,25±10, 83			94,93±12, 6		134,82±3 2,53
	ethyl nonanoate	123-29-5	1230	1528	28,04±5, 58			13,91±3, 34					11,81±0,2 5			47,41±31, 76		
	ethyl octanoate	106-32-1	1132	1428	13,8±2,5 7	16,58±4,04	171,99±2 5,69	262,3±15 1,76	13,19±0 ,66	21,48±5,1 1	134,69±68 6	41,83±5,5 1	105,67±7, 15	126,98±8, 37	44±4,95	230,55±53 ,41	21,82±5,5 5	122,91±4 3,62
	ethyl pentanoate	539-82-2	839	1134														8,75±1,1 9
	methyl 2-hydroxybenzoate	119-36-8	1448	1747														14,49±1, 24
Ethers	(2R,4R)-4-methyl-2-(2-methylprop-1-enyl)oxane	876-18-6	1058	1365												12,03±2,7 8		
Phénols	4-ethyl-2-methoxyphenol	2785-89-9	1710	2014	219,13±1 7,57	330,37±10, 05	330,2±11 9,27	861,57±1 07,58	23,93±9 ,3	74,3±8,89 1	225,18±80, 1		20,71±6,9 4	43,07±3,7	98,87±26, 19	56,47±6,9 4		
	4-ethylphenol	123-07-9	1847	2143					362,55±50,08									
Terpénoïdes	Geraniol	106-24-1	1529	1822			22,1±6,5 4					15,71±5,1 7	81,72±43, 5			125,06 ±11,85		58,57±19 ,22
	Citral	141-27-5	1421	1792					10,22±4 ,2									
	Farnesol	4602-84-0	2035	2337				11,94±1, 16						11,61±5,2 7	13,37±1,8 2			
	Nerol	106-25-2	1485	1792								18,45±6,0 6	27,76±1,9 5			77,12±2,5		5,73±2,2 4
	Alpha-terpineol	98-55-5	1385	1680			25,3±8,3 9								13,38±0,9 8		20,72±1, 45	
	Borneol	507-70-0	1385	1693					57,66±8,7 9		178,56±39 1							
	Citronellol	106-22-9	1458	1755								26,15±4,6 3	121,17±10 ,89	42,17±1,8 5	189,9±3,2 7			
	Linalool	78-70-6	1244	1540	33,66±3, 53	28,67±0,84 ,88	117,8±39 ,35	156,4±28 ,91	10,07±4 2	49,45±10, ,91	77,15±33,2 ,84	165,02±35 ,84	25,44±7,6 ,42	135,78±48 5	51,62±2,0 2	80,94±1,4 3	13,35±2,6 04	
	Eugenol	97-53-0	1837	2130											76,81±1,3 5			

L'ACP des COV issus des différentes kombucha à base d'infusion de la forêt révèle des différenciations marquées selon les modalités expérimentales testées, notamment la température d'infusion (chaud ou froid) et le taux de dessiccation de la plante utilisé (frais ou sec).

Les échantillons de kombucha (JV et SB) se distinguent des kombuchas à base d'infusion de la forêt. SB présente des concentrations plus élevées en acides carboxyliques, alcools et esters, ce qui lui confère un profil aromatique plus intense. En comparaison, JV affiche un profil plus neutre. Toutefois, tous deux contiennent des composés issus de la matrice de thé, caractéristiques du kombucha, comme l'ont montré plusieurs études (Zhang et al., 2021; Bishop et al., 2022; Suffys, Richard, et al., 2023).

Pour le sureau, l'ACP met en évidence une discrimination claire des échantillons selon les modalités, avec une variance cumulée de 70,1 % expliquée par les deux premières dimensions (Figure 23). L'infusion à froide de plante sèche (IFs) se distingue par une forte présence d'esters (éthyl octanoate, éthyl nonanoate, éthyl décanoate) et de terpènes (géraniol, citronellol, nérol, linalool). A l'inverse, l'infusion à chaude de plante sèche (ICs) est marquée par des acides gras saturés et des phénols. Enfin les ICf et IFf, ont des profils aromatiques plus neutres et discrets proches du kombucha (JV).

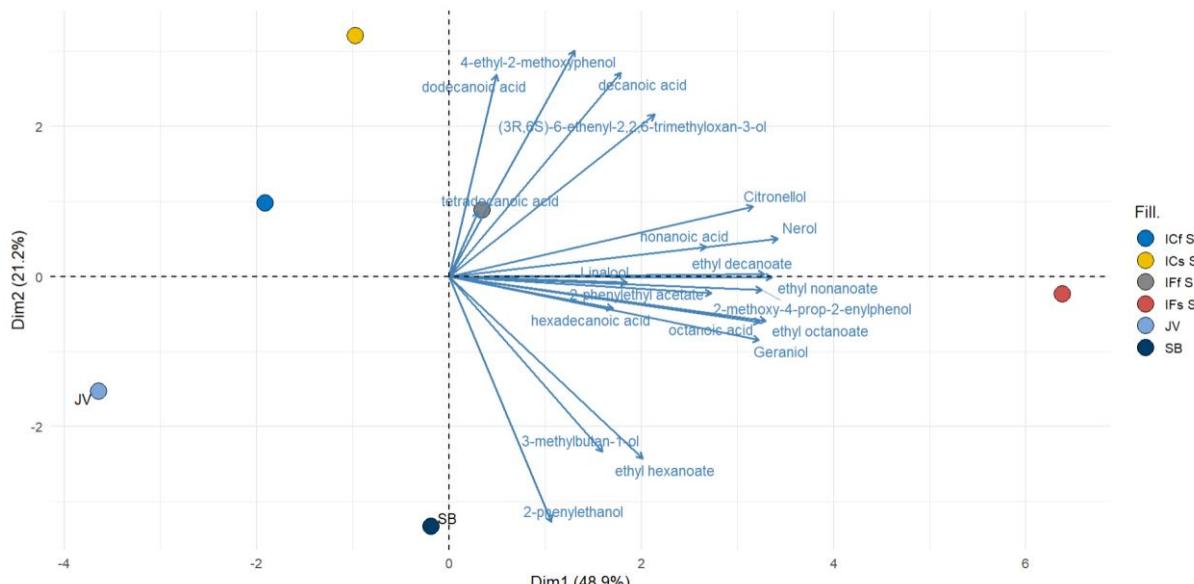


Figure 23 : Représentation graphique des variables COV en fonction des combinaisons d'infusion (ICf = infusion à chaud de produit frais, ICs = infusion à chaud de produit sec, IFF = infusion à froid de produit frais, IFs = infusion à froid de produit sec, JV = jarre en verre et SB = silicone bag) pour la plante de sureau dans le plan 1:2 (ACP) ($n = 3$).

Concernant l'aspérule, les deux premières dimensions de l'ACP expliquent 71,8 % de la variance totale (Figure 24). L'infusion à chaude de plante sèche (ICs) se caractérise par une forte extraction d'acides gras saturés (tétradécanoïque, dodécanoïque, hexadécanoïque) et de composés aromatiques comme le 2-phénylethanol, le chromen-2-one et le 4-phényl-2-méthoxyphénol. L'infusion à froid de plantes sèches (IFs) présente un profil plus herbacé et floral marqué par la présence de terpènes comme le bornéol et le linalool. Enfin les infusions à base de plantes fraîches (ICf et IFF) ont une richesse aromatique moindre et un profil moléculaire plus neutre et proche du kombucha.

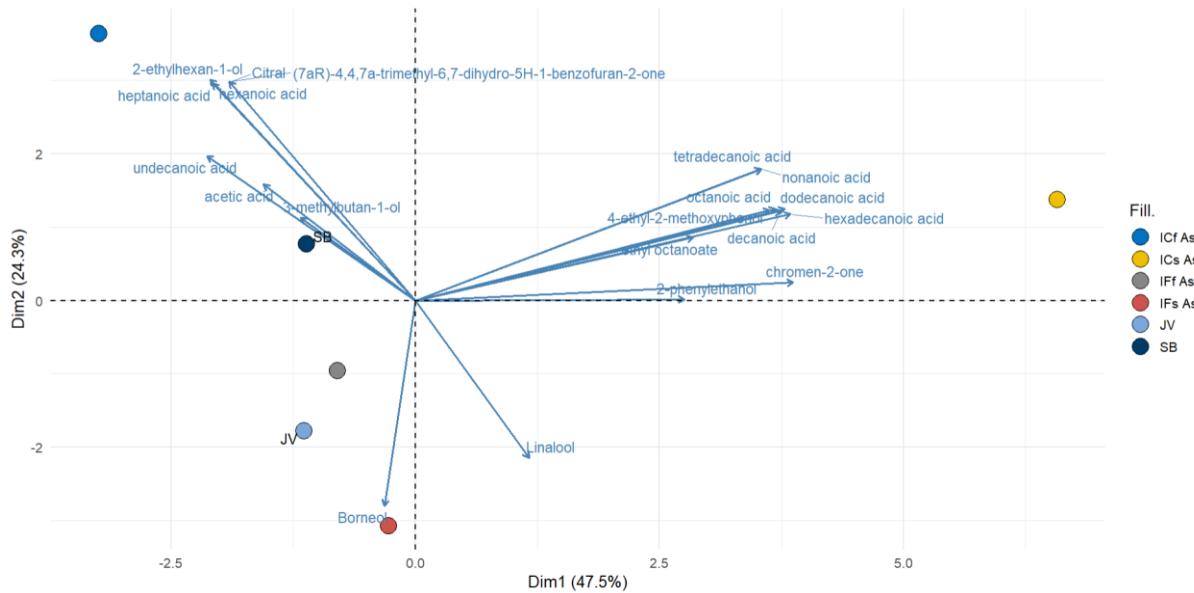


Figure 24 : Représentation graphique des variables COV en fonction des combinaisons d'infusion (ICf = infusion à chaud de produit frais, ICs = infusion à chaud de produit sec, IFf = infusion à froid de produit frais, IFs = infusion à froid de produit sec, JV = jarre en verre et SB = silicone bag) pour la plante d'aspérule odorante dans le plan 1:2 (ACP) ($n = 3$).

L'aubépine présente une configuration un peu plus dispersée, avec 76,5 % de la variance expliquée par les deux premières composantes (Figure 25). L'infusion à froide de plante sèche (IFs) se distingue nettement par un profil aromatique riche et complexe, dominé par des esters (éthyl hexanoate, éthyl octanoate, éthyl décanoate, éthyl dodécanoate), des alcools aromatiques (2-phényléthanol, linalool) et des phénols (4-éthylphénol, 2-méthoxy-4-phénylphénol). L'infusion à chaude de plante sèche (ICs) présente un profil plus limité, centré autour du 3-méthylbutan-1-ol, et de quelques acides carboxyliques. À l'inverse, les infusions à base de plantes fraîches (ICf et IFf) présentent des profils volatils plus pauvres.

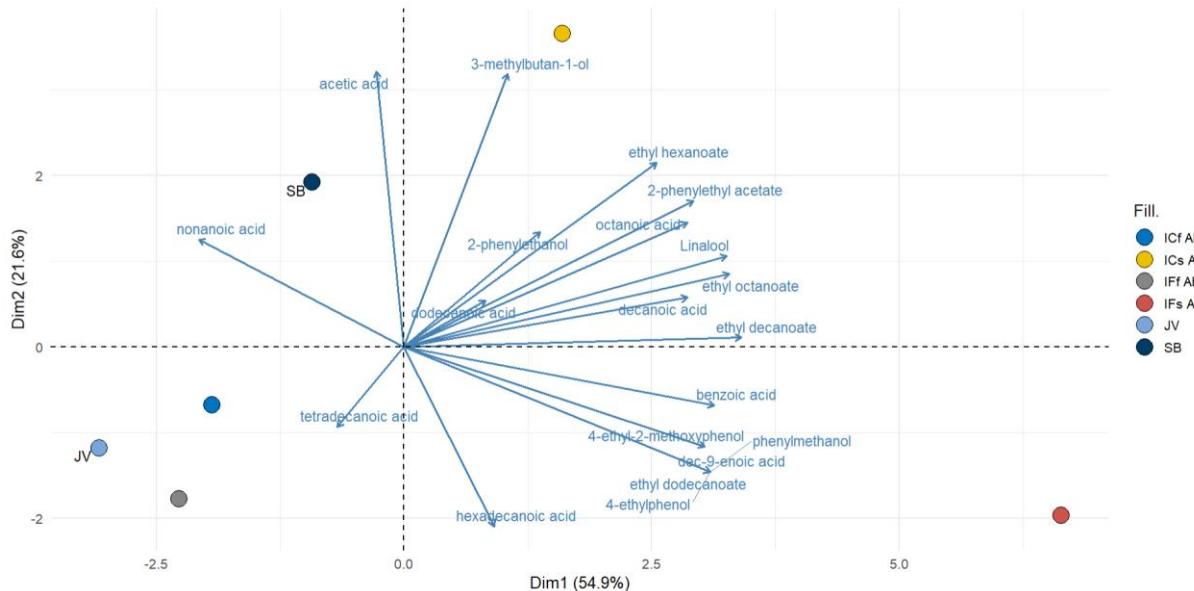


Figure 25 : Représentation graphique des variables COV en fonction des combinaisons d'infusion (ICf = infusion à chaud de produit frais, ICs = infusion à chaud de produit sec, IFf = infusion à froid de produit frais, IFs = infusion à froid de produit sec, JV = jarre en verre et SB = silicone bag) pour la plante d'aubépine dans le plan 1:2 (ACP) ($n = 3$).

Dans l'ensemble, ces résultats mettent en évidence l'effet déterminant du taux de dessiccation du matériel végétal (frais et sec) et de la température d'infusion (à chaud et à froid) sur la richesse des COV extraits (Ramírez-Rodrigues et al., 2011). De manière générale, IFs présentent un profil aromatique plus riche, marqué notamment par la présence d'esters et de terpènes. Cela suggère qu'une extraction douce, prolongée et à basse température favorise à la fois la libération et la préservation des composés volatils sensibles à la chaleur (Zannou et al., 2020). À l'inverse, ICs se caractérisent par un profil plus dense, enrichi en acides gras et en composés phénoliques et plus pauvre en composés volatils. La chaleur semble favoriser l'extraction de composés lipophiles thermostables et favorise l'évaporation de certains COV réduisant ainsi leur concentration dans le produit final (Zannou et al., 2020; Cai et al., 2022). Ces profils peuvent également s'expliquer par le fait que le séchage des plantes induit une rupture des structures cellulaires, facilitant la libération des métabolites secondaires lors de l'infusion (Vallino et al., 2022).

Les infusions à base de plantes fraîches, ICs et IFf, présentent des profils plus neutres. ICf contient certaines molécules d'intérêt, mais en concentration plus faible, ce qui s'explique probablement par la dégradation thermique des composés volatils naturellement présents dans la matière fraîche. Quant à IFf, son profil est proche de celui de JV, avec une intensité aromatique réduite, probablement en raison d'une extraction limitée à froid, les structures végétales encore intactes freinant la diffusion des composés volatils.

2.3.2. Analyses aromatiques de COV

Étant donné que le profil aromatique final du kombucha résulte à la fois de l'activité du consortium microbien durant la fermentation et des composés volatils présents dans les plantes sélectionnées pour les infusions, une analyse aromatique des kombuchas à base de plantes forestières a été réalisée (Chakravorty et al., 2016; Zhao et al., 2018). Le Tableau 6 présente les COV dont l'OAV ≥ 1 dans les kombuchas et les kombuchas à base d'infusion de la forêt. Seuls ces composés sont retenus, car ils sont considérés comme perceptibles et donc susceptibles de contribuer à l'arôme final (Suffys, Goffin, et al., 2023).

Tableau 6 : Evolution de l'OAV des composés organiques volatils les plus représentatifs (OAV > 1) des kombuchas à base d'infusion de la forêt (ICf = infusion à chaud de plantes fraîches, ICs = infusion à chaud de plantes sèches, IFf = infusion à froid de plantes fraîches et IFs = infusion à froid de plantes sèches) et de kombucha (JV = jarre en verre et SB = silicone bag) (moyenne ± écart-type ; n = 3).

Classes	Noms	CAS	RI obs	RI lit	Seuil de perception (ppm)	Description arômes	Kombucha à base d'infusion d'aubépine				Kombucha à base d'infusion d'aspérule odorante				Kombucha à base d'infusion de sureau				Kombucha	
							ICf	IFf	ICs	IFs	ICf	IFf	ICs	IFs	ICf	IFf	ICs	IFs	JV	SB
Acides carboxyliques	acetic acid	64-19-7	1138	1449	50,5	Vinaigré	1,32		2,49										1,89	
	dec-9-enoic acid	14436-32-9	2011	2335	40	Cireux, vert				1,53										
	decanoic acid	334-48-5	1950	2262	50	Citronné, cireux, fruité	12,9	9,31	16,9	19,28	8,26	7,06	34,7	10,29	11,55	12,59	19,8	15,43	1,86	8,02
	heptanoic acid	111-14-8	1632	1934	5	Rance, fromagé	3,24	2,29			2,42					1,61		4,28		2,14
	hexadecanoic acid	57-10-3	2591	2890	75	Crémeux, gras	1,48	1,88		1,68		1,24	6,52		1,1					
	nonanoic acid	112-05-0	1843	2159	10	Fromagé, gras	60,8	51,13	54,47		46,48	44,12	155,21	13,6	29,17	35,45	27,38	34,25	24,58	29,31
	tetradecanoic acid	544-63-8	2379	2684	35	Cireux, fromagé	1,84	1,93			1,167	1,42	5,21			1,64		1,35		
	undecanoic acid	112-37-8	2063	2365	20	Fromagé, gras									1	1,38				
	benzoic acid	65-85-0	2102	2405	2,5	Vinaigré	11,66	7,84	15,8	32,12	2,032							3,94		
	dodecanoic acid	143-07-7	2159	2471	10	Huileux, gras	34,26	27,04	32,43	25,09	22,68	22,49	95,36	21,65	45,57	32,94	32,42	29,04	11,88	16,25
	octanoic acid	124-07-2	1738	2046	100	Cireux, fromagé	3,77	2,46	6,51	6,03	2,3	1,92	6,69	2,8		1,91	2,63	5,46	1,47	3,19
Alcools	2-ethylhexan-1-ol	104-76-7	1186	1484	10	Agrume, frais, fruité	1,51	1,22	1,85		1,03				1,27	1,66				
	3-methylbutan-1-ol	123-51-3	918	1221	50	Fruité, fermenté			2,17										1,65	
	octan-1-ol	111-87-5	1247	1546	2	Vert, cireux													2,4	
	2-[(2S,5S)-5-ethenyl-5-methyloxolan-2-yl]propan-2-ol	34995-77-2	1138	1430	2,5	Florale									2,65		4,04		3,62	
	2-phenylethanol	60-12-8	1592	1888	20	Floral, sucré	1,76	1,78	6	6,96		1,02	10,02	3,35	4,55	3,85		7,61	6,58	8,39
	phenylmethanol	100-51-6	1553	1857	50	Floral, fruité				1,64										
Aldéhydes	nonanal	124-19-6	1078	1368	8	Cireux, gras										1,95				
	2-(4-methylcyclohex-3-en-1-yl)propanal	29548-14-9	1299	1590	1	Epicé, herbal			12,15											
Cétones	chromen-2-one	91-64-5	2111	2428	0,05	Foin, frais, sucré					3432	2576	15174	50019			328			
	(7aR)-4,4,7a-trimethyl-6,7-dihydro-5H-1-benzofuran-2-one	17092-92-1	2011	2315	2	Musc, coumarine	6,24	4,12	10,51	9,75	4,25				4,13	4,51				

Pour la suite, l'analyse des profils aromatiques des kombuchas à base d'infusions de la forêt se concentre uniquement sur les infusions à chaud et à froid à base de plantes sèches (ICs et IFs), en raison de leur richesse moléculaire. Les infusions à base d'aubépine, de sureau et d'aspérule présentent des profils aromatiques distincts, influencés à la fois par des composés caractéristiques de chaque plante et par des métabolites issus de la fermentation du kombucha.

Le profil aromatique du kombucha à base d'infusion de sureau est plus riche et développé pour la modalité IFs (Figure 26). Toutefois, les composés présents dans les deux types d'infusion affichent des valeurs d'OAV similaires, indiquant une contribution comparable de ces composés à l'arôme final. Des terpènes tels que le linalool, le citronellol, le nérol et le farnésol sont communs aux deux modalités, mais certains terpènes caractéristiques du sureau, comme le géraniol ou l'eugénol, ne sont détectés que dans l'infusion à froide. Ces molécules confrères des notes d'agrumé, florale et sucré à la boisson (Najar et al., 2021). L'ICs se distingue également par l'absence de certains acides carboxyliques (acide benzoïque, acide heptanoïque), d'alcools (2-phénylethanol) et d'aldéhyde, typiques des matrices de thé fermenté. Dès lors, l'absence d'aldéhydes dans cette modalité s'explique logiquement, ces derniers étant généralement issus de la transformation des acides carboxyliques et alcools précités, eux-mêmes absents de la matrice initiale. Cette absence peut s'expliquer par une dégradation thermique des composés initiaux.

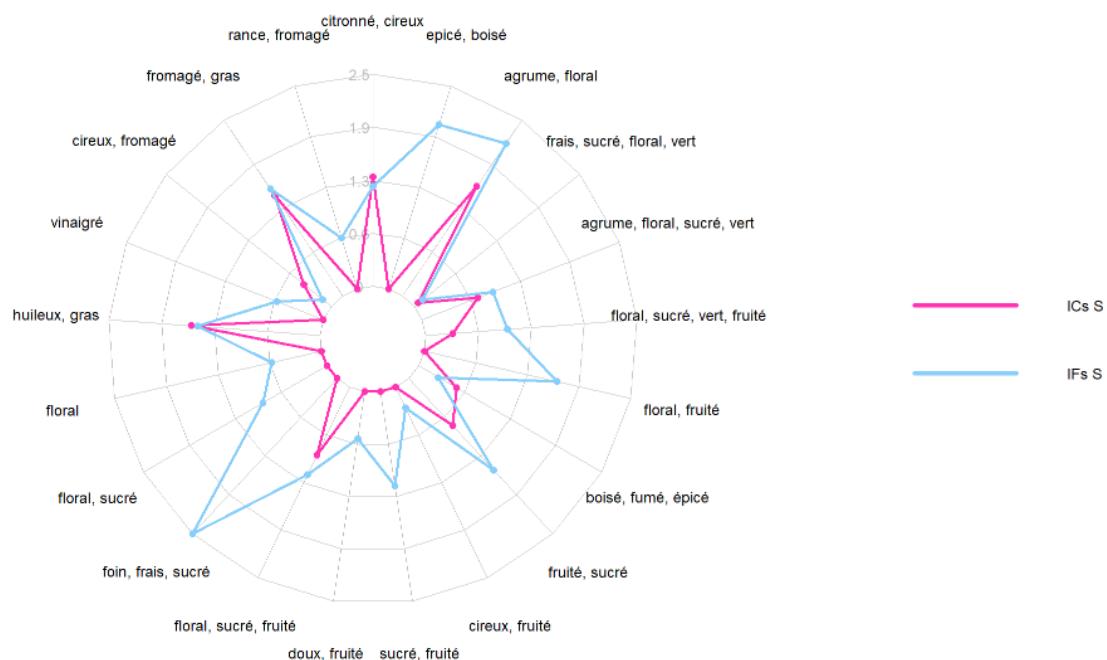


Figure 26 : Estimation du profil aromatique exprimé sous forme du \log_{10} de l'OAV pour les COV les plus représentatifs (% de surface $> 1\%$) des kombuchas à base d'infusion de sureau (OAV = Concentration/seuil de perception). (ICs S = infusion à chaud avec des plantes sèche de sureau, IFs S = infusion à froid avec des plantes sèche de sureau).

Le profil aromatique des infusions à chaud (ICs) et à froid (IFs) à base d'aspérule sèche sont relativement similaire, bien que légèrement plus riche pour l'IFs (Figure 27). Certaines différences spécifiques sont toutefois observées : l'IFs ne contient ni l'acide hexadécanoïque (acide carboxylique), ni le 4-éthyl-2-méthoxyphénol (phénol), tandis que l'ICs ne présente pas de bornéol. Ces variations peuvent s'expliquer par la nature des composés et les conditions d'extraction. La présence de l'acide hexadécanoïque et de composés phénoliques uniquement dans les ICs suggère qu'une température élevée est nécessaire pour solubiliser ces molécules lipophiles, liées à la paroi cellulaire. À l'inverse, la détection du bornéol uniquement dans les IFs

pourrait résulter d'une dégradation thermique de ce terpène lors de l'infusion à chaud. En revanche, les deux modalités partagent une signature sensorielle dominée par le chromen-2-one (ou coumarine), une cétone conférant des notes de foin frais et de vanille, caractéristiques de l'aspérule odorante (Razzivina et al., 2024).

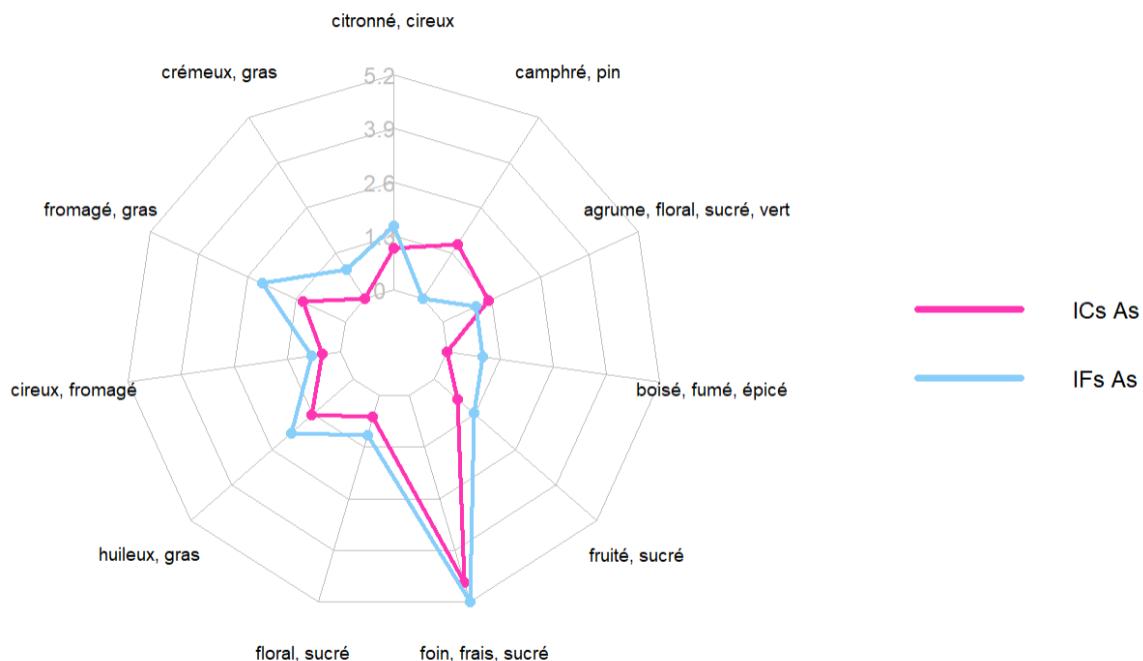


Figure 27 : Estimation du profil aromatique exprimé sous forme du log10 de l'OAV pour les COV les plus représentatifs (% de surface > 1%) des kombucha à base d'infusion d'aspérule odorante (OAV = Concentration/seuil de perception). (ICs As = infusion à chaud avec des plantes sèche d'aspérule, IFs As = infusion à froid avec des plante sèche d'aspérule).

Le graphique radar du kombucha à base d'infusion d'aubépine met en évidence des profils aromatiques variés mais assez proches entre les deux modalités (Figure 28). L'IFs présente un profil plus complet que ICs, traduisant une extraction efficace malgré l'absence de chaleur. Toutefois, certains composés caractéristiques, comme le géraniol (un terpène), certains acides carboxyliques ou des alcools, sont absents de l'IFs, suggérant que leur libération nécessite une température plus élevée. Ces composés, souvent plus volatils ou peu polaires, sont typiquement extraits à chaud. Inversement, plusieurs molécules présentes uniquement dans l'IFs, notamment les aldéhydes, les esters et les phénols, peuvent être sensibles à la chaleur et se dégrader lors de l'infusion chaude, expliquant leur absence dans l'ICs.

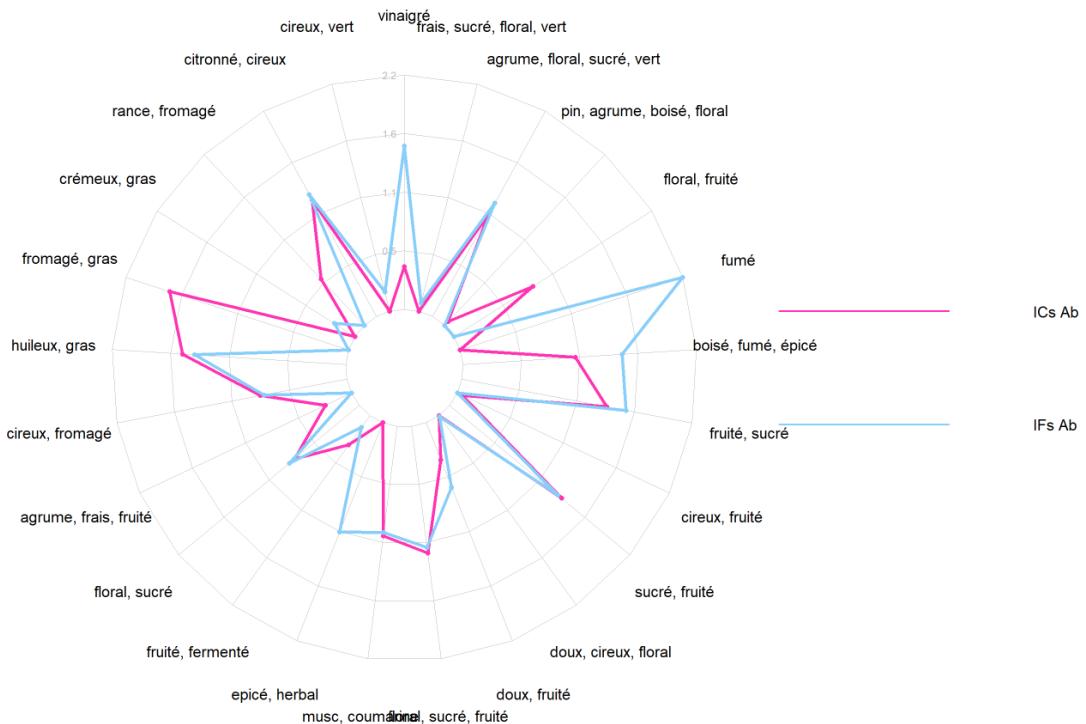


Figure 28 : Estimation du profil aromatique exprimé sous forme du \log_{10} de l’OAV pour les COV les plus représentatifs (% de surface $> 1\%$) des kombuchas à base d’infusions d’aubépine (OAV = Concentration/seuil de perception). (ICs Ab = infusion à chaud avec des plantes sèche d’aubépine, IFs Ab = infusion à froid avec des plantes sèche d’aubépine).

3. Analyse sensorielle

3.1. Profil flash

Le profil flash de l’expérimentation 2 est réalisé dans le but de sélectionner le type d’organe végétal à privilégier pour la suite des analyses. Pour cela, six plantes sont choisies, représentant différents organes : la valériane et la consoude pour les racines, l’ortie et l’aspérule odorante pour les feuilles, ainsi que la reine-des-prés et la bruyère pour les fleurs.

L’analyse en composantes principales (ACP) est réalisée sur une population comprenant 6 échantillons et 56 descripteurs sensoriels utilisés librement par les panélistes afin de caractériser les différentes boissons. Cette analyse vise à construire un profil sensoriel personnel pour chaque boisson, en lien avec les organes des plantes utilisées dans cette étude (racines, feuilles et fleurs). Dans une seconde phase, seuls 4 descripteurs sont retenus parmi les 56 initiaux : sucré, acide, floral et fruité. Il s’agit des descripteurs les plus fréquemment cités par les panélistes, justifiant leur utilisation pour affiner la suite de l’analyse sensorielle.

Les deux premières composantes principales, Dim1 et Dim2, expliquent respectivement 50,9 % et 32,9 % de la variance (au total 83,8% de la variabilité expliquée), jugé suffisant pour permettre une interprétation pertinente des échantillons dans le plan 1:2. Sur le plan (Figure 29), les vecteurs descripteurs indiquent que la Dim1 représente les descripteurs fruités, floraux et sucrés. Ces descripteurs sont fortement corrélés entre eux, indiquant qu’une boisson perçue comme fruité sera aussi jugée comme sucrée et florale par les consommateurs. Tandis que la Dim2 représente plus le descripteur acide.

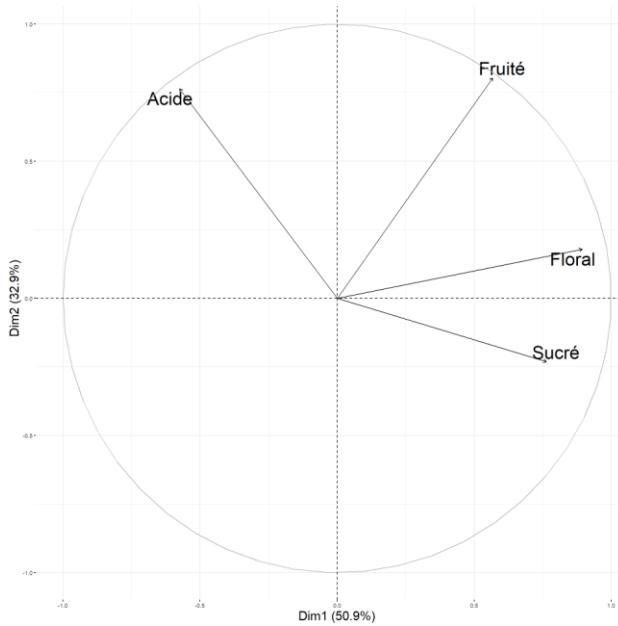


Figure 29 : Représentation graphique du cercle de corrélation issu de l'ACP basée sur les 4 descripteurs sensoriels (acide, sucré, floral et fruité) dans le plan 1:2.

Le positionnement des échantillons montre (Figure 30) que l'aspérule odorante (feuilles) et la reine-des-prés (fleurs) sont proches, suggérant une similarité sensorielle dominée par des notes florales/fruitées, tandis que la consoude (racine) et la valériane (racine) se rapprochent également, avec un profil probablement plus végétal/terreux. À l'inverse, la bruyère (fleurs) et l'ortie (feuille) présentent des profils contrastés, indiquant des signatures sensorielles spécifiques.

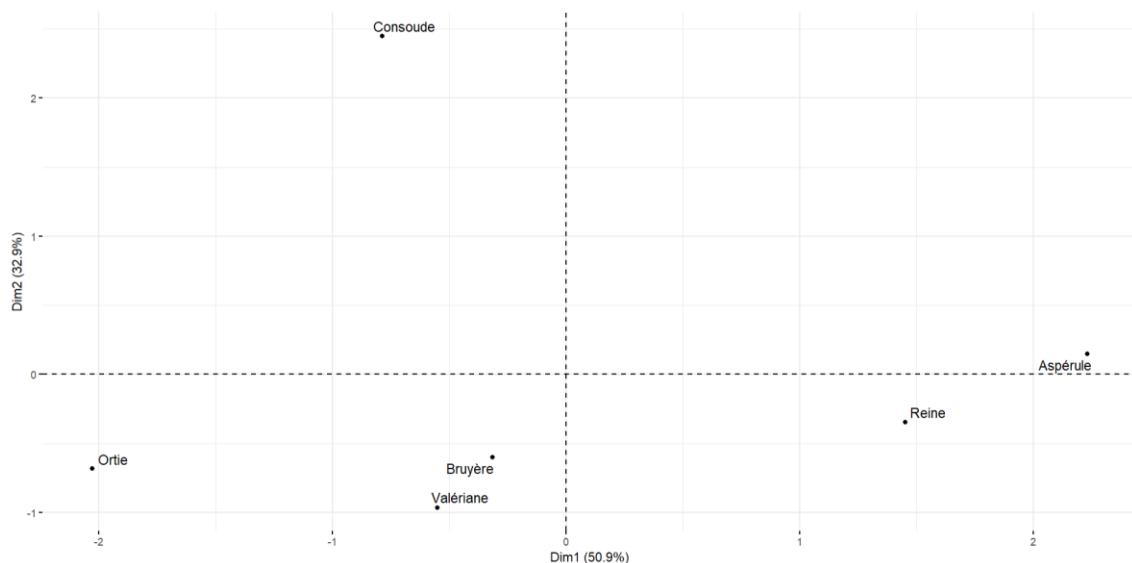


Figure 30 : Représentation graphique des projections des échantillons des kombuchas à base d'infusion de la forêt pour l'ortie, la reine-des-prés, la bruyère, l'aspérule, la consoude et la valériane dans le plan factoriel de l'ACP 1:2.

3.2. Test hédonique

L'analyse sensorielle de type hédonique est menée auprès de 60 panélistes non entraînés, recrutés au sein de la Faculté de Gembloux Agro-Bio Tech. Quatre descripteurs sensoriels sont évalués : l'acidité, la sucrerie, la couleur et l'appréciation globale des échantillons testés. Parmi les participants, 32 sont des femmes et 28 des hommes. La répartition par tranche d'âge indique une population majoritairement jeune : 51,66 % des juges sont des étudiants âgés de 18 à 25 ans, 33,33 % appartiennent au personnel académique ou scientifique (comprenant également les doctorants) âgés de 26 à 35 ans, tandis que 8,33 % ont entre 36 et 45 ans, et seulement 6 % sont âgés de plus de 45 ans. Par ailleurs, une majorité des participants (65%) a déjà consommé du kombucha, et 70% déclarent consommer des sodas naturel¹ de manière régulière (plusieurs fois par semaine ou par mois), témoignant d'une potentielle familiarité avec ce type de produit.

Les données recueillies sont analysées à l'aide d'une ACP. Celle-ci révèle que les deux premières composantes (Dim1 et Dim2) expliquent à elles seules 100 % de l'inertie du jeu de données, atteignant respectivement 79,6 % et 20,4 %. Cela peut s'expliquer dans ce cas de figure par le faible nombre de variables ($n = 4$) et de descripteurs ($n = 4$) ainsi que la proximité des moyennes observées. Ainsi, la projection sur le plan factoriel 1:2 permet une interprétation complète sans perte significative d'information.

Cette projection des échantillons sur le plan factoriel met en évidence de nette préférences parmi les boissons proposées aux participants (Figure 31). L'aspérule odorante se distingue clairement dans le QIV. Cette position reflète une forte appréciation, notamment en termes d'acidité, de sucrerie et de note globale (moyenne = $4,07 \pm 0,05$). À l'opposé, le sureau situé dans QIII, présente les scores sensoriels global les plus faibles (moyenne = $2,23 \pm 0,12$), indiquant une perception négative. Cette moindre appréciation peut s'expliquer par une différence de protocole de production, en effet cet échantillon est produit en fermenteur, contrairement aux autres, ce qui a vraisemblablement modifié les conditions de fermentation et a accentué les notes acides et fermentées, rendant la boisson moins agréable. L'aubépine et la reine-des-prés, quant à eux, apparaissent dans le QI, suggérant une perception plutôt favorable sur la Dim1, bien qu'influencés différemment par la variable Couleur (Dim2). Ces deux échantillons sont relativement proches l'un de l'autre dans l'espace factoriel, mais l'aubépine (moyenne = $3,71 \pm 0,03$) est légèrement mieux notée que la reine-des-prés (moyenne = $3,63 \pm 0,15$).

¹ Désigne une boisson gazeuse élaborée à partir d'ingrédients naturels tels que le kéfir, le kombucha, le ginger beer, les limonades artisanales

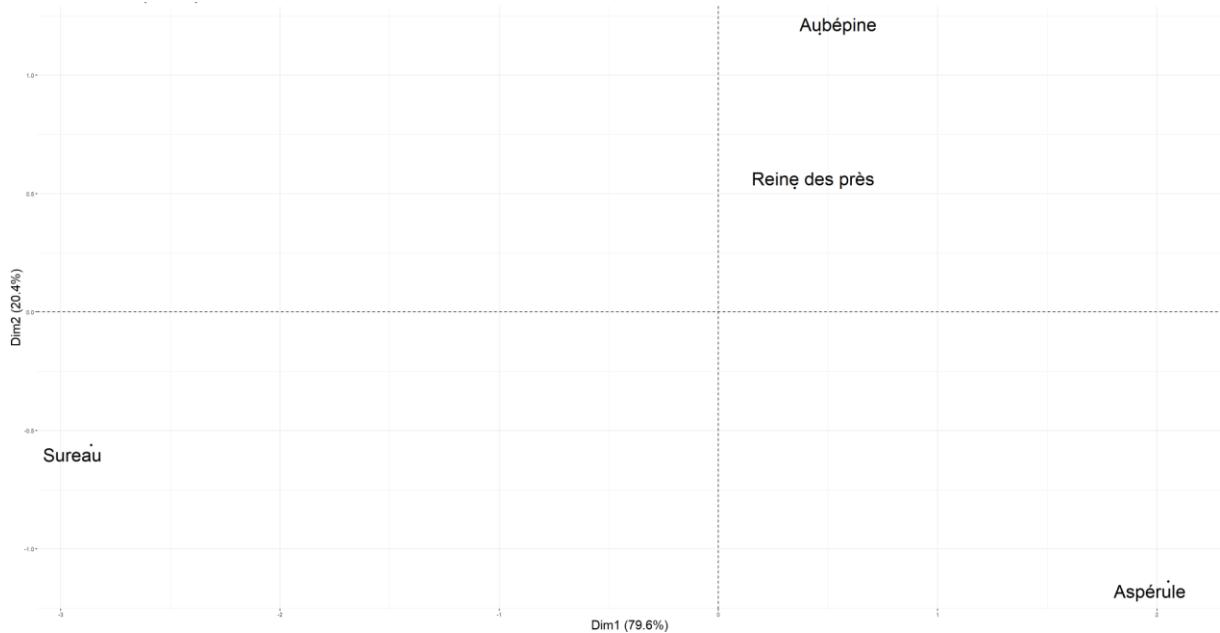


Figure 31 : Représentation graphique des projections des échantillons de kombucha à base d'infusion de la forêt (aspérule, aubépine, reine-des-prés et sureau) dans le plan factoriel de l'ACP 1:2.

La matrice de corrélation présentée en Figures 32 permet d'apporter des informations complémentaires sur l'organisation des descripteurs sensoriels. L'analyse montre que l'acidité, la sucrosité et l'appréciation globale sont fortement corrélées entre elles et fortement associées à la première dimension (Dim1), traduisant un effet conjoint de ces caractéristiques sur l'appréciation moyenne du consommateur. En revanche, la variable Couleur est presque exclusivement corrélée à Dim2 et orthogonale aux autres variables, ce qui suggère une indépendance vis-à-vis des dimensions gustatives. En d'autres termes, la couleur des échantillons ne semble pas influencer significativement l'acceptabilité globale, bien qu'elle puisse jouer un rôle secondaire dans l'appréciation du produit.

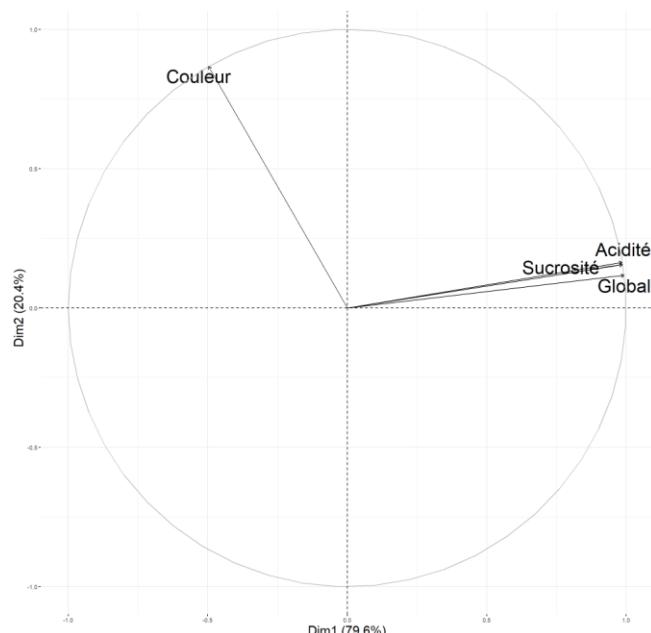


Figure 32 : Représentation graphique du cercle de corrélation issue de l'ACP basée sur les 4 descripteurs sensoriels (acidité, sucrosité, couleur et appréciation globale) dans le plan 1:2.

Ces observations sont appuyées par l'analyse des diagrammes violon, qui permettent de confirmer l'existence de différences significatives ($p<0,05$) entre les échantillons pour les scores d'acidité, de sucrosité et d'appréciation globale (Figure 33). Il est à noter qu'aucune différence significative ($p>0,05$) n'est observée pour la variable couleur, ce qui renforce l'idée que ce paramètre n'est pas discriminant dans le contexte de cette étude. De plus, la sucrosité est perçue de manière relativement uniforme entre les échantillons, à l'exception du sureau, confirmant une perception faussée de ce produit à cause du changement de protocole.

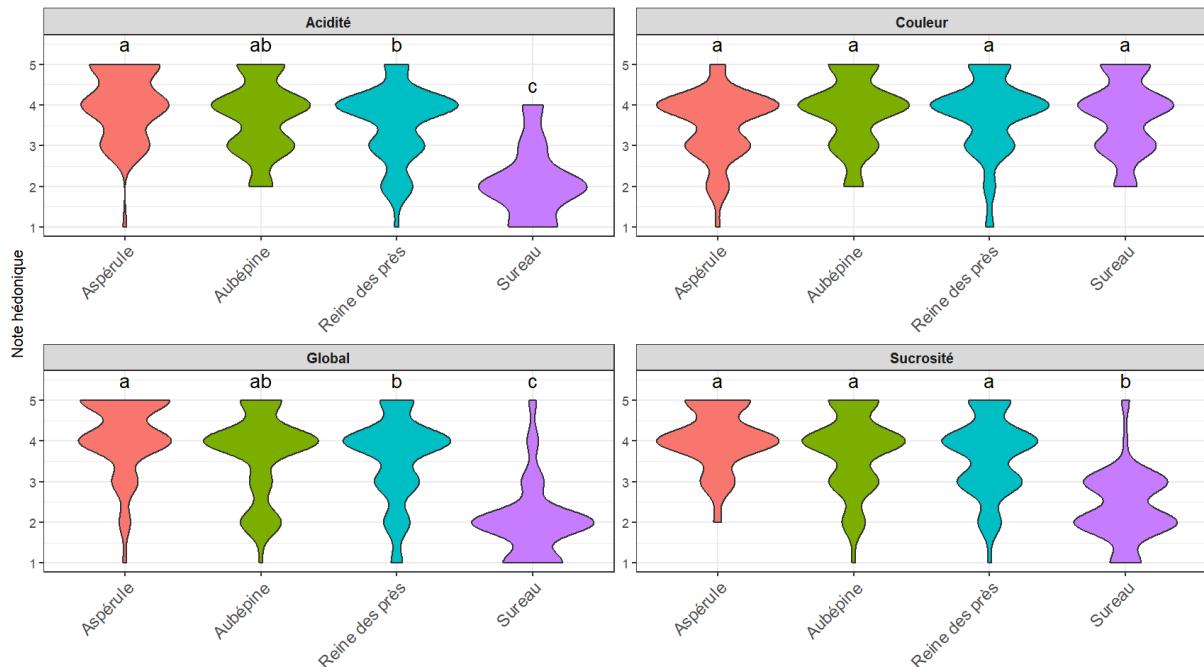


Figure 33 : Diagrammes de densité des scores hédoniques attribués par les participants pour l'acidité, la sucrosité, la couleur et l'appréciation globale de quatre échantillons de kombucha à base d'infusions de la forêt. Les lettres indiquent les résultats du test post-hoc de type Tukey ($\alpha = 0,05$).

Contribution personnelle

- Identification et récolte des plantes forestières (aubépine, aspérule odorante et sureau)
- Production des kombuchas à base d'infusions de la forêt ainsi que du kombucha (JR)
- Production des échantillons destinées aux différentes analyses chimiques
- Planification et organisation d'un calendrier complet pour la récolte, la production et les phases expérimentales.
- Recherche et mise en place d'un plan expérimental d'analyse des composés organiques volatils en GC-MS (SBSE)
- Élaboration et coordination du protocole d'analyse sensorielle, incluant les tests hédoniques et le profil flash (préparation des échantillons, aménagement de la salle, création des supports/formulaires).
- Traitements statistiques des données, création des graphiques via le logiciel R et interprétation des résultats

Conclusion et perspectives

Pour conclure, cette étude vise à valoriser les plantes forestières locales dans la formulation d'une boisson fermentée de type kombucha, en évaluant l'influence de la matière végétale initiale (aubépine, aspérule et sureau), le taux de dessiccation du matériel végétal (frais ou sec) et la température d'infusion (chaud et froid) sur les propriétés physico-chimiques, aromatiques et sensorielles des boissons formulées. Cette étude montre que le séchage du matériel végétal constitue un levier important dans la libération des substrats fermentescibles et des métabolites secondaires. Sur le plan biochimique, le séchage provoque une désorganisation des tissus végétaux et une rupture des membranes cellulaires, facilitant l'extraction des composés intercellulaires lors de l'infusion. Cette déstructuration rend les sucres simples, les acides organiques précurseurs et certaines enzymes endogènes (notamment les invertases) plus accessibles pour la fermentation.

Les résultats liés à la quantification des composés majoritaires synthétisés au cours de la fermentation confirment ce phénomène : les infusions à base de plantes sèches présentent une teneur en saccharose plus faible et une concentration plus élevée en monosaccharides, surtout en fructose. Les levures transforment ces monosaccharides en éthanol via la glycolyse ; l'éthanol est ensuite oxydé par les AAB en acide acétique, tandis que le glucose est converti en acide gluconique et en cellulose (SCOBY), et le fructose est métabolisé en acide acétique. Il y a donc une acidification plus rapide et plus importante du milieu, induisant des valeurs de pH plus basses observées chez les plantes sèches après 7 jours de fermentation. Enfin, les infusions à chaud et à froid ainsi que les espèces végétales présentent des profils similaires en sucres, en éthanol et en acide organiques, suggérant un effet limité de la température d'infusion et de l'espèce végétale sur la dynamique fermentaire observée.

L'analyse des composés organiques volatils (COV) confirme que les kombuchas à base de plantes sèches, qu'elles soient réalisées à chaud (ICs) ou à froid (IFs), permettent une extraction plus complète des classes de composés aromatiques. Les IFs présentent un profil plus riche et diversifié, marqué par la présence de terpène et d'ester, suggérant qu'une extraction plus douce, prolongée et à basse température favorise la libération et la préservation des COV. Les ICs sont riche en acide gras et composés phénoliques et plus pauvre en composés volatils. La chaleur favorisant l'extraction de composés lipophiles thermostables tout en provoquant l'évaporation d'une partie des COV, réduisant ainsi leur concentration dans le produit final. Les profils varient également selon la plante utilisée : l'aspérule odorante se distingue par une forte teneur en coumarine et en bornéol, l'aubépine combine des esters fruités à des phénols boisés, tandis que le sureau se caractérise par une richesse en terpènes floraux et épics. À l'inverse, les infusions de plantes fraîches, qu'elles soient chaudes ou froides, génèrent des profils plus neutres et moins intenses, proches de celui du kombucha classique, ce qui suggère une libération plus limitée des composés volatils sans traitement préalable.

D'un point de vue sensoriel, les infusions à base d'aspérule ont obtenu les scores hédoniques les plus élevés, ce résultat pouvant être attribué à une combinaison équilibrée de sucre, d'acidité et de notes aromatiques florales caractéristiques de cette espèce (principalement liées à la présence de coumarines et de flavonoïdes volatils).

Au regard des analyses physico-chimiques, aromatiques et sensorielles, l'infusion à froid de plantes sèches apparaît comme la méthode la plus adaptée pour valoriser les plantes forestières en kombucha. L'aspérule odorante, en particulier, se distingue comme l'espèce la plus

prometteuse grâce à ses arômes caractéristiques de foin frais et de vanille appréciés lors de la dégustation.

Plusieurs pistes d'approfondissement peuvent être envisagées à la suite de ce travail. Tout d'abord, il serait pertinent d'identifier une température d'infusion optimale située entre les extrêmes testés, afin de maximiser l'extraction des composés aromatiques sans altérer les molécules sensibles. Par ailleurs, étudier la cinétique d'évolution du profil aromatique au cours de la fermentation permettrait de mieux comprendre les transformations en jeu et de déterminer le moment optimal pour la consommation. Il serait également intéressant d'explorer les liens entre les composés volatils identifiés et les propriétés fonctionnelles des boissons (antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires), en vue de développer une boisson bonne pour la santé. Enfin, l'optimisation des paramètres de fermentation en fonction des plantes utilisées offrirait une voie prometteuse pour valoriser au mieux les caractéristiques spécifiques de chaque espèce végétale.

Références bibliographiques

Abaci N., Senol Deniz F.S. & Orhan I.E., 2022. Kombucha – An ancient fermented beverage with desired bioactivities: A narrowed review. *Food Chemistry: X* **14**, 100302, DOI:10.1016/j.fochx.2022.100302.

Antolak H., Piechota D. & Kucharska A., 2021. Kombucha Tea—A Double Power of Bioactive Compounds from Tea and Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts (SCOBY). *Antioxidants (Basel)* **10**(10), 1541, DOI:10.3390/antiox10101541.

Aznar-Sánchez J.A., Belmonte-Ureña L.J., López-Serrano M.J. & Velasco-Muñoz J.F., 2018. Forest Ecosystem Services: An Analysis of Worldwide Research. *Forests* **9**(8), 453, DOI:10.3390/f9080453.

Bamforth C.W. & Cook D.J., 2019. *Food, Fermentation, and Micro-organisms*, John Wiley & Sons, 259.

Bennett B.C., 2002. Forest products and traditional peoples: Economic, biological, and cultural considerations. *Natural Resources Forum* **26**(4), 293–301, DOI:10.1111/1477-8947.00032.

Bishop P., Pitts E.R., Budner D. & Thompson-Witrick K.A., 2022. Kombucha: Biochemical and microbiological impacts on the chemical and flavor profile. *Food Chemistry Advances* **1**, 100025, DOI:10.1016/j.focha.2022.100025.

Blandino A., Al-Aseeri M.E., Pandiella S.S., Cantero D. & Webb C., 2003. Cereal-based fermented foods and beverages. *Food Research International* **36**(6), 527–543, DOI:10.1016/S0963-9969(03)00009-7.

Cai Y., Xu Z., Pan X., Gao M., Wu M., Wu J. & Lao F., 2022. Comparative Profiling of Hot and Cold Brew Coffee Flavor Using Chromatographic and Sensory Approaches. *Foods* **11**(19), 2968, DOI:10.3390/foods11192968.

Caplice E. & Fitzgerald G.F., 1999. Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *International Journal of Food Microbiology* **50**(1), 131–149, DOI:10.1016/S0168-1605(99)00082-3.

Chakravorty S., Bhattacharya S., Chatzinotas A., Chakraborty W., Bhattacharya D. & Gachhui R., 2016. Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International Journal of Food Microbiology* **220**, 63–72, DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2015.12.015.

Coelho R.M.D., Almeida A.L. de, Amaral R.Q.G. do, Mota R.N. da & Sousa P.H.M. de, 2020. Kombucha: Review. *International Journal of Gastronomy and Food Science* **22**, 100272, DOI:10.1016/j.ijgfs.2020.100272.

Czarnecki B.A.R., Chamberlain K.M., Loscher I.M., Swartz E.R., Black L.M., Oberholtzer E.C., Scialia J.C., Watson B.A., Shearer L.E., Richardson J.N. & Kegerreis J.S., 2024. Optimizing Oxygen Exposure during Kombucha Brewing Using Air-Permeable Silicone Bags. *Fermentation* **10**(7), 371, DOI:10.3390/fermentation10070371.

Czarnowska-Kujawska M., Klepacka J., Starowicz M. & Lesińska P., 2024. Functional Properties and Sensory Quality of Kombucha Analogs Based on Herbal Infusions. *Antioxidants* **13**(10), 1191, DOI:10.3390/antiox13101191.

Dairou V. & Sieffermann J.-M., 2002. A Comparison of 14 Jams Characterized by Conventional Profile and a Quick Original Method, the Flash Profile. *Journal of Food Science* **67**(2), 826–834, DOI:10.1111/j.1365-2621.2002.tb10685.x.

de Miranda J.F., Ruiz L.F., Silva C.B., Uekane T.M., Silva K.A., Gonzalez A.G.M., Fernandes F.F. & Lima A.R., 2022. Kombucha: A review of substrates, regulations, composition, and biological properties. *Journal of Food Science* **87**(2), 503–527, DOI:10.1111/1750-3841.16029.

Delarue J. & Sieffermann J.-M., 2004. Sensory mapping using Flash profile. Comparison with a conventional descriptive method for the evaluation of the flavour of fruit dairy products. *Food Quality and Preference* **15**(4), 383–392, DOI:10.1016/S0950-3293(03)00085-5.

Diez-Ozaeta I. & Astiazaran O.J., 2022. Recent advances in Kombucha tea: Microbial consortium, chemical parameters, health implications and biocellulose production. *International Journal of Food Microbiology* **377**, 109783, DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109783.

Dimidi E., Cox S.R., Rossi M. & Whelan K., 2019. Fermented Foods: Definitions and Characteristics, Impact on the Gut Microbiota and Effects on Gastrointestinal Health and Disease. *Nutrients* **11**(8), 1806, DOI:10.3390/nu11081806.

Dufresne C. & Farnworth E., 2000. Tea, Kombucha, and health: a review. *Food Research International* **33**(6), 409–421, DOI:10.1016/S0963-9969(00)00067-3.

European Forest Institute, 2020. *Russian forests and climate change, What Science Can Tell Us*. European Forest Institute, Leskinen, P., Lindner, M., European Forest Institute, Verkerk, P.J., Nabuurs, G.-J., Van Brusselen, J., Kulikova, E., Hassegawa, M., Lerink, B. eds., European Forest Institute.

FAO (Ed.), 2016. *Forests and agriculture: land-use challenges and opportunities*, State of the world's forests, FAO, Rome, 107.

Gershenzon J. & Dudareva N., 2007. The function of terpene natural products in the natural world. *Nat Chem Biol* **3**(7), 408–414, DOI:10.1038/nchembio.2007.5.

Heinken T., Diekmann M., Liira J., Orczevska A., Schmidt M., Brunet J., Chytrý M., Chabrerie O., Decocq G., De Frenne P., Dřevojan P., Dzwonko Z., Ewald J., Feilberg J., Graae B.J., Grytnes J.-A., Hermy M., Kriebitzsch W.-U., Laiviņš M., Lenoir J., Lindmo S., Marage D., Marozas V., Niemeyer T., Paal J., Pyšek P., Roosaluste E., Sádlo J., Schaminée J.H.J., Tyler T., Verheyen K., Wulf M. & Vanneste T., 2022. The European Forest Plant Species List (EuForPlant): Concept and applications. *Journal of Vegetation Science* **33**(3), e13132, DOI:10.1111/jvs.13132.

Irkin R., 2019. 14 - Natural Fermented Beverages. In: Grumezescu, A.M., Holban, A.M. eds. *Natural Beverages*. Academic Press, 399–425.

Jakubczyk K., Kupnicka P., Melkis K., Mielczarek O., Walczyńska J., Chlubek D. & Janda-Milczarek K., 2022. Effects of Fermentation Time and Type of Tea on the Content of Micronutrients in Kombucha Fermented Tea. *Nutrients* **14**(22), 4828, DOI:10.3390/nu14224828.

Jayabalan R., Malbaša R.V., Lončar E.S., Vitas J.S. & Sathishkumar M., 2014. A Review on Kombucha Tea—Microbiology, Composition, Fermentation, Beneficial Effects, Toxicity, and Tea Fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **13**(4), 538–550, DOI:10.1111/1541-4337.12073.

Jayabalan R., Marimuthu S. & Swaminathan K., 2007. Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation. *Food Chemistry* **102**(1), 392–398, DOI:10.1016/j.foodchem.2006.05.032.

Jimenez-Garcia S.N., Vazquez-Cruz M.A., Ramirez-Gomez X.S., Beltran-Campos V., Contreras-Medina L.M., Garcia-Trejo J.F. & Feregrino-Pérez A.A., 2020. Changes in the Content of Phenolic Compounds and Biological Activity in Traditional Mexican Herbal Infusions with Different Drying Methods. *Molecules* **25**(7), 1601, DOI:10.3390/molecules25071601.

Kang W., Lin H., Yao-Say Solomon Adade S., Wang Z., Ouyang Q. & Chen Q., 2023. Advanced sensing of volatile organic compounds in the fermentation of kombucha tea extract enabled by nano-colorimetric sensor array based on density functional theory. *Food Chemistry* **405**, 134193, DOI:10.1016/j.foodchem.2022.134193.

Katz S.E., 2016. *Wild Fermentation: The Flavor, Nutrition, and Craft of Live-Culture Foods*, 2nd Edition, Chelsea Green Publishing, 322.

Kulshrestha S., Tyagi P., Sindhi V. & Yadavilli K.S., 2013. Invertase and its applications – A brief review. *Journal of Pharmacy Research* **7**(9), 792–797, DOI:10.1016/j.jopr.2013.07.014.

Leal J.M., Suárez L.V., Jayabalan R., Oros J.H. & Escalante-Aburto A., 2018. A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. *CyTA - Journal of Food* **VOL. 16**(1), 390–399, DOI:10.1080/19476337.2017.1410499.

Liszkowska W. & Berlowska J., 2021. Yeast Fermentation at Low Temperatures: Adaptation to Changing Environmental Conditions and Formation of Volatile Compounds. *Molecules* **26**(4), 1035, DOI:10.3390/molecules26041035.

Lončar E., Djurić M., Malbaša R., Kolarov L.J. & Klašnja M., 2006. Influence of Working Conditions Upon Kombucha Conducted Fermentation of Black Tea. *Food and Bioproducts Processing* **84**(3), 186–192, DOI:10.1205/fbp.04306.

Lovrić M., Da Re R., Vidale E., Prokofieva I., Wong J., Pettenella D., Verkerk P.J. & Mavšar R., 2020. Non-wood forest products in Europe – A quantitative overview. *Forest Policy and Economics* **116**, 102175, DOI:10.1016/j.forpol.2020.102175.

Manna M., Han G., Seo Y.-S. & Park I., 2021. Evolution of Food Fermentation Processes and the Use of Multi-Omics in Deciphering the Roles of the Microbiota. *Foods* **10**(11), 2861, DOI:10.3390/foods10112861.

Marsh A.J., Hill C., Ross R.P. & Cotter P.D., 2014. Fermented beverages with health-promoting potential: Past and future perspectives. *Trends in Food Science & Technology* **38**(2), 113–124, DOI:10.1016/j.tifs.2014.05.002.

Millennium Ecosystem Assessment (Program) (Ed.), 2005. *Ecosystems and human well-being: synthesis*, Island Press, Washington, DC, 137.

Najar B., Ferri B., Cioni P.L. & Pistelli L., 2021. Volatile emission and essential oil composition of *Sambucus nigra* L. organs during different developmental stages. *Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology* **155**(4), 721–729, DOI:10.1080/11263504.2020.1779841.

Nawrot-Chorabik K., Sułkowska M. & Gumulak N., 2022. Secondary Metabolites Produced by Trees and Fungi: Achievements So Far and Challenges Remaining. *Forests* **13**(8), 1338, DOI:10.3390/f13081338.

Nazhand A., Lucarini M., Durazzo A., Zaccardelli M., Cristarella S., Souto S.B., Silva A.M., Severino P., Souto E.B. & Santini A., 2020. Hawthorn (*Crataegus* spp.): An Updated Overview on Its Beneficial Properties. *Forests* **11**(5), 564, DOI:10.3390/f11050564.

Neffe-Skocińska K., Sionek ,Barbara, Ścibisz ,Iwona & and Kołożyn-Krajewska D., 2017. Acid contents and the effect of fermentation condition of Kombucha tea beverages on physicochemical, microbiological and sensory properties. *CyTA - Journal of Food* **15**(4), 601–607, DOI:10.1080/19476337.2017.1321588.

Nilsson K., 2011. *Forests, trees and human health*, Springer, New York, 427.

Ochiai N., Sasamoto K., David F. & Sandra P., 2018. Recent Developments of Stir Bar Sorptive Extraction for Food Applications: Extension to Polar Solutes. *J. Agric. Food Chem.* **66**(28), 7249–7255, DOI:10.1021/acs.jafc.8b02182.

Oliveira I.A.C.L. de, Rolim V.A. de O., Gaspar R.P.L., Rossini D.Q., de Souza R. & Bogsan C.S.B., 2022. The Technological Perspectives of Kombucha and Its Implications for Production. *Fermentation* **8**(4), 185, DOI:10.3390/fermentation8040185.

Pagare S., Bhatia M., Tripathi N., Pagare S. & Bansal Y.K., 2015. Secondary Metabolites of Plants and their Role: Overview **Vol. 9 (3)**, 293–304.

Parker J.K., Elmore S. & Methven L., 2014. *Flavour Development, Analysis and Perception in Food and Beverages*, Elsevier, 448.

Pinela J., Carvalho A.M. & Ferreira I.C.F.R., 2017. Wild edible plants: Nutritional and toxicological characteristics, retrieval strategies and importance for today's society. *Food and Chemical Toxicology* **110**, 165–188, DOI:10.1016/j.fct.2017.10.020.

Ramírez-Rodrigues M. m., Balaban M. o., Marshall M. r. & Rouseff R. l., 2011. Hot and Cold Water Infusion Aroma Profiles of Hibiscus sabdariffa: Fresh Compared with Dried. *Journal of Food Science* **76**(2), C212–C217, DOI:10.1111/j.1750-3841.2010.01989.x.

Razzivina V., Vasiljeva A., Kronberga A., Skudrins G., Nakurte I., Zogota M., Mezaka I., Pugovics O., Grinberga S., Dambrova M. & Sile I., 2024. Phenolic Content and Anti-Inflammatory Activity of Cultivated and Wild-Type Galium odoratum Extracts in Murine Bone Marrow-Derived Macrophages. *Antioxidants* **13**(12), 1447, DOI:10.3390/antiox13121447.

Règlement (UE) no 1169/2011 du Parlement européen et du Conseil du 25 octobre 2011 concernant l'information des consommateurs sur les denrées alimentaires, modifiant les règlements (CE) no 1924/2006 et (CE) no 1925/2006 du Parlement européen et du Conseil et abrogeant la directive 87/250/CEE de la Commission, la directive 90/496/CEE du Conseil, la directive 1999/10/CE de la Commission, la directive 2000/13/CE du Parlement européen et du Conseil, les directives 2002/67/CE et 2008/5/CE de la Commission et le règlement (CE) no 608/2004 de la CommissionTexte présentant de l'intérêt pour l'EEE, 2011..

Rezac S., Kok C.R., Heermann M. & Hutkins R., 2018. Fermented Foods as a Dietary Source of Live Organisms. *Front. Microbiol.* **9**, DOI:10.3389/fmicb.2018.01785.

Sharma R., Garg P., Kumar P., Bhatia S.K. & Kulshrestha S., 2020. Microbial Fermentation and Its Role in Quality Improvement of Fermented Foods. *Fermentation* **6**(4), 106, DOI:10.3390/fermentation6040106.

Simsek M. & Whitney K., 2024. Examination of Primary and Secondary Metabolites Associated with a Plant-Based Diet and Their Impact on Human Health. *Foods* **13**(7), 1020, DOI:10.3390/foods13071020.

Sinir G.Ö., Tamer C.E. & Suna S., 2019. 10 - Kombucha Tea: A Promising Fermented Functional Beverage. In: Grumezescu, A.M., Holban, A.M. eds. *Fermented Beverages*. Woodhead Publishing, 401–432.

Soares M.G., de Lima M. & Reolon Schmidt V.C., 2021. Technological aspects of kombucha, its applications and the symbiotic culture (SCOBY), and extraction of compounds of interest: A literature review. *Trends in Food Science & Technology* **110**, 539–550, DOI:10.1016/j.tifs.2021.02.017.

Suffys S., Goffin D., Richard G., Francis A., Haubrige E. & Fauconnier M.-L., 2023. Unveiling the Aromas and Sensory Evaluation of Hakko Sobacha: A New Functional Non-Dairy Probiotic Fermented Drink. *Molecules* **28**(16), 6084, DOI:10.3390/molecules28166084.

Suffys S., Richard G., Burgeon C., Werrie P.-Y., Haubrige E., Fauconnier M.-L. & Goffin D., 2023. Characterization of Aroma Active Compound Production during Kombucha Fermentation: Towards the Control of Sensory Profiles. *Foods* **12**(8), 1657, DOI:10.3390/foods12081657.

Teoh A.L., Heard G. & Cox J., 2004. Yeast ecology of Kombucha fermentation. *International Journal of Food Microbiology* **95**(2), 119–126, DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2003.12.020.

Vallino M., Faccio A., Zeppa G., Dolci P., Cerutti E., Zaquini L., Faoro F. & Balestrini R., 2022. Impact of drying temperature on tissue anatomy and cellular ultrastructure of different aromatic plant leaves. *Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology* **156**(4), 847–854, DOI:10.1080/11263504.2021.1922535.

Viapiana A. & Wesolowski M., 2017. The Phenolic Contents and Antioxidant Activities of Infusions of *Sambucus nigra* L. *Plant Foods Hum Nutr* **72**(1), 82–87, DOI:10.1007/s11130-016-0594-x.

Villarreal-Soto S.A., Beaufort S., Bouajila J., Souchard J.-P. & Taillandier P., 2018. Understanding Kombucha Tea Fermentation: A Review. *Journal of Food Science* **83**(3), 580–588, DOI:10.1111/1750-3841.14068.

Wang B., Rutherford-Markwick K., Liu N., Zhang X.-X. & Mutukumira A.N., 2024. Evaluation of the probiotic potential of yeast isolated from kombucha in New Zealand. *Curr Res Food Sci* **8**, 100711, DOI:10.1016/j.crfs.2024.100711.

Wang J., Xiong X. & Feng B., 2013. Effect of Crataegus Usage in Cardiovascular Disease Prevention: An Evidence-Based Approach. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* **2013**(1), 149363, DOI:10.1155/2013/149363.

Watawana M.I., Jayawardena N., Gunawardhana C.B. & Waisundara V.Y., 2015. Health, Wellness, and Safety Aspects of the Consumption of Kombucha. *Journal of Chemistry* **2015**(1), 591869, DOI:10.1155/2015/591869.

Winkel G., Lovrić M., Muys B., Katila P., Lundhede T., Pecurul M., Pettenella D., Pipart N., Plieninger T., Prokofieva I., Parra C., Pütlz H., Roitsch D., Roux J.-L., Thorsen B.J., Tyrväinen L., Torralba M., Vacik H., Weiss G. & Wunder S., 2022. Governing Europe's forests for multiple ecosystem services: Opportunities, challenges, and policy options. *Forest Policy and Economics* **145**, 102849, DOI:10.1016/j.forpol.2022.102849.

Yuan Y.-H., Mu D.-D., Guo L., Wu X.-F., Chen X.-S. & Li X.-J., 2024. From flavor to function: A review of fermented fruit drinks, their microbial profiles and health benefits. *Food Research International* **196**, 115095, DOI:10.1016/j.foodres.2024.115095.

Zailani N.S. & Adnan A., 2022. SUBSTRATES AND METABOLIC PATHWAYS IN SYMBIOTIC CULTURE OF BACTERIA AND YEAST (SCOBY) FERMENTATION: A MINI REVIEW. *Jurnal Teknologi (Sciences & Engineering)* **84**(5), 155–165, DOI:10.11113/jurnalteknologi.v84.18534.

Zannou O., Kelebek H. & Sell S., 2020. Elucidation of key odorants in Beninese Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) infusions prepared by hot and cold brewing. *Food Research International* **133**, 109133, DOI:10.1016/j.foodres.2020.109133.

Zhang J., Van Mullem J., Dias D.R. & Schwan R.F., 2021. The chemistry and sensory characteristics of new herbal tea-based kombuchas. *Journal of Food Science* **86**(3), 740–748, DOI:10.1111/1750-3841.15613.

Zhao Z., Wu H., Zhou C., Jian Zhang X.H. & Sui Y., 2018. Flavour chemical dynamics during fermentation of kombucha tea. *Emir J Food Agric* 732, DOI:10.9755/ejfa.2018.v30.i9.1794.

OpenAI. (2025). *ChatGPT* (GPT-5) [Grand modèle de langage]. <https://chat.openai.com/>

Annexes

Annexe 1 : Liste préliminaire des espèces forestières ayant des bénéfices pour la santé et pouvant être consommé en infusion issue de la bibliographie.

Noms	Noms latin	Famille	Types	Propriété médicinales et bénéfices pour la santé	Parties végétales consommées	Période de cueillette
Aulne	<i>Alnus glutinosa</i>	Betulaceae	Arbre	Utilisation des feuilles et de l'écorce : feuilles (réduit les inflammations, fébrigues et diurétique, maux de gorge), écorces : vertu astringente et fébrifuge. Même propriétés que le bouleau	Feuilles et écorces	Mars - septembre
Bouleau	<i>Betula L.</i>	Betulaceae	Arbre	Anti-rhumatisme et diurétique, déficience rénal (hépatique), maladie pulmonaire	Feuilles et écorces	Mars - septembre
Tilleul	<i>Tilia</i>	Malvaceae	Arbre	Vertus calmante et relaxante, améliore la circulation sanguine	Bractées, feuilles, bourgeons, fleurs et aubier	Mars - septembre
Charme commun	<i>Carpinus betulus L.</i>	Betulaceae	Arbre	Maux de gorge, propriété astringente	Feuilles et bourgeons	Mars -septembre
Chataignier	<i>Castanea sativa L.</i>	Fagaceae	Arbre	Propriétés astringente, antitussif (maux de gorge), anti-inflammatoire	Feuilles, fleurs mâle	Avril - septembre
Chêne	<i>Quercus</i>	Fagaceae	Arbre	Astringent, anti-inflammatoire et antioxydante	Ecorces sans aubier	Avril - septembre
Frêne	<i>Faxinus</i>	Faxininaeae	Arbre	Arthrose, affection articulaires, anti-inflammatoire, diurétique	Feuilles, écorce, bourgeon	Mars - septembre
Pin	<i>Pinus sylvestris</i>	Pinaceae	Arbre	Vertus antitussives, antiseptiques, anti-inflammatoire	Bourgeons	Avril - septembre
Cerisier	<i>Prunus avium</i>	Rosaceae	Arbre	Purifie l'organisme, stimule les reins et le foie	Feuilles	Juin - aout
Cormier	<i>Sorbus domestica</i>	Rosaceae	Arbre	Toux et indigestion	Feuilles et fleurs	Avril - septembre
Epicea	<i>Picea abies</i>	Pinaceae	Arbre	Respiratoire	Aiguilles	Toute l'année
Mélèze	<i>Larix decidua</i>	Pinaceae	Arbre	Toux	Aiguilles	Toute l'année
Orme	<i>Ulmus glabra</i>	Ulmaceae	Arbre	Anti-inflammatoire	Ecorces	Avril - juillet
Peuplier	<i>Populus tremula</i>	Salicaceae	Arbre	Anti-douleurs, rhumatisme, hyperplasie	Ecorces + feuilles	Avril - septembre
Pommier	<i>Malus sylvestris</i>	Rosaceae	Arbre	Apport en vitamines, fait baisser la fièvre, anti-rhumatismes, améliore l'activité rénale	Pelure de pomme	

Saule	Salix alba, Salix caprea	Salicaceae	Arbre	Anti-douleur, fébrifuge, anti-inflammatoire, insomnies, agitation nerveuses	Ecorce, chaton et feuilles	Avril - juin
Noyer	<i>Juglans regia</i>	Juglandaceae	Arbre	Astringent, antiseptique, aide à la digestion,	Feuille, écorce, fruit	Juin - aout
Aubépine	<i>Crataegus monogyna</i>	Rosaceae	Arbuste	Les infusions des fleurs sont bénéfiques contre les angines et les ulcérations de la gorge. Convient aux troubles liés à la faiblesse du cœur, aux maladies des vaisseaux, hypertension	Feuilles et fleurs	Avril - septembre
Ronce commune	<i>Rubus Fruticosus</i>	Rosaceae	Arbuste	Appareil digestif, maux d'estomac, douleurs abdominales, diarrhée. Plaies. Hémostatique	Feuilles	Mai - juillet
Cornouiller sanguin	<i>Cornus sanguinea</i> L.	Cornaceae	Arbuste			Avril - septembre
Noisetier	<i>Corylus avellana</i>	Betulaceae	Arbuste	Bénéfique pour la circulation et l'immunité, stimule les défenses immunitaires	Chaton, feuilles et écorces	Avril - septembre
Sureau	<i>Sambucus</i>	Dipsacales	Arbuste	Vertus émollientes, diurétique et sudorifique	Fleurs (inflorescence)	Mai - octobre
Laurier	<i>Laurus nobilis</i> L.	Lauraceae	Arbuste	Propriétés respiratoires, digestives	Feuilles	Avril - septembre (toute l'année)
Cognassier	<i>Cydonia oblonga</i>	Rosaceae	Arbuste	Toux et indigestion	Feuilles et fleurs	Mai - septembre
Groseillier	<i>Ribes rubrum</i>	Grossulariaceae	Arbuste		Feuilles	Avril - juin
Genévrier	<i>Juniperus</i> L.	Cupressaceae	Arbuste	Maux d'estomac, toux, asthme, antispasmodique, diurétique	Baies, feuilles, bois	
Bruyère	<i>Calluna vulgaris</i>	Ericaceae	Arbuste	Diurétique, antiseptique, sédatif léger	Fleurs (inflorescence)	Aout - septembre
Chénopode des murs Plusieurs espèces	<i>Chenopodostrum murale</i> L.	Amaranthaceae	Herbe	Riche en nutriments, bénéfique pour le système digestif et respiratoire	Feuilles et tiges	Avril - septembre
Mauve commune	<i>Malva neglecta</i> Wallr.	Malvaceae	Herbe	Propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires, bénéfique pour les maux de gorge et la toux	Feuilles	Avril - septembre
Luzerne Plusieurs espèces	<i>Medicago</i> L	Fabaceae	Herbe	Riches en nutriments, bcp de composés phénoliques, pouvoir réducteur et activité antibactérienne et antioxydante	Feuilles et tiges	Mai - septembre
Mélilot	<i>Melilotus officinalis</i>	Fabaceae	Herbe	Riche en protéines et en fibres, mais bcp d'anti-nutriments	Feuilles et fleurs (parties aériennes)	Juin - septembre

Lierre terrestre	<i>Glechoma hederacea L.</i>	Lamiaceae	Herbe	Bénéfique pour le système respiratoire et gastrointestinal. Soulager les rhumes, la toux, les irritations de la gorge et les douleurs abdominales	Feuilles et tiges	Mars - juin
Menthe	<i>Mentha pulegium L. et Mentha piperita L.</i>	Lamiaceae	Herbe	Propriété digestive, carminative, bronchites, maux de tête, foie, respiratoire réduit le stress	Feuilles	Mai - septembre
Cresson	<i>Nasturtium officinale R.</i>	Brassicaceae	Herbe	Antioxydante, bénéfique pour le système respiratoire et digestif, problème de rein acné, diurétique, anémie	Feuilles	Avril - septembre
Origan	<i>Origanum vulgare</i>	Lamiaceae	Herbe	Maux de dents. Contre le rhume et la grippe, antitussif, anti-inflammatoire.	Fleurs (inflorescence)	Juillet- septembre
Tamier commun	<i>Tamus communis L. ou Discorea communis L</i>	Discoreaceae	Herbe	Digestive, laxative	Feuilles, tiges et racines	Mars - juillet
Thym faux	<i>Thymus pulegioides L.</i>	Lamiaceae	Herbe	Appareil respiratoire. Contre le rhume et la grippe. Antitussif	Fleurs (inflorescence)	Juillet - septembre
Camomille	<i>Matricaria chamomilla</i>	Asteraceae	Herbe	Relaxation and sommeil, propriétés digestives, réduction du stress	Fleurs (inflorescence)	Mai - septembre
Dysphania ambrosioides	<i>Dysphania ambrosioides (L.)</i>	Amaranthaceae	Herbe		Feuilles	Avril - septembre (toute l'année)
Valériane	<i>Valeriana officinalis L.</i>	Caprifoliaceae	Herbe	Anxiété, aide au sommeil, maux de tête, aide à la digestion	Racines et rhizomes	Septembre - novembre (automne)
Ortie	<i>Urtica dioica L.</i>	Urticaceae	Herbe	Antihistaminique (soulage les allergies), maux de tête (migraines), anti-inflammatoire, propriétés digestives, antistress et relaxante	Racines	Septembre - novembre (automne)
Agripaume	<i>Leonurus cardiaca L.</i>	Lamiaceae	Herbe	Système nerveux, santé du cœur, propriétés digestives, aide au sommeil,	Tiges, feuilles et fleurs	Juin - septembre
Mélisse	<i>Melissa officinalis</i>	Lamiaceae	Herbe	Calmant, relaxant, aide à la digestion	Feuilles	Juin - septembre
Reine-des-prés	<i>Filipendula ulmaria</i>	Rosaceae	Herbe	Antalgique, anti-inflammatoire, anti-rhumatisme, diurétique	Feuilles, fleurs et racines	Juin - septembre
Verveine	<i>Verbena officinalis</i>	Verbenaceae	Herbe	Diurétique, antipyrétique et astringente	Feuilles, partie aérienne et fleurs	Avril - septembre
Aspérule odorante	<i>Asperula odorata L.</i>	Rubiaceae	Herbe	anti-spasmodique, sédatives, maux de tête, stimule la digestion, diurétique	Feuilles et fleurs (parties aériennes)	Avril - juin

Consoude	<i>Symphytum officinale</i>	Boraginaceae	Herbe	Cicatrisante, anti-inflammatoire, astringent	Fleuilles et racine	Mai-juin (feuille), Mars (racine)
Prèle	<i>Equisetum arvense</i>	Equisetaceae	Herbe	Reminéralisant, diurétique, astringente, cicatrisant	Partie aérienne	Mai - juillet

Annexe 2 : Formulaire distribué aux participants du test flash.

Analyse sensorielle

Profil Flash

Consignes : de l'eau est mis à votre disposition dans le but de vous rincer la bouche entre chaque dégustation.

1^{ère} partie

Vous disposez de 6 échantillons de kombucha à déguster. Vérifier que l'ordre de présentation des boissons est identique à celui présenté ci-contre :

K3	K1	K6	K2	K5	K4
----	----	----	----	----	----

Procédez à la dégustation des échantillons dans le sens de présentation de ceux-ci, en allant de la gauche vers la droite. Lors du test, il vous est demandé d'identifier les descripteurs sensoriels vous permettant de distinguer les échantillons les uns des autres. Les descripteurs ne doivent pas être hédoniques (notions de plaisir, de satisfaction, ...) ou visuels.

Une fois que vous avez goûté à tous les produits, libre à vous de les goûter à nouveau et ce dans l'ordre de votre choix.

À tout moment, vous pouvez prendre une pause et/ou rincer votre bouche au besoin.

K3 :

K1 :

K6 :

K2 :

K5 :

K4 :

2^{ème} partie

Le deuxième parti du test consiste à mettre en commun tous les descripteurs de chacun des consommateurs. Une fois mis en commun, ceux qui revenait le plus souvent ont été conservé pour la 3^{ème} partie.

Voici tous les descripteurs cités :

- K3 : foin, herbal, miel, acidité, vinaigré, plat, sucré, cacao, raisin, chocolat, floral, liquoreux, thé, épice, pomme, poire, pétillant, piquant, sureau
- K1 : Boisé, cuir, astringent, pomme, acidulé, sucré, fade, fermenté, amer, bouleau, acide lactique, abricot, florale, doux, thé, acidité, neutre, vanille, épice, cannelle,
- K6 : pêche, fruit à noyau, floral, sucré, levuré, fermenté, purin, urine, lisier, âpre, végétal, boisé
- K2 : acidité, raisin sec, floral, agrume, astringent, sucré, thé, doux, vinaigré, fruité, équilibré, acidulée, fermenté, citron, épice,
- K5 : floral, doux, amer, acide, sucré, aqueux, acidité lactique, liquoreux, thé, équilibré, beurre, noisette, pêche blanche, herbale, fruité,
- K4 : vinaigré, épice, astringent, yaourt, note lactée, âpre, terreux, piquant, fruité, pêche, fermenté

Et les descripteurs retenus sont : sucré, fruité, floral et acide

3^{ème} partie

Une fois la révision de votre liste personnelle effectuée, vous pouvez désormais procéder au classement de chaque boisson en fonction de chaque descripteur de votre liste. Ainsi, prenez le 1^{er} descripteur de votre liste et indiquez- le sur la feuille de réponse fournie, puis classez les produits du moins intenses au plus intense, comme présenté dans l'exemple ci-contre.

Plusieurs produits peuvent se situer au même niveau dans le classement

Descripteur : X



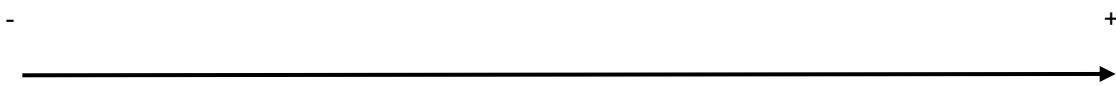
Descripteur : Floral



Descripteur : Fruité



Descripteur : Acide



Descripteur : Sucré



Annexe 3 : Formulaire distribué aux participants du test hédonique.

Analyse sensorielle

Dégustation de Kombucha

Instruction générale :

1. Dégustez les échantillons dans l'ordre donné
2. Ne comparez pas les boissons entre-elles
3. Répondez spontanément, il n'y a pas de bonnes ou de mauvaises réponses

Pour neutraliser votre palais entre chaque échantillon, de l'eau et une biscotte sont à votre disposition. Commencez par répondre à quelques questions générales afin de mieux caractériser le profil des participants échantillonnée.

Informations générales

1. Quel est votre genre ?

- Femme
- Homme
- Je préfère ne pas répondre

2. Dans quelle tranche d'âge vous trouvez-vous ?

- Moins de 18 ans
- De 18 à 25 ans
- De 26 à 35 ans
- De 36 à 45 ans
- De 46 à 55 ans
- De 56 à 65 ans
- Plus de 65 ans

3. Quel est votre statut au sein de l'université de Gembloux Agro-Bio Tech ?

- Etudiant(e)
- Membre du personnel

4. Avez-vous déjà goûté du Kombucha

- Oui
- Non

Test d'acceptabilité

Echantillon 457

Pour chaque critère ci-dessous, cochez la case correspondant à votre ressenti personnel. L'échelle va de "**Très désagréable**" à "**Très agréable**".

5. Comment évaluez-vous la couleur de l'échantillon ?

<input type="checkbox"/>				
Très désagréable	Plutôt désagréable	Neutre	Plutôt agréable	Très agréable

6. Comment évaluez-vous l'acidité de l'échantillon ?

<input type="checkbox"/>				
Très désagréable	Plutôt désagréable	Neutre	Plutôt agréable	Très agréable

7. Comment évaluez-vous la sucrosité de l'échantillon ?

<input type="checkbox"/>				
Très désagréable	Plutôt désagréable	Neutre	Plutôt agréable	Très agréable

8. Comment évaluez-vous l'appréciation globale de l'échantillon ?

<input type="checkbox"/>				
Très désagréable	Plutôt désagréable	Neutre	Plutôt agréable	Très agréable

Echantillon 823

Pour chaque critère ci-dessous, cochez la case correspondant à votre ressenti personnel.
L'échelle va de "Très désagréable" à "Très agréable".

1. Comment évaluez-vous la couleur de l'échantillon ?

<input type="checkbox"/>				
Très désagréable	Plutôt désagréable	Neutre	Plutôt agréable	Très agréable

2. Comment évaluez-vous l'acidité de l'échantillon ?

<input type="checkbox"/>				
Très désagréable	Plutôt désagréable	Neutre	Plutôt agréable	Très agréable

3. Comment évaluez-vous la sucrosité de l'échantillon ?

<input type="checkbox"/>				
Très désagréable	Plutôt désagréable	Neutre	Plutôt agréable	Très agréable

4. Comment évaluez-vous l'appréciation globale de l'échantillon ?

<input type="checkbox"/>				
Très désagréable	Plutôt désagréable	Neutre	Plutôt agréable	Très agréable

Echantillon 619

Pour chaque critère ci-dessous, cochez la case correspondant à votre ressenti personnel.
L'échelle va de "Très désagréable" à "Très agréable".

1. Comment évaluez-vous la couleur de l'échantillon ?

<input type="checkbox"/>				
Très désagréable	Plutôt désagréable	Neutre	Plutôt agréable	Très agréable

2. Comment évaluez-vous l'acidité de l'échantillon ?

<input type="checkbox"/>				
Très désagréable	Plutôt désagréable	Neutre	Plutôt agréable	Très agréable

3. Comment évaluez-vous la sucrosité de l'échantillon ?

<input type="checkbox"/>				
Très désagréable	Plutôt désagréable	Neutre	Plutôt agréable	Très agréable

4. Comment évaluez-vous l'appréciation globale de l'échantillon ?

<input type="checkbox"/>				
Très désagréable	Plutôt désagréable	Neutre	Plutôt agréable	Très agréable

Echantillon 375

Pour chaque critère ci-dessous, cochez la case correspondant à votre ressenti personnel.
L'échelle va de "Très désagréable" à "Très agréable".

1. Comment évaluez-vous la couleur de l'échantillon ?

<input type="checkbox"/>				
Très désagréable	Plutôt désagréable	Neutre	Plutôt agréable	Très agréable

2. Comment évaluez-vous l'acidité de l'échantillon ?

<input type="checkbox"/>				
Très désagréable	Plutôt désagréable	Neutre	Plutôt agréable	Très agréable

3. Comment évaluez-vous la sucrosité de l'échantillon ?

<input type="checkbox"/>				
Très désagréable	Plutôt désagréable	Neutre	Plutôt agréable	Très agréable

4. Comment évaluez-vous l'appréciation globale de l'échantillon ?

<input type="checkbox"/>				
Très désagréable	Plutôt désagréable	Neutre	Plutôt agréable	Très agréable

Vos habitudes de consommations

5. Consommez-vous des sodas naturels² ?

- Oui
- Non

6. Si oui, à quelle fréquence consommez-vous ces sodas naturels ?

- Une fois par jour
- Plusieurs fois par semaine

² Désigne une boisson gazeuse élaborée à partir d'ingrédients naturels comme du Kéfir, du kombucha, de la ginger beer, soda/limonade artisanal

- Une fois par semaine
- Plusieurs fois par mois
- Une fois par mois
- Jamais

7. Si vous en consommez, de quel type de produit s'agit-il ?

8. Si vous en consommez, fermentez-vous vos boissons vous-même ou les achetez-vous en magasin ?

- Maison
- Magasin

Annexe 4 : Données brutes des mesures, moyennes et écart-type de pH de l'expérimentation 1 (SB & JV) et de l'expérimentation 3.

Tableau additionnel 1 : Mesure des pH de l'expérimentation 1 (SB = silicone bags, JV = jarre en verre).

	SB1	SB2	SB3	JV1	JV2	JV3
J0	2,92	2,92	2,92	2,92	2,92	2,92
J1	3,81	3,79	3,86	3,74	3,8	3,74
J7	3,07	3,34	3,32	2,71	2,81	2,74
J14	2,6	2,53	2,64	2,78	3,21	3,05
J21	2,84	2,71	2,82	2,65	2,55	2,6

Tableau additionnel 2 : Moyenne et écart-type de l'expérimentation 1 (SB et JV).

	SB		JV	
	Moyenne	Ecart-Type	Moyenne	Ecart-type
J0	2,92	0	2,92	0
J1	3,82	0,036	3,76	0,034
J7	3,24	0,15	3,12	0,015
J14	2,59	0,055	2,94	0,14
J21	2,79	0,07	2,60	0,05

Tableau additionnel 3 : Mesure des pH pour les kombuchas à base d'infusion d'aubépine.

	ICf1	ICf2	ICf3	IFf1	IFf2	IFf3	ICs1	ICs2	ICs3	IFs1	IFs2	IFs3
J0	4,002	4,002	4	4,002	4,002	4,002	4,13	4,1	4,11	4,04	4,06	4,04
J1	3,7	3,7	3,8	3,8	3,8	3,7	/	/	/	3,98	3,95	3,97
J3	3,3	3,2	3,35	3,4	3,4	3,45	3,49	3,65	3,42	/	/	/

J5	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	3,37	3,3	3,32
J7	3,05	3,1	3,07	3,21	3,19	3,2	2,92	3,03	3,02	3,08	3,12	3,11	

Tableau additionnel 4 : Mesure des pH pour les kombuchas à base d'infusions d'aspérule.

	ICf1	ICf2	ICf3	IFf1	IFf2	IFf3	ICs1	ICs2	ICs3	IFs1	IFs2	IFs3
J0	3,9	3,9	3,9	4,05	4,05	4,05	4,08	4,1	4,11	4,21	4,2	4,12
J1	3,7	3,74	3,72	3,8	3,89	3,76	/	/	/	4,08	4,06	4,02
J3	3,69	3,7	3,72	3,7	3,68	3,5	3,68	3,72	3,73	/	/	/
J5	/	/	/	/	/	/	/	/	/	3,51	3,36	3,42
J7	3,4	3,55	3,53	3,76	3,65	3,41	3,37	3,47	3,3	3,13	3,13	3,15

Tableau additionnel 5 : Mesure des pH pour les kombuchas à base d'infusion de sureau.

	ICf1	ICf2	ICf3	IFf1	IFf2	IFf3	ICs1	ICs2	ICs3	IFs1	IFs2	IFs3
J0	4,25	4,25	4,25	4,31	4,31	4,31	4,25	4,2	4,18	4,11	4,02	4,12
J1	4,08	4,07	4,08	4,13	4,11	4,14	/	/	/	3,98	3,92	3,95
J3	3,8	3,79	3,79	3,79	3,78	3,74	3,54	3,65	3,61	/	/	/
J4	3,89	3,87	3,84	3,81	3,83	3,75	/	/	/	/	/	/
J5	/	/	/	/	/	/	/	/	/	3,38	3,4	3,35
J7	3,79	3,75	3,76	3,6	3,69	3,66	3,08	3,09	3,03	3,15	3,08	3,15

Tableau additionnel 6 : Moyenne et écart-type des kombuchas à base d'infusion d'aubépine.

	ICf Ab		IFf Ab		ICs Ab		IFs Ab	
	Moyenne	Ecart-type	Moyenne	Ecart-type	Moyenne	Ecart-type	Moyenne	Ecart-type
J0	4,002	0	4,002	0	4,11	0,0152	4,053	0,011
J1	3,73	0,057	3,76	0,057	/	/	3,97	0,017
J3	3,28	0,076	3,41	0,028	3,52	0,117	/	/
J5	/	/	/	/	/	/	3,33	0,036
J7	3,07	0,025	3,2	0,005	2,991	0,06	3,1	0,02

Tableau additionnel 7 : Moyenne et écart-type des kombuchas à base d'infusions d'aspérule.

	ICf As		IFf As		ICs As		IFs As	
	Moyenne	Ecart-type	Moyenne	Ecart-type	Moyenne	Ecart-type	Moyenne	Ecart-type
J0	3,9	0	4,05	0	4,09	0,0152	4,176	0,049
J1	3,72	0,02	3,816	0,06	/	/	4,05	0,03
J3	3,7	0,0152	3,676	0,025	3,71	0,026	/	/
J5	/	/	/	/	/	/	3,43	0,075
J7	3,49	0,081	3,43	0,055	3,38	0,085	3,13	0,01

Tableau additionnel 8 : Moyenne et écart-type des kombuchas à base d'infusions de sureau.

	ICf S	IFf S	ICs S	IFs S

	Moyenne	Ecart-type	Moyenne	Ecart-type	Moyenne	Ecart-type	Moyenne	Ecart-type
J0	4,25	0	4,31	0	4,21	0,03	4,08	0,055
J1	4,07	0,005	4,12	0,015	/	/	3,95	0,03
J3	/	/	/	/	3,6	0,055	/	/
J4	3,79	0,01	3,77	0,026	/	/	/	/
J5	/	/	/	/	/	/	3,37	0,025
J6	3,86	0,025	3,79	0,04	/	/	/	/
J7	3,76	0,02	3,65	0,045	3,066	0,032	3,12	0,04

Annexe 5 : Données brutes des mesures, moyennes et écart-type de pH de l'expérimentation 1 (SB & JV) et de l'expérimentation 3.

Tableau additionnel 9 : Concentration des moyennes et écart-types des sucres totaux (saccharose, glucose et fructose) contenu dans l'expérimentation 1 (SB & JV).

	Saccharose [g/l]		Glucose [g/L]		Fructose [g/L]	
	Moyenne	Ecart-type	Moyenne	Ecart-type	Moyenne	Ecart-type
SB1	67,95	4,89	1,85	0,095	2,27	0,75
SB7	69,79	2,67	1,88	0,104	2,956	0,046
SB14	48,62	1,08	2,16	0,09	4,49	0,33
SB21	51,71	1,43	3,96	0,384	7,56	0,89
JV1	71,42	0,783	1,92	0,04	2,34	0,07
JV7	61,81	1,6	1,74	0,036	2,26	0,041
JV14	60,2	1,67	2,57	0,268	3,51	0,54
JV21	39,98	0,83	2,3	0,025	6,38	0,24

Tableau additionnel 10 : Concentration des moyennes et écart-types de l'éthanol et des acides organiques (acide acétique et lactique) contenu dans l'expérimentation 1 (SB & JV).

	Acide lactique [g/L]		Acide acétique [g/L]		Ethanol [g/L]	
	Moyenne	Ecart-type	Moyenne	Ecart-type	Moyenne	Ecart-type
SB1	1,48	1,16	4,71	0,82	5,55	0,065
SB7	2,42	0,03	7,62	1,15	5,96	0,67
SB14	2,46	0,033	15,43	0,17	1,33	0,06
SB21	2,47	0,024	13,43	2,12	4,29	1,62
JV1	2,28	0,04	5,27	0,805	5,76	0,02
JV7	2,51	0,04	11,84	0,33	3,56	0,86
JV14	2,47	0,02	10,09	2	5,91	1,24
JV21	2,44	0,04	15,31	0,09	1,32	0,1

Tableau additionnel 11 : Concentration des moyennes et écart-types des sucres totaux (saccharose, glucose et fructose) contenu dans l'expérimentation 3 (kombucha à base d'infusion de la forêt).

	Saccharose [g/l]	Glucose [g/L]	Fructose [g/L]

		Moyenne	Ecart-type	Moyenne	Ecart-type	Moyenne	Ecart-type
Aubépine	ICf	33,65	1,78	5,68	0,48	5,68	0,48
	IFF	36,18	0,27	4,47	0,09	4,47	0,09
	ICs	1,26	0,26	10,24	1,62	10,24	1,62
	IFs	14,92	1,25	6,67	0,64	6,67	0,64
Aspérule	ICf	45,97	1,63	2,64	0,078	2,64	0,078
	IFF	42,27	1,83	2,37	0,17	2,37	0,18
	ICs	20,86	0,45	10,53	0,08	10,53	0,08
	IFs	15,42	0,6	11,75	0,15	11,75	0,15
Sureau	ICf	6,41	0,31	8,09	0,96	8,09	0,96
	IFF	18,09	0,49	9,99	0,43	9,99	0,42
	ICs	11,46	1,83	10,56	0,68	10,56	0,68
	IFs	8,06	1,61	9,19	0,62	9,19	0,62

Tableau additionnel 12 : Concentration des moyennes et écart-types de l'éthanol et des acides organiques (acide acétique et lactique) contenu dans l'expérimentation 3 (kombucha à base d'infusion de la forêt).

		Acide lactique [g/L]		Acide acétique [g/L]		Ethanol [g/L]	
		Moyenne	Ecart-type	Moyenne	Ecart-type	Moyenne	Ecart-type
Aubépine	ICf	1,66	0,72	5,39	1,32	2,45	0,84
	IFF	0,899	0,48	5,65	1,033	2,25	0,55
	ICs	1,28	0,46	9,59	1,77	6,24	1,39
	IFs	1,18	0,46	7,57	2,06	10,98	0,34
Aspérule	ICf	0,92	0,34	5,44	1,37	2,32	0,94
	IFF	1,85	0,76	5,53	1,1	3,01	0,83
	ICs	1,55	0,52	6,95	2,34	4,08	0,99
	IFs	0,68	0,28	6,64	0,55	4,57	0,38
Sureau	ICf	2,076	0,76	3,18	0,55	4,82	0,41
	IFF	1,52	0,085	2,55	0,7	6,67	2,55
	ICs	0,78	0,29	6,74	0,77	3,53	0,8
	IFs	0,81	0,377	7,1	0,54	7,06	1,12