

Travail de fin d'études en chimie et bio-industries : Optimisation de la production du SCOBY, co-produit du kombucha, et sa valorisation dans une matrice alimentaire approches physico-chimiques et sensorielles.

Auteur : El Ouafi, Hafsa

Promoteur(s) : Haubruge, Eric; Goffin, Dorothée

Faculté : Gembloux Agro-Bio Tech (GxABT)

Diplôme : Master en bioingénieur : chimie et bioindustries, à finalité spécialisée

Année académique : 2025-2026

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/25091>

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.

OPTIMISATION DE LA PRODUCTION DU SCOPY, CO-PRODUIT DU KOMBUCHA, ET SA VALORISATION DANS UNE MATRICE ALIMENTAIRE APPROCHES PHYSICO- CHIMIQUES ET SENSORIELLES

HAFSA EL OUAFI

**TRAVAIL DE FIN D'ÉTUDES PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE
MASTER BIOINGÉNIEUR EN CHIMIE ET BIOINDUSTRIES**

ANNÉE ACADÉMIQUE 2025-2026

(CO)-PROMOTEUR(S): GOFFIN DOROTHÉE & HAUBRUGE ERIC

©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.

**OPTIMISATION DE LA PRODUCTION DU
SCOBY, CO-PRODUIT DU KOMBUCHA, ET SA
VALORISATION DANS UNE MATRICE
ALIMENTAIRE APPROCHES PHYSICO-
CHIMIQUES ET SENSORIELLES**

HAFSA EL OUAFI

**TRAVAIL DE FIN D'ÉTUDES PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE
MASTER BIOINGÉNIEUR EN CHIMIE ET BIOINDUSTRIES**

ANNÉE ACADÉMIQUE 2025-2026

(CO)-PROMOTEUR(S): GOFFIN DOROTHÉE & HAUBRUGE ERIC

Ce travail de fin d'études a été réalisé au Smart Gastronomy Lab, au Laboratoire de Sciences Gastronomiques, ainsi qu'au sein du Département de Chimie des Molécules Naturelles de la Faculté de Gembloux Agro-Bio Tech de l'Université de Liège. Il a également été mené en collaboration avec le laboratoire Materia Nova à Mons.

Remerciements

Je tiens à exprimer ma sincère reconnaissance à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail de fin d'études sans lesquelles ce projet n'aurait pu aboutir.

Je souhaite tout d'abord adresser mes remerciements à mes promoteurs, le Professeur Éric Haubruge et la Professeure Dorothee Goffin, pour m'avoir accueillie au sein de leur équipe, pour leur encadrement, leur disponibilité ainsi que pour leurs conseils avisés tout au long de ce travail. Leur expertise et leur regard critique ont été essentiels à l'orientation scientifique de ce projet.

Je tiens également à remercier tout particulièrement les doctorants Mathieu De Rijdt, Benjamin Baugier et Sarah Suffys pour leur accompagnement, leur aide technique et leurs précieux conseils, qui ont grandement contribué à l'avancement et à la qualité de ce travail. Je remercie plus largement l'ensemble de l'équipe du Smart Gastronomy Lab pour leur soutien, leur disponibilité et l'ambiance de travail stimulante qu'ils ont su instaurer.

Mes remerciements s'adressent également à l'équipe de Materia Nova à Mons, et en particulier à Antoniya Toncheva et Rob Ondewaters, pour leur collaboration, leur expertise et le temps qu'ils m'ont consacré dans le cadre de ce projet.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance la plus profonde à ma famille, qui m'a soutenue de manière inconditionnelle tout au long de mon parcours académique, malgré la distance depuis le Maroc. Leur confiance absolue, leurs encouragements constants, leurs sacrifices et leur présence indéfectible ont constitué un pilier essentiel de ma réussite.

Je souhaite également adresser un remerciement tout particulier à mon fiancé pour son soutien constant, sa patience et sa présence à chaque étape de ce parcours. Je tiens aussi à exprimer ma profonde gratitude envers sa famille, dont le soutien exceptionnel, la bienveillance sincère et l'engagement sans faille ont été déterminants durant ces longues années d'études.

Enfin, je remercie sincèrement mes amis qui ont été présents pendant mes années d'études. Grâce à leur soutien, leur écoute et leur bienveillance, les moments les plus difficiles ont pu être surmontés, et les périodes de doute ont été allégées. Les nombreux moments de partage, de

réconfort et de convivialité vécus à leurs côtés ont rendu ces années universitaires particulièrement enrichissantes, et j'en garderai un souvenir précieux.

« Allons, amis, il faut plier bagage,

Puisque demain, au lever de l'aurore,

Il faut quitter ces vieux murs de Gembloux. »

Abstract

This thesis focuses on the production, purification, and valorization of SCOBY, a microbial cellulose biofilm formed during kombucha fermentation. Although essential to the fermentation process, SCOBY is produced in excess and is commonly discarded, despite its potential functional and technological properties.

Kombucha fermentations were conducted to investigate the influence of selected process parameters on SCOBY formation, including fermentation duration, initial SCOBY mass, proportion of backslopping liquid, and type of fermentation container. The evolution of SCOBY mass and morphology throughout fermentation highlights a strong dependence of biofilm formation on fermentation duration.

Following fermentation, SCOBY samples were subjected to purification protocols combining successive alkaline and oxidative treatments applied at two temperatures (20 °C and 90 °C). The progression of the purification process is associated with a gradual decrease in mass and a marked modification of the biofilm appearance. Higher purification temperature is associated with more pronounced mass losses and visually clearer material, reflecting an enhanced removal of residual non-cellulosic compounds.

The purified SCOBY was characterized using complementary physicochemical and microbiological approaches, including FTIR, scanning electron microscopy SEM, thermogravimetric analysis, water absorption capacity measurements, and microbiological analyses. FTIR and SEM observations confirm the preservation of a cellulose-rich structure after purification, while thermogravimetric analysis highlights a more homogeneous thermal response of the material, suggesting improved structural consistency following purification. Variations in water absorption capacity reflect modifications of the cellulosic network induced by the purification conditions. Microbiological analyses show a strong decrease in viable microorganisms, supporting the effectiveness of the purification process for material stabilization and further food-related applications.

Based on these characteristics, a SCOBY harvested after 14 days of fermentation and purified at 90 °C was incorporated into a strawberry sorbet at different concentrations. It led to modifications of texture, melting behavior, and sensory perception when compared with reference formulations containing conventional stabilizers. SCOBY-containing sorbets remain sensorially acceptable, with textural attributes varying according to the level of incorporation.

Overall, this work highlights the influence of fermentation and purification conditions on SCOBY properties and supports its potential valorization as a microbial cellulose-based ingredient.

Keywords: Kombucha; SCOBY; microbial cellulose; fermentation parameters; purification; physicochemical properties; food valorization; sorbet

Résumé

Ce travail porte sur la production, la purification et la valorisation du SCOBY, un biofilm de cellulose microbienne formé au cours de la fermentation du kombucha. Bien qu'essentiel au processus fermentaire, le SCOBY est produit en excès et généralement non exploité, malgré son potentiel fonctionnel et technologique.

Des fermentations de kombucha ont été réalisées afin d'étudier l'influence de différents paramètres de procédé sur la formation du SCOBY, notamment la durée de fermentation, la masse initiale de SCOBY, la proportion de liquide de repiquage et le type de récipient de fermentation. Le suivi de l'évolution de la masse et de la morphologie du SCOBY au cours de la fermentation met en évidence une forte dépendance de la formation du biofilm à la durée de fermentation.

À l'issue de la fermentation, les échantillons de SCOBY ont été soumis à des protocoles de purification combinant des traitements alcalins et oxydants successifs, appliqués à deux températures (20 °C et 90 °C). La progression du procédé de purification s'accompagne d'une diminution progressive de la masse et d'une modification marquée de l'aspect du biofilm. Une température de purification plus élevée est associée à des pertes de masse plus importantes et à un matériau visuellement plus clair, traduisant une élimination importante des composés résiduels non cellulosiques.

Le SCOBY purifié a été caractérisé à l'aide d'approches physicochimiques et microbiologiques complémentaires. Les analyses FTIR et MEB confirment la préservation d'une structure riche en cellulose après purification, tandis que l'analyse thermogravimétrique met en évidence des différences de comportement thermique en fonction des conditions de purification, traduisant une modification des propriétés thermiques du SCOBY purifié. Les variations de capacité d'absorption d'eau témoignent de modifications du réseau cellulosique induites par les conditions de purification. Les analyses microbiologiques montrent une forte diminution des micro-organismes viables, confirmant l'efficacité du procédé de purification pour la stabilisation du matériau et son potentiel pour des applications alimentaires.

Sur base de ces caractéristiques, un SCOBY récolté après 14 jours de fermentation et purifié à 90 °C a été incorporé dans un sorbet à la fraise à différentes concentrations. Les sorbets contenant du SCOBY restent globalement acceptables sur le plan sensoriel, avec des attributs texturaux variant en fonction du taux d'incorporation.

Ainsi, Ce travail met en évidence l'influence des conditions de fermentation et de purification sur les propriétés du SCOBY et soutient son potentiel de valorisation en tant qu'ingrédient à base de cellulose microbienne.

Mots-clés : Kombucha ; SCOBY ; cellulose microbienne ; paramètres de fermentation ; purification ; propriétés physicochimiques ; valorisation alimentaire ; sorbet

Table des matières

Remerciements	5
Abstract.....	7
Résumé	8
Table des matières	9
Liste des tableaux.....	11
Liste des figures.....	12
Liste des abréviations.....	13
Introduction.....	14
Etat de l'art.....	14
I. Le kombucha : boisson fermentée fonctionnelle	14
1. Histoire, origine et diffusion	14
2. Principe général de fermentation de Kombucha.....	15
3. Composition nutritionnelle et bénéfiques du Kombucha pour la santé	16
II Le SCOBY : structure, composition microbienne et biochimique.....	17
1. Composition microbiologique du SCOBY	17
2. Rôle des levures, des bactéries acétiques et des bactéries lactiques dans le SCOBY...18	
III. La cellulose microbienne issue du SCOBY : propriétés et procédés de mise en œuvre	19
1. Généralités sur la cellulose.....	19
2. Différences entre cellulose végétale et cellulose bactérienne	20
3. Biosynthèse de la cellulose microbienne par les bactéries acétiques.....	20
4. Purification de la cellulose microbienne issue du SCOBY en vue d'applications alimentaires.....	21
5. Caractérisation de la pellicule de SCOBY	23
IV. Valorisation du SCOBY dans l'alimentation	25
1. Applications de la cellulose bactérienne dans le domaine alimentaire.....	25
2. Rôle potentiel du SCOBY dans la structuration et la stabilité des sorbets	27
Matériel et méthode.....	28
I. Production de kombucha.....	28
II. Lavage et purification du SCOBY.....	29
III. Caractérisation du SCOBY	30
1. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).....	30
2. Capacité d'absorption d'eau du SCOBY	30
3. Thermogravimétrie	31
4. Microscopie électronique à balayage.....	31
5. Analyses microbiologiques.....	31
IV. Formulation de sorbets	31
V. Analyse des paramètres physicochimiques et sensoriels des sorbets.....	32

1.	Evaluation de la texture.....	32
2.	Test de fonte	33
3.	Analyse sensorielle	33
VI	Analyse statistique	34
	Présentation de schéma expérimental.....	34
	Résultats et discussions.....	36
I.	Optimisation de la production du SCOBY.....	36
1.	Influence du temps de fermentation sur la formation du SCOBY	36
2.	Influence de la masse initiale de SCOBY sur la production finale de SCOBY	38
3.	Effet de la masse initiale de SCOBY et du jus de repiquage sur la production de SCOBY ..	39
4.	Evaluation de l'effet du changement de contenant : fermentation en conteneurs gastronormés en inox.....	40
II.	Purification du SCOBY.....	43
1.	Évolution de la masse et observations visuelles au cours de la purification.....	43
1.	Evolution de la masse humide du SCOBY et limites de l'indicateur	45
1.	Masse résiduelle après étuvage	46
III.	Caractérisation du SCOBY	47
1.	Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR).....	47
2.	Effet du temps de fermentation et de la purification thermique sur la capacité d'absorption d'eau du SCOBY	49
3.	Thermogravimétrie	50
4.	Microscopie électronique à balayage (MEB).....	52
5.	Analyses microbiologiques.....	53
VI.	Incorporation du SCOBY dans le sorbet.....	57
1.	Evaluation de la texture.....	57
2.	Test de fonte	60
3.	Analyse sensorielle	62
	Contribution personnelle	66
	Conclusion et perspectives.....	67
	Références bibliographiques.....	69
	Annexes	75
	Annexe 1 Questions du formulaire d'analyse sensorielle.....	75
	Annexe 2 Données brutes se référant aux masses de SCOBY	75
	Annexe 3 Analyse FTIR du SCOBY	76
	Annexe 4 la capacité d'absorption d'eau du SCOBY	78
	Annexe 5 Analyses Microbiologiques	79

Liste des tableaux

Tableau 1 Correspondance entre les longueurs d'onde FTIR et les groupements fonctionnels de la cellulose microbienne (Chaussée et al., 2025)	24
Tableau 2. Masses de SCOBY produit (moyenne \pm écart-type, g) en fonction de la masse initiale de SCOBY, du pourcentage de jus de repiquage (JR) et de la durée de fermentation (14 et 21 jours). n =2ou3).....	40
Tableau 3. Suivi de l'évolution de la masse de pellicules de SCOBY issues de fermentations de 7, 14 et 21 jours au cours des étapes de purification à 20°C.....	44
Tableau 4. Suivi de l'évolution de la masse de pellicules de SCOBY issues de fermentations de 7, 14 et 21 jours au cours des étapes de purification à 90°C.....	44
Tableau 5. Variation du rendement en masse humide selon la durée de fermentation et la température de purification (moyenne +/- écart type n=3)	46
Tableau 6. masse résiduelle de SCOBY J14 après étuvage : 50 °C – 20 h ; moyenne \pm écart-type, n = 3.....	47
Tableau 7. Capacité d'absorption d'eau du SCOBY en fonction du temps de fermentation et de la température de purification	50
Tableau 8. Résultats de l'analyse microbiologique du SCOBY frais purifié à 20 °C après 7, 14 et 21 jours de fermentation, exprimés en nombre de colonies de bactéries, levures et champignons. (n=2).....	54
Tableau 9. Résultats de l'analyse microbiologique du SCOBY frais purifié à 90 °C après 7, 14 et 21 jours de fermentation, exprimés en nombre de colonies de bactéries, levures et champignons. (n=2)	54
Tableau 10. Résultats de l'analyse microbiologique du SCOBY lyophilisé purifié à 20 °C après 7, 14 et 21 jours de fermentation, exprimés en nombre de colonies de bactéries, levures et champignons. (n=2).....	55
Tableau 11. Résultats de l'analyse microbiologique du SCOBY lyophilisé purifié à 90 °C après 7, 14 et 21 jours de fermentation, exprimés en nombre de colonies de bactéries, levures et champignons. (n=2).....	55
Tableau 12. Paramètres de texture (cohésion, consistance, fermeté et indice de viscosité) des différentes formulations, exprimés en moyenne \pm écart-type (n=3).....	59
Tableau 13. Vitesse de fonte (g/min) des différentes formulations de sorbets	61

Liste des figures

Figure 1. (a) Composants majeurs du kombucha (b) schéma de production du kombucha (Zailani et al., 2022).....	16
Figure 2. Abondance relative des espèces fongiques (barres grises) et bactériennes (barres noires) identifiées au sein du SCOBY (Dartora et al., 2023).....	18
Figure 3. Illustration des processus métaboliques associés à l'utilisation des substrats par le SCOBY (Laavanya et al., 2021).	19
Figure 4. Micrographies de pellicules de SCOBY purifiées à 23°C (à gauche) et 90°C (à droite) (Amarasekara et al., 2020).	25
Figure 5. Applications alimentaires de la cellulose bactérienne (Shi et al., 2014).....	26
Figure 6. Production de kombucha en sacs de silicone suspendus, réalisée dans une chambre à température contrôlée (25 °C).	28
Figure 7. Production de kombucha dans conteneurs gastronormés en inox avec couvercle en silicone réalisée dans une chambre à température contrôlée (25 °C).	29
Figure 8. Schéma expérimental	35
Figure 9 Evolution de la quantité de SCOBY (g) produite en fonction de la durée de fermentation (moyenne ± écart-type ; n=3)	36
Figure 10. Photographies de SCOBY récupéré après 7 jours, 14 jours et 21 jours de fermentation (de gauche à droite).....	37
Figure 11 Quantité de SCOBY produite (g) en 21 jours en fonction de la quantité de SCOBY initiale (g)(moyenne ± écart-type ; n=3).....	39
Figure 12. Observation du développement de moisissures après 7 jours (gauche) et 9 jours (centre) de fermentation, ainsi que de l'évaporation quasi complète du milieu liquide après 21 jours (droite).	41
Figure 13. Morphologie du SCOBY obtenue après 14 jours de fermentation réalisée dans un bac gastronormé fermé à l'aide d'un couvercle en silicone.....	42
Figure 14. Evolution visuelle de l'aspect de la pellicule de SCOBY (J7, J14,J21) au cours des étapes de purification à 90°C.....	45
Figure 15. Analyse FTIR du SCOBY de kombucha purifié à 20 °C : MCC (noir), J7 (vert), J14 (bleu) et J21 (rouge).....	48
Figure 16. Analyse FTIR du SCOBY de kombucha purifié à 20 °C : MCC (noir), J7 (vert), J14 (bleu) et J21 (rouge).....	48
Figure 17. Thermogrammes comparatifs de SCOBY J14 purifié à 20°C et à 90°C et MCC.....	51
Figure 18. Micrographies de SCOBY J14 purifié à 90°C	52
Figure 19. Graphique de la force (N) en fonction du temps (s) lors de la phase de compression et de retrait des 6 formulations (moyenne; n=3)	58
Figure 20. Test de fonte effectué sur les différentes formulations de sorbets (moyenne; n=3).....	61
Figure 21. Évaluation hédonique des descripteurs de texture des sorbets en fonction de la formulation (moyenne, +/- écart type)	63
Figure 22. Analyse FTIR du SCOBY J7 purifié à 20 °C	76
Figure 23. Analyse FTIR du SCOBY J14 purifié à 20°C.....	77
Figure 24. Analyse FTIR sur SCOBY J21 purifié à 20°C.....	77
Figure 25. Analyse FTIR sur MCC.....	78
Figure 26. Aspect de SCOBY avant et après test d'absorption d'eau.....	78
Figure 27. (a) SCOBY J21 non purifié (b) SCOBY J14 purifié à 90°C lyophilisé (c) SCOBY J14 jours purifié à 20°C lyophilisé (d) SCOBY J14 purifié à 90°C frais (e) purifié à 20°C frais.....	79
Figure 28. Analyse thermogravimétrique dérivée: comparaison des profils de dégradation thermique du SCOBY J14 purifié à (20 °C vs 90 °C) et de la MCC.....	79

Liste des abréviations

Abréviations	Signification
SCOBY	Symbiotic culture of bacteria and yeast
FTIR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
SEM	Scanning Electron Microscopy
MCC	Microcrystalline Cellulose
J7	7 jours de fermentation
J14	14 jours de fermentation
J21	21 jours de fermentation
FTIR	Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
MEB	Microscopie électronique à balayage
TGA	Analyse thermogravimétrique
g	Gramme
s	Seconde
min	Minute

Introduction

La production du kombucha, boisson fermentée en plein essor dans le secteur agroalimentaire, repose sur l'utilisation d'une culture symbiotique de bactéries et de levures (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*, SCOBY), constituée d'un biofilm cellulosique. Bien que ce biofilm soit nécessaire à l'initiation de la fermentation, le procédé conduit à sa croissance et à la formation d'un excédent de matière cellulosique, souvent considéré comme un co-produit caractéristique du processus. Issu naturellement du processus de fermentation du thé, ce matériau constitue une source de cellulose à la fois peu coûteuse, renouvelable et à croissance rapide. Constitué d'un réseau dense de cellulose microbienne élaboré par un consortium symbiotique de bactéries et de levures, le SCOBY se caractérise par des propriétés physico-chimiques spécifiques, une structure fibreuse organisée et une biodégradabilité favorable à des démarches de valorisation dans une logique d'économie circulaire.

Valoriser ce co-produit représente un enjeu actuel pour le développement de procédés plus durables, en particulier dans l'industrie alimentaire, où les matrices d'origine naturelle et renouvelables peuvent offrir des alternatives innovantes aux additifs traditionnels. Une meilleure compréhension des caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques du SCOBY est donc essentielle pour envisager son utilisation dans de nouvelles applications.

Dans ce contexte, ce travail vise à optimiser les conditions de production du SCOBY au cours de la fermentation du kombucha, à caractériser le SCOBY obtenu, notamment au regard de ses propriétés technofonctionnelles, et à étudier de manière exploratoire son incorporation dans une matrice alimentaire modèle, en l'occurrence un sorbet, afin d'évaluer son influence sur les propriétés physico-chimiques et sensorielles du produit final.

Etat de l'art

I. Le kombucha : boisson fermentée fonctionnelle

1. Histoire, origine et diffusion

Depuis des millénaires, et dans la majorité des régions du monde, la fermentation est utilisée comme moyen naturel de conservation des aliments (Villarreal-Soto et al., 2018). Ce procédé, à la fois économique et respectueux de l'environnement, assure la sécurité microbiologique et la préservation des qualités nutritionnelles des produits fermentés (Marsh et al., 2014, Villarreal-Soto et al., 2018).

Cette technique ancestrale a donné naissance à une grande diversité de produits fermentés, allant des produits laitiers aux boissons à base de plantes (Marsh et al., 2014). Parmi ces boissons, le

kombucha se distingue par son procédé de fermentation particulier, fondé sur une symbiose entre bactéries et levures. Il s'agit d'une boisson fermentée qui a vu le jour dans le nord-est de la Chine, en Mandchourie, vers 220 avant J.-C. En 414 après J.-C., un médecin nommé Kombu a introduit cette boisson au Japon afin de soigner les troubles digestifs de l'empereur Inkyo (Jayabalan *et al.*, 2014 ; Coelho *et al.*, 2020). C'est de là que provient le nom « Kombucha », formé de « Kombu » (le nom du médecin) et « cha », signifiant « thé » en japonais (Jayabalan *et al.*, 2014 ; Coelho *et al.*, 2020).

Avec le développement des échanges commerciaux, la consommation de kombucha s'est progressivement étendue bien au-delà de ses frontières d'origine. D'abord prisée en Chine, en Corée et au Japon, cette boisson a gagné la Russie et l'Europe de l'Est, avant d'être introduite en Allemagne (Dutta & Paul *et al.*, 2019 ; Jayabalan *et al.*, 2014). À partir des années 1960, le kombucha s'impose peu à peu en Europe, porté par l'intérêt croissant pour les produits artisanaux et naturels (De Miranda *et al.*, 2022). Des rapports récents indiquent que le kombucha figure parmi les boissons fonctionnelles à la croissance la plus rapide à l'échelle mondiale (Li *et al.*, 2022 ; Kim *et al.*, 2020). L'augmentation de consommation de cette boisson fonctionnelle en Europe s'accompagne également une quantité importante de SCOBY, co-produit du kombucha d'où l'intérêt de l'étudier et le valoriser.

2. Principe général de fermentation de Kombucha

La fabrication du kombucha repose sur la fermentation d'un thé sucré, le plus souvent issu de thé noir, vert ou oolong (Martinez Leal *et al.*, 2018). Cette fermentation est rendue possible grâce à un biofilm symbiotique regroupant levures et bactéries, connu sous le nom de SCOBY (Dutta *et al.*, 2019, Suffys *et al.*, 2023). Cette structure, parfois appelée « champignon de thé », se caractérise par une matrice riche en cellulose bactérienne, lui conférant une texture gélatineuse et une morphologie spécifique (Dutta *et al.*, 2019). Le jus de repiquage (kombucha fermenté précédemment) est généralement ajouté à hauteur de 100 à 150 millilitre par litre de kombucha (Chakravorty *et al.*, 2016). Cet ajout permet avant tout d'ensemencer la fermentation mais contribue également à l'abaisser du pH initial, ce qui inhibe la croissance de microorganismes pathogènes, puisqu'ils ne peuvent se développer sous un pH inférieur à 4,7 (Laureys *et al.*, 2020). La fermentation dure généralement de 7 à 12 jours à température allant de 20°C et 25°C (Chakravorty *et al.*, 2016). Le récipient est habituellement couvert d'un tissu perméable à l'air afin de permettre l'apport d'oxygène nécessaire à la fermentation du kombucha, tout en limitant les risques de contamination (Jayabalan *et al.*, 2014 ; Laureys *et al.*, 2020).

Au fil de la fermentation, le thé acquiert progressivement une odeur caractéristique et des bulles de gaz commencent à apparaître en raison de la formation d'acide carbonique (Jayabalan *et al.*, 2014). Après 10 à 14 jours, la nouvelle pellicule de SCOBY se développe à la surface, formant

un disque couvrant l'ensemble du récipient (Jayabalan et al., 2014). Cette pellicule peut être séparée du milieu fermenté et conservée dans un faible volume de kombucha acide afin d'être réutilisée comme inoculum lors de fermentations ultérieures (Jayabalan et al., 2014).

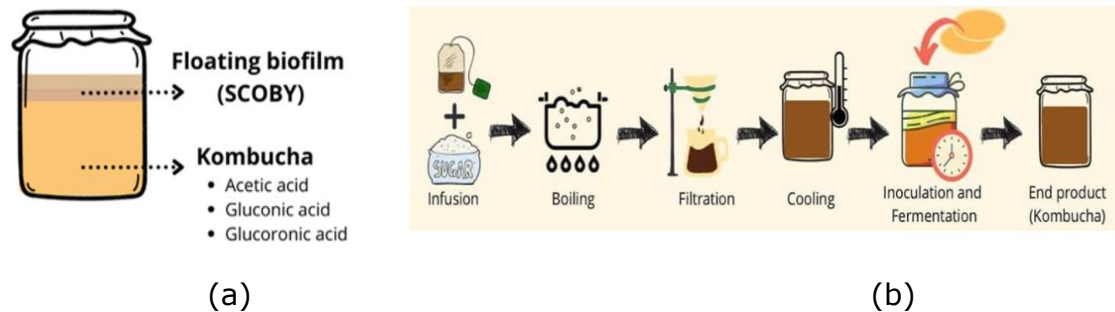


Figure 1. (a) Composants majeurs du kombucha (b) schéma de production du kombucha (Zailani et al., 2022)

Plusieurs facteurs tels que la nature du thé, la durée de fermentation, la température, le pH et la quantité de substrats peuvent influencer la fermentation du kombucha et par conséquent le SCOBY produit. La durée et la température de fermentation influencent fortement les caractéristiques du kombucha (De Miranda et al., 2022 ; Nyhan et al., 2022). Une fermentation de 7 à 14 jours permet d'atteindre un maximum d'antioxydants et de polyphénols, tandis qu'une fermentation plus longue peut accroître l'acidité et la cytotoxicité (Nyhan et al., 2022). La composition microbienne évolue au fil du temps, avec un lien direct entre la diversité des levures et bactéries et les propriétés biochimiques de la boisson (Villarreal-Soto et al., 2018 ; Nyhan et al., 2022). La température influence fortement la croissance et l'activité des levures et bactéries, la diversité microbienne, ainsi que la production d'acides organiques et de polyphénols (Nyhan et al., 2022). Des températures plus élevées d'incubation permettent à certains micro-organismes de se développer et augmentent les composés bioactifs, mais un excès peut oxyder les polyphénols et altérer la qualité de la boisson (Nyhan et al., 2022). Par ailleurs, Il a été démontré qu'une fermentation à 25 °C pendant 10 jours permet d'obtenir un produit microbiologiquement stable présentant des qualités sensorielles satisfaisantes (Neffe-Skocińska et al., 2017). L'ensemble de ces paramètres souligne l'importance d'un contrôle précis des conditions de fermentation afin de maîtriser la formation et les caractéristiques du SCOBY.

3. Composition nutritionnelle et bénéfiques du Kombucha pour la santé

Le kombucha doit sa popularité croissante à ses bénéfices pour la santé. Une part importante des composés bioactifs du kombucha provient des polyphénols du thé d'origine, mais également de l'interaction entre les levures et les bactéries au cours de la fermentation (Martinez Leal et al., 2018). Cette symbiose microbienne transforme les substrats en divers métabolites bénéfiques, tels que des acides organiques, vitamines, polyphénols, éthanol, acides aminés, enzymes et

minéraux, conférant à la kombucha des propriétés anti-inflammatoires (Martinez Leal et al., 2018 ; Kitwetcharoen et al., 2023). Par ailleurs, le kombucha constitue une source d'antioxydants, présente des effets antimicrobiens et anti-âge, et pourrait renforcer le système immunitaire tout en contribuant à la prévention de maladies métaboliques et cardiovasculaires, notamment le diabète et l'hypertension (Jayabalan et al., 2014 ; Martinez Leal et al., 2018).

II Le SCOBY : structure, composition microbienne et biochimique

1. Composition microbiologique du SCOBY

Le SCOBY se développe à l'interface air-liquide au cours de la fermentation du kombucha et se présente sous la forme d'une matrice cellulosique tridimensionnelle. Cette structure s'épaissit progressivement avec le temps, résultant de l'activité métabolique d'un consortium microbien symbiotique (Mousavi et al., 2020). La structure du SCOBY est associée à la prédominance de bactéries acétiques majoritairement affiliées au genre *Komagataeibacter*, anciennement classées parmi les genres *Acetobacter* et *Gluconacetobacter* (Teoh et al., 2004 ; Jayabalan et al., 2014 ; Marsh et al., 2014 ; Harrison et al., 2021). La communauté bactérienne du SCOBY est ainsi généralement caractérisée par la présence d'un nombre restreint de taxons dominants, accompagnés de microorganismes minoritaires détectés à de faibles abondances relatives , incluant notamment des bactéries lactiques telles que *Lactobacillus* spp. et *Pediococcus* spp. (Teoh et al., 2004 ; Marsh et al., 2014 ; Jayabalan et al., 2014).

Concernant la fraction de levure, le SCOBY abrite une communauté composée de levures fermentaires et oxydatives, dominée par des espèces appartenant aux genres *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Torulaspora* et *Zygosaccharomyces*, auxquelles s'ajoutent des levures telles que *Brettanomyces*, *Candida* et *Pichia* (Teoh et al., 2004 ; Dutta et al., 2006 ; Chakravorty et al., 2016). Cette population se caractérise par la prédominance d'un nombre restreint d'espèces, tandis que certains taxons secondaires, présents à plus faible abondance, participent à la diversité et à la stabilité du consortium microbien.

La figure 2 présente l'abondance relative des principaux groupes de bactéries et de levures identifiés au sein du SCOBY associé au kombucha.

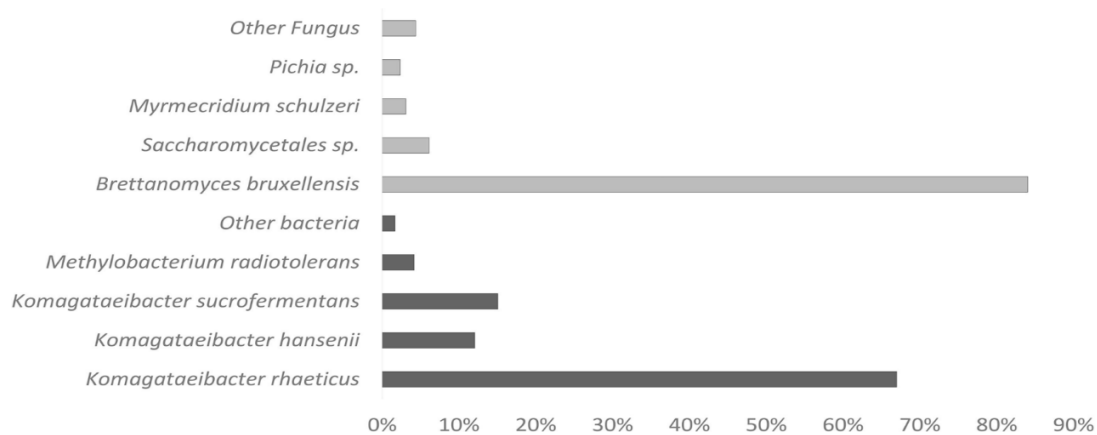


Figure 2. Abondance relative des espèces fongiques (barres grises) et bactériennes (barres noires) identifiées au sein du SCOBY (Dartora et al., 2023)

2. Rôle des levures, des bactéries acétiques et des bactéries lactiques dans le SCOBY

a. Activités métaboliques des levures

Au début de la fermentation, les levures hydrolysent le saccharose en glucose et fructose grâce à l'action de l'invertase, une enzyme extracellulaire, permettant la mise à disposition de sucres fermentescibles dans le milieu (Sievers et al., 1995 ; Zailani et al., 2022). Le glucose ainsi libéré est ensuite métabolisé via la voie glycolytique et, en conditions anaérobies, conduit à la production d'éthanol. (Sievers et al., 1995 ; Zailani et al., 2022). Ces conditions étant favorisées par l'organisation du SCOBY qui maintient les bactéries acétiques à la surface du milieu tout en confinant les levures dans la partie inférieure du biofilm, où la disponibilité en oxygène est limitée (Coelho et al., 2020). Les levures préfèrent le glucose comme substrat lors de la production d'éthanol (Dufresne et al., 2000).

b. Activités métaboliques des bactéries

Les bactéries acétiques sont des bactéries aérobies à Gram négatif, de forme bacillaire, appartenant à la famille des *Acetobacteraceae*. (Gomes et al., 2018). Contrairement aux levures, ces bactéries présentent une forte dépendance à l'oxygène, indispensable à leur croissance et à leur activité métabolique (Villarreal-Soto et al., 2018). Elles sont capables d'utiliser les sucres simples comme substrats, convertissant ainsi le glucose en acide gluconique et le fructose en acide acétique (Laavanya et al., 2021). L'acide acétique formé favorise à son tour l'activité métabolique des levures, en stimulant la production d'éthanol, lequel est ensuite oxydé en acétaldéhyde par les bactéries acétiques (Laavanya et al., 2021). Les bactéries bénéficient également de la présence de vitamines et de nutriments libérés lors de la lyse des cellules des levures, ce qui contribue au maintien de leur activité métabolique au sein du consortium microbien (Chakravorty et al., 2016). Au cours de la fermentation, la composition bactérienne évolue avec

le temps, avec une augmentation progressive des bactéries acétiques qui deviennent dominantes (De Filippis et al., 2018). Cette évolution est corrélée à une production importante d'acides organiques et à une acidification du milieu (De Filippis et al., 2018). Cela confirme le rôle important du temps de fermentation comme paramètre qui influence le développement du SCOBY. En outre, certaines bactéries acétiques, en particulier celles du genre *Komagataeibacter*, sont reconnues pour leur capacité à synthétiser de la cellulose microbienne extracellulaire, constituant la matrice structurale du SCOBY et jouant un rôle clé dans la formation et la stabilité du biofilm (Teoh et al., 2004 ; Jayabalan et al., 2014).

La figure 3 résume les interactions métaboliques entre levures et bactéries acétiques dans le SCOBY, montrant la transformation des sucres en éthanol par les levures, son oxydation en acide acétique par les bactéries, et la biosynthèse de la cellulose microbienne à partir du glucose.

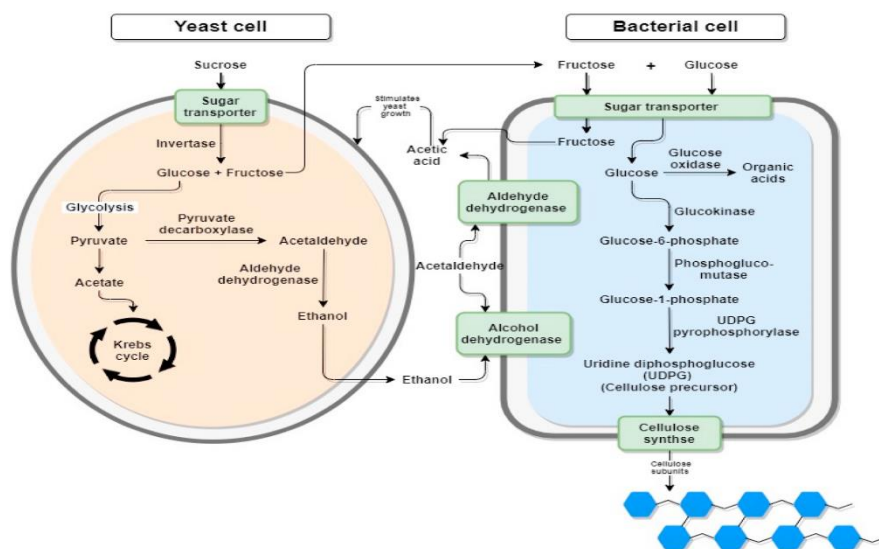


Figure 3. Illustration des processus métaboliques associés à l'utilisation des substrats par le SCOBY (Laavanya et al., 2021).

III. La cellulose microbienne issue du SCOBY : propriétés et procédés de mise en œuvre

1. Généralités sur la cellulose

La cellulose constitue le polymère glucidique le plus abondant, le plus accessible et le moins coûteux au monde (Esa et al., 2014). C'est un polysaccharide structural majeur, composant fondamental de la paroi cellulaire des végétaux (Mishra et al., 2022 ; Choi et al., 2022), dont la biosynthèse n'est pas limitée aux plantes, puisqu'elle est également assurée par certaines bactéries, algues et champignons (Klemm et al., 2004 ; Wang et al., 2019). La structure moléculaire de la cellulose est constituée d'unités de d-glucopyranose en conformation chaise,

considérée comme la conformation la plus stable (Heinze, 2016). Ces unités sont reliées par des liaisons β -1,4, ce qui provoque une rotation de 180° de la chaîne (Heinze, 2016). La cellobiose est l'unité répétitive et chaque unité comporte trois groupes hydroxyle réactifs dont un primaire et deux secondaires (Heinze, 2016).

2. Différences entre cellulose végétale et cellulose bactérienne

L'origine de la cellulose influence fortement ses propriétés d'où l'intérêt de les comparer. La cellulose bactérienne présente la même formule moléculaire $(C_6H_{10}O_5)_n$ que la cellulose d'origine végétale ; néanmoins, ces deux formes diffèrent par leurs propriétés physiques et chimiques (Shoda et al., 2005). La cellulose d'origine végétale est souvent associée à des quantités importantes de lignine et d'hémicelluloses, cela nécessite des traitements chimiques intensifs pour atteindre une pureté maximale (Choi et al., 2022 ; Mishra et al., 2022). En comparaison, la cellulose bactérienne se distingue par sa pureté intrinsèque, ainsi que par un degré de polymérisation et un indice de cristallinité généralement plus élevés (Shoda et al., 2005 ; Huang et al., 2014), auxquels s'ajoutent une résistance mécanique élevée, une excellente capacité de rétention d'eau, ainsi qu'une biocompatibilité et une biodégradabilité marquées (Velásquez-Riaño et al., 2017). De plus, la cellulose bactérienne présente également plusieurs avantages liés à son mode de production. En effet, sa synthèse par fermentation microbienne ne dépend pas de contraintes climatiques ou saisonnières, et permet un meilleur contrôle des conditions de culture, des rendements et des temps de production (Shi et al., 2014). De plus, la possibilité de sélectionner ou de modifier les souches productrices aide à obtenir de celluloses bactériennes aux propriétés ciblées (Shi et al., 2014). Enfin, la production de cellulose bactérienne peut s'appuyer sur l'utilisation de substrats alternatifs, tels que des coproduits ou des déchets agro-industriels, notamment le SCOBY du kombucha, renforçant l'intérêt économique et environnemental de cette approche (Shi et al., 2014). Ainsi, ces différences montrent que la cellulose bactérienne est un matériau attractif pour des applications nécessitant une grande pureté.

3. Biosynthèse de la cellulose microbienne par les bactéries acétiques

Comme mentionné précédemment, les bactéries acétiques sont responsables de la formation du biofilm cellulosique caractéristique du SCOBY (Sievers et al., 1995 ; Teoh et al., 2004 ; Jayabalan et al., 2014) . Elles produisent principalement deux formes de cellulose, désignées cellulose I et cellulose II. La cellulose I correspond à un polymère cristallin organisé sous forme de rubans composés de faisceaux de microfibrilles, tandis que la cellulose II est une forme amorphe, thermodynamiquement plus stable que la cellulose I.

Cette cellulose est produite de manière extracellulaire à partir de substrats carbonés disponibles dans le milieu de fermentation comme le glucose, le saccharose ou encore l'éthanol (Villarreal-Soto et al., 2018). La synthèse de la cellulose repose sur des étapes enzymatiques successives

conduisant à l'assemblage de chaînes de β -1→4-glucanes formant un réseau non ramifié (Laavanya et al., 2021).

Au cours des premières phases du processus fermentaire, les bactéries acétiques impliquées dans la synthèse de cellulose entrent dans une phase de prolifération favorisée par la disponibilité en oxygène dissous dans le milieu (Villarreal-Soto et al., 2018). Bien que la biosynthèse de cellulose puisse être initiée dans la phase liquide, la production la plus active est observée au niveau de l'interface air-liquide, où les conditions permettent de soutenir un métabolisme bactérien élevé (Villarreal-Soto et al., 2018). La cellulose produite dans cette zone s'organise progressivement en dépôts successifs, conduisant à l'établissement d'une structure continue à la surface du milieu fermenté (Villarreal-Soto et al., 2018).

Cette pellicule de SCOBY nouvellement formée contribue à maintenir un microenvironnement favorable aux bactéries colonisatrices en assurant une concentration élevée en oxygène à proximité de la surface (Chawla et al., 2009). Par ailleurs, cette structure agit comme une barrière protectrice, limitant l'exposition des microorganismes au dessèchement et à l'action de composés inhibiteurs naturellement présents dans le milieu (Chawla et al., 2009).

À mesure que la fermentation progresse, l'épaississement du biofilm résulte de l'ajout continu de nouvelles couches de cellulose à la surface de la matrice existante, aboutissant à une organisation tridimensionnelle partiellement immergée dans le milieu de culture (Villarreal-Soto et al., 2018). La stabilité mécanique de cette structure repose sur l'établissement d'un réseau dense d'interactions inter-chaînes, incluant notamment des liaisons hydrogène et des interactions de type C-H entre les polymères cellulosiques (Villarreal-Soto et al., 2018). Toutefois, l'augmentation de l'épaisseur de la pellicule entraîne une limitation progressive de la diffusion de l'oxygène vers les couches internes, conduisant à l'emprisonnement des bactéries situées en profondeur et à une réduction de leur activité métabolique (Villarreal-Soto et al., 2018). Ainsi, cette réduction de l'activité métabolique pourrait se traduire par une limitation du rendement de SCOBY lors des fermentations prolongées.

Par ailleurs, certains composés naturellement présents dans le thé, tels que la caféine, la théophylline et la théobromine, semblent contribuer à la favorisation de la production de cellulose bactérienne en stimulant l'activité des bactéries acétiques (Laavanya et al., 2021).

4. Purification de la cellulose microbienne issue du SCOBY en vue d'applications alimentaires

À l'issue de la fermentation, le SCOBY récupéré contient encore des résidus du milieu de culture et des cellules de bactéries et de levures (Chawla et al., 2009). Il est également imprégné de divers produits métaboliques issus du processus fermentaire, incluant notamment des acides organiques, des sucres, des vitamines, des acides aminés, des polyphénols et des lipides (Laavanya et al., 2021). La purification des pellicules de cellulose constitue donc une étape

indispensable afin d'éliminer la biomasse microbienne et les résidus du milieu de culture, et d'obtenir une cellulose bactérienne purifiée (Chawla et al., 2009). Une fois purifiée, la cellulose bactérienne peut être exploitée pour différentes applications, en raison de ses caractéristiques intéressantes telles que sa porosité, sa perméabilité aux gaz et à l'eau, sa capacité d'absorption de l'eau et sa résistance mécanique (Daus et al., 2025).

Plusieurs méthodes de purification de la cellulose microbienne ont été rapportées dans la littérature. De manière générale, trois grandes approches peuvent être distinguées pour le traitement des matériaux cellulosiques : les traitements alcalins, les traitements acides et l'utilisation de solvants spécifiques, tels que les liquides ioniques, les solvants eutectiques profonds ou encore les fluides supercritiques (Dima et al., 2017). Toutefois, dans le cas de la cellulose issue du SCOBY, les traitements alcalins restent les plus largement employés (Amarasekara et al., 2020 ; Daus et al., 2025).

Les solutions alcalines sont en effet largement reconnues pour leur capacité à éliminer les impuretés d'origine protéique présentes dans les SCOBYs, principalement par clivage des liaisons peptidiques induit par l'hydroxyde de sodium en milieu aqueux (Daus et al., 2025).

En plus de l'élimination de la biomasse microbienne et des composés protéiques, les traitements alcalins sont également utilisés pour retirer les composés colorés présents dans les membranes de kombucha, tels que les mélanoidines, responsables de la coloration brunâtre observée avant purification (Dima et al., 2017). Les mélanoidines correspondent à un ensemble hétérogène de composés issus de réactions de Maillard entre sucres réducteurs et acides aminés, caractérisés par une charge négative et une large distribution de masses moléculaires (Dima et al., 2017). Bien que ces composés puissent présenter diverses activités biologiques, leur présence n'est pas souhaitée dans le cadre de la valorisation de la cellulose microbienne comme matériau fonctionnel (Dima et al., 2017).

Afin d'améliorer la pureté et l'aspect visuel de la cellulose purifiée, les traitements alcalins sont combinés à des étapes de blanchiment ou de traitement oxydant (Amarasekara et al., 2020). À cet égard, une étude comparative de quatre différentes méthodes de purification appliquées à des pellicules de SCOBY a montré que l'utilisation de deux lavages successifs à l'hydroxyde de sodium à concentration de 1M à 90 °C, suivis d'un blanchiment à l'hypochlorite de sodium (1,5 %) pendant 2 h, permettait d'obtenir la cellulose présentant le degré de blancheur le plus élevé, avec une valeur de blancheur au leucomètre de $81,4 \pm 4,8$ (Amarasekara et al., 2020).

Dans un contexte d'application alimentaire, plusieurs études ont mis en œuvre des protocoles de purification reposant sur des traitements compatibles avec des matrices alimentaires et des procédés de transformation courants. Par exemple, Li et al., 2022 ont décrit une approche combinant des étapes de lavage à l'eau, un traitement oxydant modéré au peroxyde d'hydrogène, un ajustement alcalin du pH et l'application d'ultrasons, afin de purifier la cellulose bactérienne

issue du SCOBY destinée à une incorporation dans des formulations alimentaires. Cette stratégie vise à assurer une élimination efficace des résidus microbiens et du milieu de culture tout en limitant l'utilisation de réactifs agressifs et en préservant la fonctionnalité du matériau (Li et al., 2022).

De manière similaire, Guo et al. ont utilisé un protocole de purification reposant sur un traitement alcalin modéré à l'hydroxyde de sodium, appliqué à température élevée pendant un temps limité, suivi d'étapes de lavage à l'eau et de réduction mécanique de la taille des particules. Cette méthode a été employée pour obtenir une cellulose bactérienne purifiée destinée à la formulation de gels complexes utilisés comme substituts de matières grasses dans un modèle de crème glacée, illustrant la faisabilité de procédés simples et reproductibles pour des applications alimentaires (Guo et al., 2018).

Ces travaux montrent que, dans une perspective de valorisation alimentaire, les protocoles de purification privilégient généralement des traitements alcalins et oxydants à concentrations modérées, associés à des étapes de lavage et de désintégration mécanique, permettant d'obtenir une cellulose bactérienne purifiée tout en répondant aux exigences de sécurité, de limitation des résidus chimiques et de transposabilité des procédés.

5. Caractérisation de la pellicule de SCOBY

La caractérisation de la pellicule de SCOBY constitue une étape essentielle pour évaluer l'efficacité des procédés de purification ainsi que l'impact des conditions de fermentation sur les propriétés de la cellulose bactérienne obtenue. Elle permet également de comparer la cellulose issue du SCOBY à d'autres formes de cellulose microbienne décrites dans la littérature. Plusieurs travaux ont montré que les méthodes de purification, en particulier celles combinant des traitements alcalins à température élevée et des étapes de blanchiment, influencent fortement la pureté et l'homogénéité de la cellulose microbienne. Ces protocoles ont été identifiés comme particulièrement efficaces sur la base de résultats concordants obtenus par spectroscopie FTIR, analyse thermogravimétrique, microscopie électronique et mesures de blancheur, mettant en évidence une élimination accrue des impuretés et une amélioration des propriétés du matériau (Amarasekara et al., 2020 ; Daus et al., 2025).

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier est largement utilisée pour confirmer la nature cellulosique du matériau obtenu après purification, vérifier l'absence de modifications chimiques induites par les traitements (Amarasekara et al., 2020), et apporter des informations sur l'organisation des liaisons hydrogène, directement impliquées dans les propriétés fonctionnelles de la cellulose microbienne cellulose (Chaussée et al., 2025). Le Tableau 1 présente la correspondance entre les principales longueurs d'onde FTIR et les groupements fonctionnels associés. Les bandes caractéristiques associées aux groupements hydroxyles, aux liaisons C-H et

aux vibrations C–O et C–O–C permettent de vérifier l’intégrité de la structure polysaccharidique de la cellulose bactérienne (Chaussée et al., 2025). En outre, certaines bandes situées dans la région des déformations des groupements CH₂ ont été corrélées au degré d’organisation et à la cristallinité du matériau, fournissant des indications sur l’influence des conditions de traitement sur la structure de la cellulose (Chaussée et al., 2025).

Tableau 1 Correspondance entre les longueurs d’onde FTIR et les groupements fonctionnels de la cellulose microbienne (Chaussée et al., 2025)

Longueur d’ondes (cm ⁻¹)	Groupe ment fonctionnel
3389	O–H
2906	C–H
1641	O–H
1384	C–H
1200–1000	C–O–C et C–O
826	liens β 1–4

Les propriétés thermiques de la cellulose microbienne sont généralement évaluées par analyse thermogravimétrique, qui permet d’apprécier sa stabilité et son comportement à la dégradation (Amarasekara et al. 2020). Une décomposition thermique de la cellulose bactérienne est généralement observée à des températures comprises entre environ 270 et 300 °C, avec des variations liées au degré de purification et à la présence de composés résiduels (Chaussée et al, 2025). Une corrélation entre la pureté de la cellulose et la quantité de résidu carboné à haute température a également été mise en évidence, soulignant l’intérêt de cette technique pour évaluer l’efficacité des protocoles de purification (Amarasekara et al., 2020 ; Chaussée et al, 2025). En effet, une présence plus faible de résidus témoigne d’une meilleure purification (Amarasekara et al., 2020)

La microscopie électronique à balayage est couramment employée pour examiner la morphologie et l’organisation du réseau nanofibrillaire de la cellulose microbienne (Amarasekara et al., 2020 ; Daus et al., 2025).. La figure 4 représente les micrographies de pellicules de SCOBY purifiées à 23°C et 90°C, illustrant l’influence de la température de purification sur la structure du matériau. Le protocole de purification utilisé repose sur un traitement alcalin à l’hydroxyde de sodium (1 M), suivi d’une étape de blanchiment au peroxyde d’hydrogène à 1,5 % (Amarasekara et al., 2020).

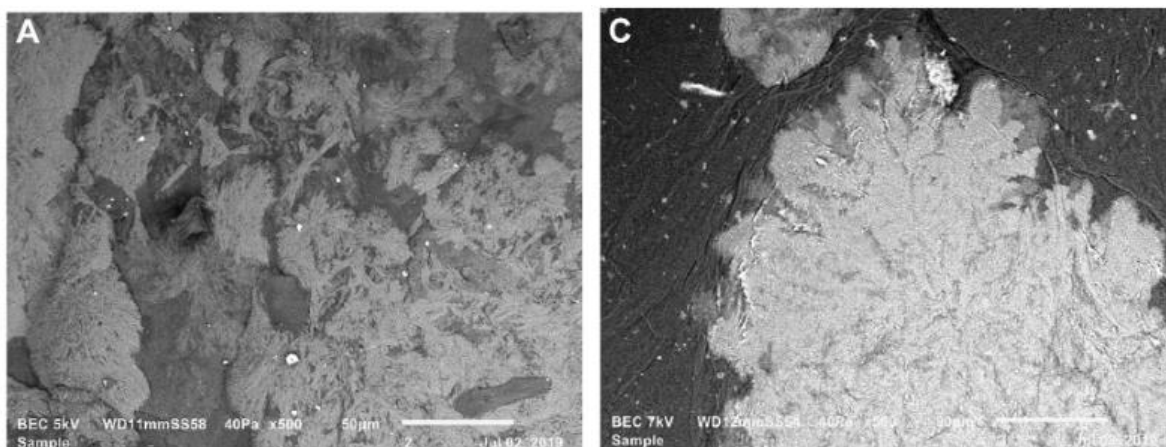


Figure 4. Micrographies de pellicules de SCOBY purifiées à 23°C (à gauche) et 90°C (à droite) (Amarasekara et al., 2020).

Les observations rapportées dans la littérature montrent que les celluloses purifiées présentent généralement un réseau fibrillaire dense et homogène, tandis que les pellicules de SCOBY non purifiées peuvent contenir des résidus microbiens et des dépôts inorganiques (Amarasekara et al., 2020 ; Daus et al., 2025). Ces analyses confirment l'efficacité des traitements de purification et mettent en évidence l'influence des conditions de traitement sur la compacité et l'homogénéité du matériau (Amarasekara et al., 2020 ; Daus et al., 2025).

Enfin, la forte capacité de rétention d'eau de la cellulose microbienne, liée à sa morphologie nanofibrillaire et à sa teneur élevée en groupes hydroxyles, constitue une caractéristique importante des celluloses bactériennes (Daus et al., 2025). Les études montrent que la déshydratation de la cellulose entraîne une réduction de l'épaisseur et de la porosité du réseau, due à l'agrégation des fibres, ce qui impacte les propriétés de gonflement et d'absorption d'eau (Daus et al., 2025). Ces phénomènes soulignent l'importance des conditions de séchage et de modification structurale pour préserver les propriétés fonctionnelles de la cellulose bactérienne, en particulier dans une perspective d'application alimentaire (Daus et al., 2025).

IV. Valorisation du SCOBY dans l'alimentation

1. Applications de la cellulose bactérienne dans le domaine alimentaire

La cellulose bactérienne suscite un intérêt croissant dans le domaine alimentaire en raison de ses propriétés déjà détaillées précédemment, qui la distinguent des celluloses d'origine végétale. La figure 5 présente les différentes applications alimentaires de la cellulose bactérienne.



Figure 5. Applications alimentaires de la cellulose bactérienne (Shi et al., 2014)

Son usage alimentaire n'est pas récent, comme l'illustre la production du *nata de coco*, un dessert traditionnel obtenu par fermentation de substrats sucrés, largement consommé en Asie du Sud-Est (Ullah et al., 2016 ; Lin et al., 2023). Ce produit, apprécié pour sa texture lisse et sa neutralité sensorielle, constitue un exemple emblématique démontrant la comestibilité et l'acceptabilité de la cellulose bactérienne dans des matrices alimentaires (Ullah et al., 2016 ; Lin et al., 2023). Au-delà de cet usage à l'état brut, la littérature met en évidence le potentiel de la cellulose bactérienne comme ingrédient technofonctionnel, capable de remplir divers rôles dans des formulations alimentaires. Grâce à son réseau nanofibrillaire tridimensionnel et à sa forte capacité de rétention d'eau, elle peut agir comme agent épaississant, stabilisant, gélifiant ou agent de suspension, contribuant ainsi à l'amélioration de la rhéologie, de la texture et de la stabilité de différents produits (Lin et al., 2023 ; Ullah et al., 2016 ; Shi et al., 2014). Des applications ont été rapportées dans diverses matrices alimentaires, notamment les boissons, les produits carnés et les desserts glacés, où la cellulose bactérienne contribue à limiter la séparation de phases et à améliorer la stabilité structurale et la rétention d'eau, y compris après stockage ou traitement thermique (Shi et al., 2014 ; Lin et al., 2023). Par ailleurs, une étude a démontré que la cellulose bactérienne en association avec des isolats de protéines de soja peut agir comme substitut partiel de matières grasses dans des formulations à teneur lipidique réduite (Guo et al., 2018). En tant que fibre alimentaire, la cellulose bactérienne présente également des propriétés physiologiques d'intérêt, notamment une forte capacité de rétention d'eau et d'échange ionique, qui ont été associées à des effets potentiels sur la réduction du cholestérol et l'amélioration du profil nutritionnel de certains aliments (Ullah et al., 2016 ; Shi et al., 2014). Bien que des applications aient également été explorées dans des domaines connexes, tels que le conditionnement alimentaire, la littérature

souligne le potentiel de la cellulose bactérienne comme ingrédient fonctionnel destiné à améliorer la qualité, la stabilité et la texture des produits alimentaires transformés (Shi et al., 2014).

2. Rôle potentiel du SCOBY dans la structuration et la stabilité des sorbets

Les sorbets constituent des matrices alimentaires glacées caractérisées par une formulation simple, reposant principalement sur l'eau, les sucres et les fruits. Contrairement aux glaces, elles ne contiennent pas de protéines laitières et de matières grasses structurantes ce qui veut dire que leurs propriétés texturales et leur stabilité dépendent fortement de l'organisation de la phase aqueuse, de la fraction d'eau non gelée et des caractéristiques des cristaux de glace.

Les texturants utilisés dans les matrices glacées agissent principalement comme en augmentant la viscosité de la phase continue, en limitant la mobilité de l'eau et en réduisant la croissance et la recristallisation des cristaux de glace (Mehta et al., 2024). Ces mécanismes contribuent à ralentir la fonte, à améliorer la tenue structurale et à conférer une texture plus homogène au produit final (Mehta et al., 2024). Toutefois, l'efficacité de ces ingrédients dépend étroitement de leur nature, de leur morphologie et de leur mode d'incorporation, différentes fibres pouvant induire des mécanismes d'action distincts au sein de la matrice glacée (Costa et al., 2019).

La cellulose bactérienne, par sa structure, a une capacité élevée de rétention d'eau et une aptitude marquée à structurer la phase aqueuse, propriétés qui ont été associées à une limitation de la mobilité de l'eau non gelée et à un ralentissement de la cinétique de fonte dans des matrices glacées (Gelin et al., 2007 ; Sederavičiūtė et al., 2019 ; Guo et al., 2018).

Plusieurs études ont ainsi rapporté que l'incorporation de cellulose bactérienne dans des produits glacés peut conduire à une augmentation de la consistance et de la fermeté, ainsi qu'à une diminution de la vitesse de fonte, traduisant une structuration plus efficace du système (Guo et al., 2018 ; Mehta et al., 2024). Ces effets sont généralement attribués à la formation d'un réseau fibrillaire capable de piéger l'eau et de limiter les échanges entre les cristaux de glace et la phase non gelée (Shi et al., 2014 ; Guo et al., 2018 ; Lin et al., 2023). Néanmoins, la relation entre la concentration en cellulose bactérienne et les propriétés finales du produit n'est pas nécessairement linéaire, certaines études suggérant l'existence de concentrations seuils au-delà desquelles l'organisation du réseau devient moins optimale (Guo et al., 2018 ; Mehta et al., 2024). Au-delà des paramètres mécaniques mesurés à l'échelle macroscopique, la perception de la texture des produits glacés dépend fortement des mécanismes de fonte ainsi que des conditions de lubrification lors de la consommation (Wang et al., 2019). Des études récentes ont montré que la cinétique de fonte et les propriétés tribologiques sont étroitement corrélées à plusieurs attributs sensoriels, notamment la douceur perçue, la sensation de lissage en bouche et l'acceptabilité globale des produits glacés (Wang et al., 2019). Plus spécifiquement, une diminution de la mobilité de l'eau combinée à une amélioration des propriétés de lubrification a été associée à une

perception accrue de l'onctuosité et à une amélioration de la qualité sensorielle dans des glaces formulées avec des agents structurants (Mehta et al., 2024).

Matériel et méthode

I. Production de kombucha

Pour la préparation d'un litre de kombucha, 300 mL d'eau de distribution sont d'abord portés à ébullition. On y ajoute un mélange de thé vert Chun Mee Moon Palace et de thé noir English Breakfast (1 : 1) en concentration totale de 8 g/L (soit 4 g/L de chaque type de thé). L'infusion est maintenue pendant 10 minutes.

Après ce temps d'infusion, 60 g de saccharose est incorporée dans le liquide chaud afin d'assurer une dissolution complète. Ensuite, 600 mL d'eau froide sont ajoutés. L'infusion sucrée est ensuite laissée refroidir à température ambiante jusqu'à atteindre 30 °C. Une fois la température stabilisée, 10 g de SCOBY et 100 mL de jus de repiquage (JR), provenant d'un lot de kombucha fermenté dans les mêmes conditions, sont ajoutés. Le mélange est ensuite transféré dans un sac en silicone, puis la fermentation est conduite à 25 °C dans une chambre contrôlée. La figure 6 illustre la production de kombucha en sacs de silicone.

Différents paramètres expérimentaux ont été modifiés afin d'évaluer leur influence sur le processus de fermentation, notamment la quantité initiale de SCOBY par litre de kombucha (10g, 20g, 30g), la quantité initiale de jus de repiquage par litre de kombucha (100mL, 200mL) et la durée de fermentation (J7, J14, J21).



Figure 6. Production de kombucha en sacs de silicone suspendus, réalisée dans une chambre à température contrôlée (25 °C).

La même procédure expérimentale a été réalisée dans des conteneurs gastronormés en inox (GN 2/3, 354 × 325 × 40 mm). Les conteneurs ont été successivement recouverts d'un tissu, puis d'un couvercle en silicone, permettant le passage de l'oxygène.



Figure 7. Production de kombucha dans conteneurs gastronormés en inox avec couvercle en silicone réalisée dans une chambre à température contrôlée (25 °C).

À l'issue de la première fermentation, le SCOBY initial ainsi que le SCOBY nouvellement formé sont séparés du liquide de kombucha. Ils sont placés dans des sachets, scellés, mis sous vide, puis conservés à 4 °C.

Le jus de repiquage (JR) est récupéré et conservé à température ambiante en vue de son utilisation lors des fermentations suivantes de kombucha.

Une partie du SCOBY est utilisée pour les fermentations suivantes, tandis que l'autre est destinée aux analyses physicochimiques et sensorielles. La conservation à basse température ralentit fortement l'activité fermentaire.

II. Lavage et purification du SCOBY

Sur la base du protocole décrit par Amarasekara et al. (2020), la nouvelle pellicule de SCOBY formée à l'interface air-liquide est retirée du milieu de fermentation. Elle est rincée deux fois avec 500 mL d'eau distillée, puis séchée par tamponnement à l'aide de mouchoirs en papier.

Ensuite, la pellicule est immergée dans 50 mL d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 1 M, puis placée dans un bain thermostaté à 20 °C pendant 1 h. Après cela, elle est retirée de la solution alcaline, lavée avec de l'eau distillée (6 × 500 mL), séchée par tamponnement, puis pesée.

Cette pellicule est ensuite trempée dans un second bain alcalin, placé dans un bain thermostaté à 20 °C pendant 1 h, puis lavée, séchée et pesée selon les mêmes modalités.

Après les traitements alcalins, la pellicule est transférée dans 50 mL d'une solution aqueuse de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) à 1,5 % (m/m) et maintenue dans un bain thermostaté à 20 °C pendant 2 h. Elle est ensuite retirée du bain oxydant, lavée avec de l'eau distillée (6 × 500 mL), séchée par tamponnement et pesée.

La même procédure est répétée à 90°C, en conservant les mêmes concentrations et durées de traitement.

Après purification, les pellicules sont traitées selon deux modalités distinctes. Certaines pellicules sont conditionnées à l'état frais, mises sous vide et conservées à 4 °C. Les autres pellicules sont soumises à un séchage en étuve à 50 °C pendant 20 h, puis conservées à température ambiante jusqu'à leur utilisation ultérieure. Afin d'évaluer l'efficacité du traitement de purification, deux facteurs sont calculés.

Le facteur d'évolution de masse humide a été calculé selon la formule suivante:

$$F_{\text{humide}} = m_{\text{humide finale}} / m_{\text{humide inoculum}}$$

Où $m_{\text{humide finale}}$ correspond à la masse de SCOBY mesuré après purification et $m_{\text{humide inoculum}}$ à la masse de SCOBY utilisée pour l'inoculation (soit 10g).

La fraction massique résiduelle a été calculée selon la formule suivante:

$$F_{\text{résiduelle}} = m_{\text{résiduelle après étuvage}} / m_{\text{humide avant purification et étuvage}}$$

Où $m_{\text{résiduelle après étuvage}}$ correspond à la masse après purification et étuvage et $m_{\text{humide avant purification et étuvage}}$ correspond à la masse avant purification et étuvage.

III. Caractérisation du SCOBY

Les SCOBY sont d'abord congelés à -20 °C pendant au moins 24h, afin d'assurer une solidification complète de la matrice. Les échantillons congelés sont ensuite transférés dans un lyophilisateur pour une étape de séchage par sublimation. La lyophilisation est réalisée à une température de plateau inférieure à -40 °C, sous pression réduite, jusqu'à obtention d'un échantillon totalement sec (48 h).

À l'issue du procédé, les SCOBY lyophilisés sont récupérés et conservés dans des conditions sèches, à température ambiante, jusqu'à leur utilisation pour les analyses.

1. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

Les analyses FTIR sont réalisées sur des SCOBY prélevés aux jours J7, J14 et J21, après purification à 20 °C et à 90 °C, respectivement. Les spectres sont acquis en mode transmission à l'aide d'un spectromètre Bruker Vertex 70 équipé d'un module HTS-XT, dans la gamme 4000-400 cm^{-1} , avec une résolution de 2 cm^{-1} et 32 scans par échantillon. La calibration de l'appareil est effectuée conformément aux recommandations du fabricant.

2. Capacité d'absorption d'eau du SCOBY

La capacité de d'absorption d'eau est déterminée sur des SCOBY lyophilisés, prélevés aux jours J7, J14 et J21, après purification à 20 °C et à 90 °C. Une masse de 0,04 g d'échantillon est pesée puis immergée dans 15 mL d'eau distillée à température ambiante. Après 24 h d'immersion, les échantillons sont retirés, égouttés afin d'éliminer l'excès d'eau de surface, puis pesés à nouveau. La capacité d'absorption d'eau est calculée à partir du rapport entre la masse après immersion et la masse initiale sèche.

La capacité d'absorption d'eau est calculée à partir du gain de masse relatif, selon le rapport

$$(m_{\text{après immersion}} - m_{\text{initiale sèche}}) / m_{\text{initiale sèche}}$$

3. Thermogravimétrie

Les analyses thermogravimétriques sont réalisées à l'aide d'un analyseur thermogravimétrique TGA/DSC 2 STARe System. Les mesures sont effectuées sur des échantillons de SCOBY récoltés après 14 jours de fermentation, après purification à 20 °C et à 90 °C, ainsi que sur de la cellulose microcristalline (MCC), d'origine végétale, utilisée comme cellulose de référence.

Les échantillons sont placés dans des creusets adaptés, puis soumis à un programme de chauffage contrôlé. La variation de masse en fonction de la température est enregistrée afin d'évaluer la stabilité thermique des différents échantillons.

4. Microscopie électronique à balayage

Les analyses en microscopie électronique à balayage sont réalisées sur des échantillons de SCOBY purifiés à 90 °C, récoltés après 14 jours de fermentation. Elles sont réalisées à l'aide d'un microscope Hitachi SU8020 (100 V–30 kV) de la société Hitachi (Tokyo, Japon). Tous les échantillons ont été métallisés par pulvérisation cathodique d'or afin d'éviter les effets de charge lors du balayage par le faisceau d'électrons.

5. Analyses microbiologiques

Les analyses microbiologiques sont réalisées sur des échantillons de SCOBY frais et lyophilisés, prélevés après 7, 14 et 21 jours de fermentation, puis purifiés à 20 °C et à 90 °C. Un échantillon frais non traité, prélevé après 21 jours de fermentation, est également analysé.

Pour les échantillons lyophilisés, une surface d'environ 1 cm² est prélevée et mise en suspension dans 1 mL d'eau stérile. Les échantillons frais sont préparés selon la même procédure. Les suspensions sont homogénéisées avant analyse.

Un volume de 50 µL de chaque suspension est ensemencé par étalement sur un milieu Plate Count Agar (PCA). Les boîtes sont incubées à 30 °C dans un incubateur humidifié pendant 72 h.

Après incubation, les colonies formées sont comptées, et les résultats sont exprimés en unités formant colonie (UFC) par surface de SCOBY analysée.

IV. Formulation de sorbets

Le sorbet témoin est préparé selon une formulation classique, ajustée afin d'obtenir 1 L de sorbet fini. Une solution sucrée est préparée en dissolvant 200 g de sucre dans 300 mL d'eau, sous agitation et chauffage modéré jusqu'à dissolution complète. Après refroidissement à température ambiante, cette solution est incorporée à 500 g de purée de fraise (Boiron®, France).

Le mélange est homogénéisé puis placé au froid positif (4 °C) pendant 5 h afin d'assurer une pré-réfrigération complète de la préparation.

La transformation en sorbet est réalisée à l'aide d'une sorbetière Gelato Expert Magimix® (référence 11680), en utilisant le cycle automatique « Glace artisanale ». Avant l'introduction de la préparation, le mode froid est mis en marche pendant 5 minutes afin de pré-réfrigérer le bol. La préparation pré-réfrigérée est ensuite versée dans le bol et le cycle de turbinage est lancé. À l'issue du cycle automatique, la machine bascule automatiquement en mode conservation pendant 2 h. Le sorbet obtenu est ensuite conditionné et conservé à -20 °C jusqu'aux analyses physicochimiques et sensorielles.

La formulation témoin (Blanc) est préparée sans ajout d'ingrédient fonctionnel. Une deuxième formulation est obtenue par ajout de 5 g/L de stabilisant commercial Stabpur® (Louis François). Une troisième formulation est réalisée par incorporation de 0,5 g/L de cellulose microcristalline (MCC, BulkSupplements®, USA), correspondant à une quantité équivalente à 20 g/L de SCOBY sec.

Trois autres formulations sont préparées par ajout de SCOBY frais préalablement broyé, à des concentrations respectives de 20 g/L, 50 g/L et 100 g/L. L'incorporation des additifs, de la MCC ou du SCOBY est réalisée lors de l'étape de mélange de l'eau avec le sucre.

Le SCOBY incorporé est récupéré après 14 jours de fermentation du kombucha. Il est ensuite purifié thermiquement à 90 °C comme détaillé précédemment, refroidi, puis conservé frais sous vide jusqu'à son utilisation. Avant incorporation dans les formulations, le SCOBY est broyé afin d'assurer une dispersion homogène dans la matrice du sorbet.

V. Analyse des paramètres physicochimiques et sensoriels des sorbets

1. Evaluation de la texture

La texture des six formulations de sorbet est évaluée à l'aide d'un texturomètre IKA® T18D. Pour chaque formulation, 50 g de sorbet sont préalablement pesés, conditionnés dans des pots cylindriques en plastique d'un diamètre de 60 mm, puis congelés à -20 °C jusqu'à l'analyse.

Avant la mesure, les échantillons sont sortis du congélateur et laissés à température ambiante pendant 5 minutes. Les essais de texture sont réalisés directement dans les pots, selon un test de compression suivie d'une traction, à l'aide d'une sonde sphérique de 2cm de diamètre. Les paramètres instrumentaux sont fixés à une vitesse de déplacement de 60 mm/min et une profondeur de pénétration de 24 mm.

L'acquisition et le traitement des données sont assurés par le logiciel Nexygen Plus® version 4.1 associé à l'appareil. Parmi les paramètres calculés, la fermeté, la consistance, la cohésion et l'indice de viscosité sont retenus pour l'analyse des différentes formulations. L'évaluation de la texture est réalisée en triplicat.

2. Test de fonte

Le test de fonte du sorbet ainsi que le calcul du taux d'égouttement ont été réalisés selon la méthode décrite par Koxholt et al. (2001). Les échantillons de sorbet ont été conservés à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant 24 h avant analyse.

Les essais sont effectués dans une chambre à température contrôlée maintenue à $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, afin de limiter les variations environnementales. Les échantillons sont soumis directement au test de fonte dès leur sortie du congélateur, pour éviter tout biais lié à une élévation préalable de la température.

Une portion de sorbet de 40 g, prélevée au centre du contenant (diamètre approximatif de 8,0 cm), est placée sur un treillis métallique présentant une densité de 3 trous/cm. Un bécher de 250 mL est positionné sous le treillis et placé sur une balance afin de recueillir la fraction fondue et égouttée.

La masse de la phase égouttée est enregistrée toutes les 5 minutes pendant une durée totale de 35 minutes. Le test de fonte est réalisé en triplicat pour chaque formulation de sorbet.

3. Analyse sensorielle

Une évaluation sensorielle de type test d'appréciation hédonique a été réalisée afin d'évaluer l'acceptabilité des sorbets à la fraise par les consommateurs. L'analyse sensorielle s'est déroulée sur deux jours consécutifs.

Quatre formulations de sorbet ont été soumises à l'évaluation sensorielle : la formulation témoin (Blanc), la formulation contenant 5 g/L de stabilisant Stabpur®, la formulation enrichie en 0,5 g/L de cellulose microcristalline (MCC) et la formulation contenant 20 g/L de SCOBY frais. Le SCOBY utilisé est récupéré après 14 jours de fermentation du kombucha, puis purifié thermiquement à $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ avant son incorporation dans la matrice du sorbet.

Pour chaque échantillon, une quantité équivalente à environ deux cuillères à soupe de sorbet est servie dans des pots individuels d'environ 4 cm de hauteur. Les échantillons sont sortis du congélateur et laissés à température ambiante pendant 5 minutes avant dégustation, afin de limiter les biais liés à la température.

Chaque échantillon est codé à l'aide d'un numéro aléatoire à trois chiffres et présenté aux participants selon un ordre de dégustation aléatoire. Les sorbets sont servis de manière monadique (un échantillon à la fois) et accompagnés d'un verre d'eau pour le rinçage de la bouche entre les dégustations.

L'évaluation sensorielle est réalisée à l'aide d'une échelle hédonique à 5 points, portant sur les critères suivants : couleur, odeur, texture, goût, tenue et tartinabilité, où 1 = pas du tout d'accord et 5 = tout à fait d'accord. Dans un premier temps, les participants évaluent la texture à la cuillère, puis, après dégustation, ils évaluent la texture en bouche et le goût du sorbet. Le formulaire d'évaluation sensorielle est présenté en Annexe. Les réponses recueillies permettent de comparer l'acceptabilité sensorielle des différentes formulations.

VI Analyse statistique

Les analyses statistiques et les représentations graphiques ont été réalisées à l'aide du logiciel RStudio. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm écart-type, à partir d'au moins trois répétitions indépendantes par condition expérimentale.

Les effets des facteurs expérimentaux ont été évalués par analyses de variance (ANOVA), lorsque les conditions d'application des tests paramétriques étaient satisfaites. Les comparaisons des moyennes, notamment pour l'analyse sensorielle, ont été réalisées lorsque cela était pertinent. Le seuil de significativité a été fixé à $p < 0,05$.

Présentation de schéma expérimental

Le plan expérimental de cette étude a été conçu afin d'évaluer, de manière progressive et intégrée, les conditions de production du SCOBY, son traitement, sa caractérisation, puis sa valorisation dans une matrice alimentaire.

Dans un premier temps, les paramètres de production du SCOBY ont été optimisés en étudiant l'influence de plusieurs facteurs clés de la fermentation du kombucha. L'effet de la durée de fermentation a été évalué, de même que l'impact de la quantité initiale de substrat, incluant la masse initiale de SCOBY et la proportion de jus de repiquage utilisée comme inoculum. Par ailleurs, l'influence du type de contenant de fermentation a également été étudiée, afin d'évaluer son rôle potentiel sur la formation et la structuration du SCOBY. Ces différentes conditions ont permis d'identifier des tendances générales de croissance et de variabilité du SCOBY.

Dans un second temps, les SCOBY obtenus ont été soumis à des procédés de purification visant à évaluer l'impact des traitements thermiques sur leurs propriétés. Deux modalités de purification ont été comparées : une purification réalisée à 20 °C et une purification thermique à 90 °C. Ces traitements ont été appliqués afin de mettre en évidence l'impact de la température sur la charge microbienne et d'évaluer leur influence sur la structure et la fonctionnalité de la cellulose bactérienne obtenue.

Les SCOBY purifiés ont ensuite fait l'objet d'une caractérisation approfondie, incluant des analyses microbiologiques ainsi que des analyses physico-chimiques (FTIR, MEB, capacité d'absorption d'eau...), permettant de décrire les effets des paramètres de fermentation et des traitements de purification sur les propriétés et la structure du SCOBY.

Sur la base de ces résultats, un SCOBY sélectionné après 14 jours de fermentation et purifié à 90 °C a été retenu pour la phase de valorisation alimentaire. Ce SCOBY a été incorporé dans une matrice de sorbet à la fraise, à différentes concentrations, puis comparé à des formulations témoins contenant soit un stabilisant commercial (Stabpur), soit de la cellulose microcristalline (MCC) d'origine végétale, ainsi qu'à une formulation sans additif. L'objectif de cette étape était d'évaluer l'impact spécifique de l'incorporation du SCOBY sur les propriétés technologiques, physico-chimiques et sensorielles du produit final.

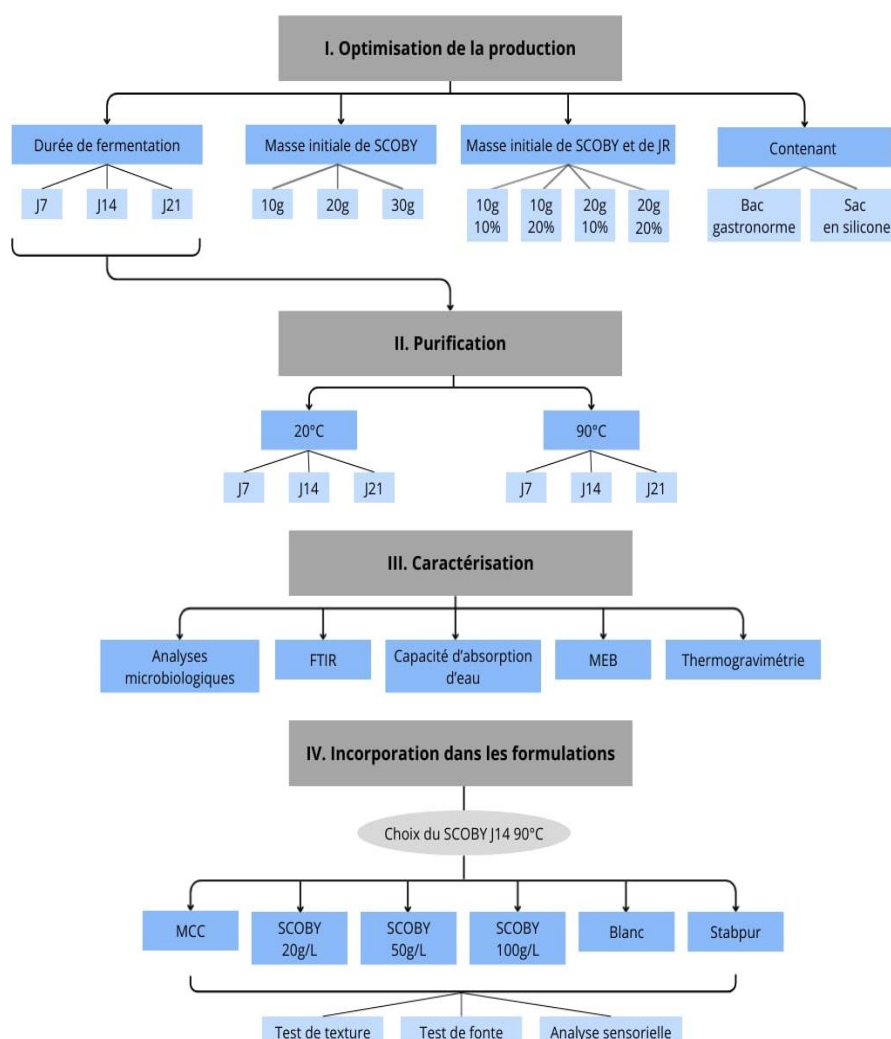


Figure 8. Schéma expérimental

Résultats et discussions

I. Optimisation de la production du SCOBY

Le but de cette première étape est de comprendre et d'évaluer l'impact de la variation de certains paramètres de la fermentation du kombucha sur la production du SCOBY. Les paramètres étudiés sont le temps de fermentation, la quantité initiale de JR et de SCOBY ainsi que le type de contenant. Cette étape permettra de sélectionner les conditions de fermentation optimales pour un rendement en SCOBY maximal.

1. Influence du temps de fermentation sur la formation du SCOBY

La figure 9 présente l'évolution de la masse humide de SCOBY en g/L produite en fonction de la durée de fermentation. Trois fermentations indépendantes (F1, F2 et F3) ont été conduites. Pour chacune d'elles, la production de SCOBY a été évaluée après 7, 14 et 21 jours de fermentation. À chaque temps de prélèvement, trois sacs ont été collectés et le SCOBY correspondant a été pesé, constituant trois répétitions expérimentales. Les données brutes sont présentées en annexe.

Les résultats de cet expérience montrent que la masse de SCOBY augmente de manière significative avec le temps de fermentation. Après 7 jours, la masse moyenne est de $38,3 \pm 4,5$ g, tandis qu'elle atteint $58,9 \pm 7,3$ g après 14 jours. Après 21 jours de fermentation, la masse moyenne s'élève à $130,1 \pm 33,9$ g, soit une masse environ 3 à 4 fois supérieure à celle mesurée à J7. Cette augmentation est statistiquement significative entre J7 et J14 ($p < 0,05$) et hautement significative entre J7 et J21 ainsi qu'entre J14 et J21 ($p < 0,001$). L'augmentation de la masse de SCOBY s'accompagne d'une augmentation de la variabilité au cours du temps, comme le montre l'accroissement de l'écart-type entre J7 et J21, traduisant une dispersion plus importante des valeurs mesurées à 21 jours de fermentation.

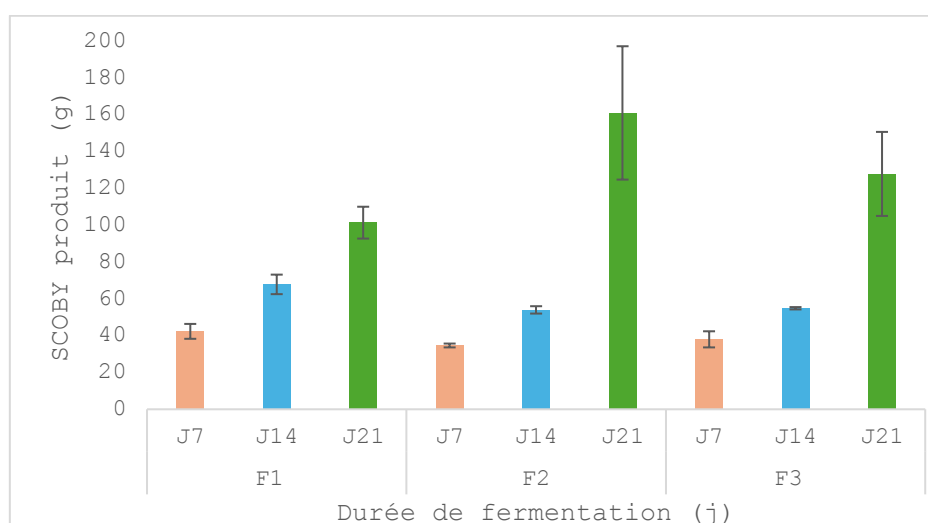


Figure 9 Evolution de la quantité de SCOBY (g) produite en fonction de la durée de fermentation (moyenne \pm écart-type ; $n=3$)

L'augmentation progressive de la masse humide du SCOBY observée entre 7, 14 et 21 jours confirme que la durée de fermentation constitue un facteur déterminant dans la production de cellulose bactérienne. Dans le dispositif expérimental utilisé dans cette étude, la fermentation a été réalisée dans des sacs en silicone, dont les propriétés diffèrent de celles des jarres en verre traditionnellement employées pour la production de kombucha. Ces sacs présentent une perméabilité à l'oxygène, favorisant les échanges gazeux avec le milieu extérieur. Cette disponibilité accrue en oxygène est susceptible de stimuler la production de cellulose bactérienne, celle-ci étant fortement dépendante de l'accès à l'oxygène, paramètre clé de l'activité métabolique des bactéries acétiques impliquées dans la formation du SCOBY (Ruka et al., 2012 ; Al-Kalifawi et al., 2014).

L'augmentation de la masse humide de SCOBY s'accompagne également d'une variabilité croissante des valeurs mesurées à mesure que la fermentation progresse. Cette dispersion marquée peut être expliquée par la dynamique de formation du biofilm et la nature hétérogène du SCOBY, décrit comme un consortium microbien structuré et évolutif (Chakravorty et al., 2016).

Dans l'ensemble, les tendances observées sont globalement similaires entre les répétitions expérimentales et les fermentations indépendantes, indiquant que la production de SCOBY suit une dynamique globalement reproductible dans les conditions étudiées. L'augmentation de la variabilité à des durées de fermentation prolongées (J21) suggère toutefois que cette dynamique devient progressivement plus sensible aux fluctuations de ce système biologique complexe.

La figure 10 illustre l'évolution de l'épaisseur du biofilm en fonction de la durée de fermentation. Cette figure met en évidence une augmentation progressive de l'épaisseur du SCOBY entre 7, 14 et 21 jours de fermentation.



Figure 10. Photographies de SCOBY récupéré après 7 jours, 14 jours et 21 jours de fermentation (de gauche à droite)

L'augmentation de l'épaisseur du SCOBY observée avec l'allongement de la durée de fermentation est en accord avec les données de la littérature, qui rapportent une augmentation concomitante de l'épaisseur et du rendement en cellulose bactérienne au cours du temps (Jayabalan et al., 2014 ; Laavanya et al., 2021 ; Wang et al., 2019). Après une phase initiale de croissance dans la phase liquide, la formation du biofilm se poursuit principalement par un épaissement progressif une fois que la surface du milieu est entièrement recouverte (Al-Kalifawi et al., 2014). Cette dynamique de croissance, fortement dépendante de la disponibilité en oxygène et de la surface de contact air-liquide, permet d'expliquer l'augmentation continue de l'épaisseur du SCOBY au fur et à mesure de la fermentation (Ruka et al., 2012).

De plus, l'épaississement du SCOBY s'accompagne d'une augmentation de la quantité d'eau retenue au sein de la matrice cellulosique. Ce phénomène est directement lié à l'organisation poreuse et fortement hydrophile du réseau nanofibrillaire de la cellulose bactérienne, capable de piéger de grandes quantités d'eau à l'état hydraté, contribuant ainsi à l'augmentation de l'épaisseur mesurée du biofilm (Daus et al., 2025). Cela impacte également le rendement massique car la masse mesurée est en effet une masse humide.

2. Influence de la masse initiale de SCOBY sur la production finale de SCOBY

La figure 11 montre la quantité de SCOBY produite (g) en 21 jours en fonction de la quantité de SCOBY initiale, fixée à 10 g, 20 g et 30 g par litre de kombucha. Pour l'ensemble des conditions étudiées, une augmentation marquée de la masse du SCOBY est observée à l'issue de la fermentation. Les masses moyennes finales obtenues sont de $144,36 \pm 30,72$ g, $208,10 \pm 6,84$ g et $195,07 \pm 47,67$ g pour des masses initiales de 10 g, 20 g et 30 g, respectivement.

L'analyse statistique des données indique qu'aucune différence statistiquement significative n'est mise en évidence entre les trois conditions testées. Cette observation est confirmée par le test post-hoc de Tukey, qui ne révèle aucune différence significative entre les différentes paires de masses initiales comparées.

Les résultats mettent en évidence une variabilité différente selon les conditions expérimentales, comme le montrent les écarts types associés aux valeurs moyennes. La dispersion des données est plus faible pour la condition à 20 g de SCOBY initial, tandis que des écarts plus importants sont observés pour les conditions à 10 g et 30 g.

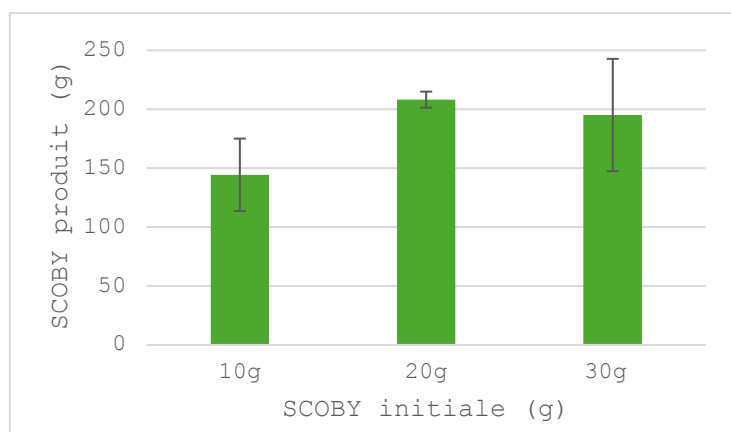


Figure 11 Quantité de SCOBY produite (g) en 21 jours en fonction de la quantité de SCOBY initiale (g)(moyenne ± écart-type ; n=3)

Dans les conditions étudiées et après 21 jours de fermentation, l'augmentation de la masse initiale de SCOBY ne conduit pas à une augmentation significative de la masse finale de SCOBY produit. Bien qu'une tendance à l'augmentation des valeurs moyennes soit observée, celle-ci n'est pas statistiquement significative et s'accompagne d'une variabilité importante, limitant la mise en évidence d'un effet net de la masse initiale à ce stade avancé de fermentation.

Ces résultats, considérés conjointement avec ceux issus de l'étude de l'effet de la durée de fermentation, indiquent que, dans les conditions expérimentales évaluées, la poursuite de la fermentation vers des stades avancés est associée à une augmentation de la variabilité des mesures. Cette variabilité accrue est susceptible de réduire la capacité à discriminer l'effet de certains paramètres expérimentaux à ce stade du processus fermentaire.

3. Effet de la masse initiale de SCOBY et du jus de repiquage sur la production de SCOBY

Dans la continuité de ces observations, le tableau 2 reprend les données relatives à la production de SCOBY en fonction de la masse initiale de SCOBY, du pourcentage de jus de repiquage (JR) et de la durée de fermentation. Après 14 jours de fermentation, l'analyse statistique révèle un effet significatif du pourcentage de JR, ainsi qu'une interaction significative entre la masse initiale de SCOBY et le pourcentage de JR, indiquant que l'influence du jus de repiquage sur la production de SCOBY varie selon la quantité de SCOBY initialement introduite.

En revanche, après 21 jours de fermentation, aucun effet significatif de la masse initiale de SCOBY ni du pourcentage de JR n'est mis en évidence, et aucune interaction significative n'est observée. Ces résultats sont cohérents avec ceux présentés précédemment, suggérant qu'à un stade avancé de fermentation, les différences liées aux conditions initiales tendent à s'atténuer. Cette atténuation s'accompagne d'une plus grande variabilité des mesures, ce qui peut limiter la capacité des analyses statistiques à discriminer l'influence des paramètres expérimentaux, malgré l'existence de tendances non significatives.

Tableau 2. Masses de SCOBY produit (moyenne \pm écart-type, g) en fonction de la masse initiale de SCOBY, du pourcentage de jus de repiquage (JR) et de la durée de fermentation (14 et 21 jours). n = 2 ou 3)

Condition	J14 (g)	J21 (g)
10 g SCOBY – 10% JR	102,27 \pm 1,71	170,17 \pm 82,53
10 g SCOBY – 20% JR	100,58 \pm 4,60	94,67 \pm 24,85
20 g SCOBY – 10% JR	88,73 \pm 11,54	86,50 \pm 10,61
20 g SCOBY – 20% JR	116,49 \pm 5,75	89,33 \pm 12,06

4. Evaluation de l'effet du changement de contenant : fermentation en conteneurs gastronomés en inox

Les expériences précédentes sont réalisées dans des sacs en silicone d'un volume de 1 L. Afin d'explorer l'influence des conditions d'exposition à l'oxygène sur la fermentation du kombucha, des essais complémentaires ont été menés dans des conteneurs gastronomés en inox. Contrairement aux sacs en silicone, ces conteneurs offrent une exposition directe de la surface du milieu fermentaire à l'air ambiant, susceptible de modifier les conditions d'oxygénation à l'interface air-liquide et, par conséquent, l'activité des microorganismes aérobies impliqués dans la synthèse de la cellulose bactérienne.

Dans un premier temps, les conteneurs étaient recouverts d'un tissu propre, conformément aux conditions expérimentales précédemment utilisées.

Toutefois, dans ces conditions, les fermentations se sont avérées non concluantes en raison de l'apparition précoce de contaminations microbiennes. Une prolifération marquée de moisissures a été observée dès le 7^e jour et confirmée au 9^e jour de fermentation.

En outre, après 21 jours, le milieu liquide s'était totalement évaporé, rendant impossible la poursuite de l'expérimentation et l'obtention de données exploitables. Ces résultats sont illustrés dans la figure 12.



Figure 12. Observation du développement de moisissures après 7 jours (gauche) et 9 jours (centre) de fermentation, ainsi que de l'évaporation quasi complète du milieu liquide après 21 jours (droite).

Afin de remédier à ces limitations, le dispositif expérimental a été modifié par l'ajout d'un couvercle en silicone, positionné par-dessus le tissu. Cette configuration a permis de limiter les contaminations tout en maintenant les échanges gazeux nécessaires à la fermentation. Dans ces conditions, les fermentations ont pu être menées jusqu'à 14 jours.

Dans cette configuration, la formation d'un SCOBY a pu être observée. Ce dernier présente un aspect plus plat que celui formé dans les sacs en silicone, et adopte la forme du conteneur gastronomé. Ces observations indiquent que l'association d'un contenant en inox et d'un couvercle en silicone permet d'améliorer la stabilité des fermentations, tout en influençant la morphologie du SCOBY formé.

Deux essais sont réalisés dans des bacs gastronormés équipés de couvercles en silicone. La figure 13 illustre la morphologie du SCOBY obtenu. Après 14 jours de fermentation à partir de 3 L de milieu de culture, les quantités de SCOBY récupérées sont respectivement de 201 g et 212 g. Dans les sacs en silicone, les quantités moyennes de SCOBY obtenues varient entre 54 et 68 g par litre, ce qui correspond à une production totale comprise entre 162 g et 204 g pour un volume de 3 L. Ces résultats montrent que la production de SCOBY en bac gastronomé avec couvercle en silicone est du même ordre de grandeur que celle obtenue dans les sacs en silicone.



Figure 13. Morphologie du SCOBY obtenue après 14 jours de fermentation réalisée dans un bac gastronormé fermé à l'aide d'un couvercle en silicone.

Les différences observées entre les fermentations réalisées en sacs en silicone et celles menées en conteneurs gastronormés en inox peuvent être attribuées aux variations de surface d'échange air-liquide induites par le changement de contenant. La production de cellulose bactérienne par les bactéries acétiques étant étroitement dépendante de la disponibilité en oxygène, l'augmentation de la surface d'échange constitue un paramètre clé influençant la formation et la morphologie du SCOBY (Laavanya et al., 2021; Jayabalan et al., 2020). Plusieurs études ont montré que l'augmentation de la surface interfaciale et du ratio surface/profondeur du milieu s'accompagne d'une augmentation du rendement en cellulose, à condition que le volume et la profondeur du milieu soient adaptés (Priyadharshini et al., 2022 ; Laavanya et al., 2021 ; Jayabalan et al., 2020).

Les quantités de SCOBY obtenues dans les bacs gastronormés équipés de couvercles en silicone, comparables à celles produites dans les sacs en silicone pour un volume équivalent de milieu, suggèrent que l'augmentation de la surface d'échange permet de maintenir une productivité similaire malgré le changement de dispositif expérimental. Toutefois, ces résultats préliminaires devront être confirmés par des essais supplémentaires afin de mieux caractériser l'effet de ce dispositif expérimental sur la productivité du SCOBY.

De plus, cette différence morphologique peut être mise en relation avec les conditions d'exposition à l'air. En effet, dans les sacs en silicone, l'oxygène peut diffuser à travers les parois du sac, permettant une exposition à l'air sur les deux faces du biofilm, ce qui est susceptible de favoriser un épaissement du SCOBY.

Par ailleurs, la morphologie plus plate du SCOBY observée dans les conteneurs gastronormés est cohérente avec une croissance principalement latérale du biofilm, favorisée par une interface air-liquide plus étendue, comme cela a également été décrit dans des systèmes de fermentation à large ouverture (Ruka et al., 2012 ; Villarreal-Soto et al., 2019).

Pour conclure, l'optimisation de la production de SCOBY met en évidence le rôle central des conditions de fermentation dans la formation de la cellulose bactérienne. La durée de fermentation apparaît comme un paramètre déterminant, tandis que l'influence de la masse initiale de SCOBY et du pourcentage de jus de repiquage tend à s'atténuer à des durées plus longues, au profit d'une variabilité accrue des productions. Par ailleurs, le choix du dispositif de fermentation et, plus spécifiquement, les modalités d'exposition du milieu à l'oxygène, influencent la stabilité des fermentations ainsi que la morphologie du SCOBY formé. La maîtrise de l'interface air-liquide constitue ainsi un levier important pour orienter la production et les caractéristiques du biofilm cellulosique.

II. Purification du SCOBY

Dans la suite de l'étude, la masse initiale de SCOBY et la proportion de jus de repiquage sont fixées respectivement à 10 g /L et 100 mL/L pour l'ensemble des expérimentations. Ce choix, fondé sur les résultats de la phase d'optimisation, vise à limiter la variabilité liée aux conditions initiales.

La purification du SCOBY constitue alors l'étape suivante du procédé, indispensable à sa caractérisation et son incorporation dans une matrice alimentaire. Elle permet d'éliminer les résidus du milieu de culture et des cellules de bactéries et de levures ainsi que les produits métaboliques issus du processus fermentaire, incluant notamment des acides organiques, des sucres, des vitamines, des acides aminés, des polyphénols et des lipides. Réalisée à 20 °C ou à 90 °C, cette étape est susceptible d'induire des modifications de paramètres structuraux et fonctionnels important comme que la cristallinité de la cellulose, sa capacité de rétention d'eau et son degré de polymérisation (Gomez-Maldonado et al., 2025).

1. Évolution de la masse et observations visuelles au cours de la purification

Les masses des pellicules de SCOBY issues de fermentations de 7, 14 et 21 jours ont été mesurées aux différentes étapes du procédé de purification, comprenant deux traitements alcalins successifs au NaOH (1,0 M), suivis d'un traitement au peroxyde d'hydrogène (H₂O₂, 1,5 %). Les valeurs correspondantes sont présentées dans les Tableaux 3 et 4 pour les purifications réalisées respectivement à 20 °C et à 90 °C.

Le traitement alcalin par le NaOH est couramment utilisé pour la purification de matériaux cellulosiques, notamment pour l'élimination de composés non cellulosiques tels que les polyphénols, les tanins, ainsi que des résidus microbiens et protéiques (Amarasekara et al., 2020 ; Dima et al., 2017 ; Chawla et al., 2009). Les résultats, présentés dans les tableaux 3 et 4, montrent que les traitements alcalins successifs s'accompagnent, pour certains échantillons, d'une

augmentation de la masse humide mesurée. Ce phénomène peut être attribué à l'ouverture des pores induite par le NaOH ce qui induit un gonflement de la pellicule de SCOBY et une augmentation de la capacité d'absorption d'eau, comme cela a déjà été rapporté pour des celluloses d'origine microbienne issues de SCOBY ou d'autres systèmes fermentaires (Amarasekara et al., 2020 ; Daus et al., 2025). Après le traitement au peroxyde d'hydrogène, une diminution de la masse est observée pour l'ensemble des échantillons, quelle que soit la durée de fermentation initiale ou la température de purification. Le H₂O₂ étant un agent oxydant couramment employé comme agent de blanchiment dans les procédés de purification de la cellulose bactérienne, cette diminution de masse peut être associée à l'élimination de composés colorés résiduels (Amarasekara et al., 2020).

Tableau 3. Suivi de l'évolution de la masse de pellicules de SCOBY issues de fermentations de 7, 14 et 21 jours au cours des étapes de purification à 20°C

Échantillon	Masse initiale (g)	Après NaOH 1,0 M, 1h (g)	Après NaOH 1,0 M, 2h (g)	Après H ₂ O ₂ 1,5 % 2h (g)
SCOBY J7	25,91	25,46	25,46	24,62
SCOBY J14	28,22	32,21	30,49	25
SCOBY J21	30,28	31,57	31,11	29,64

Tableau 4. Suivi de l'évolution de la masse de pellicules de SCOBY issues de fermentations de 7, 14 et 21 jours au cours des étapes de purification à 90°C

Échantillon	Masse initiale (g)	Après NaOH 1,0 M, 1h (g)	Après NaOH 1,0 M, 2h (g)	Après H ₂ O ₂ 1,5 % 2h (g)
SCOBY J7	26,39	25,93	25,4	23,87
SCOBY J14	27,15	27	26,83	22,5
SCOBY J21	25,98	23,62	24,9	22,79

La figure 14 illustre l'évolution visuelle de l'aspect des pellicules de SCOBY issues de fermentations de 7, 14 et 21 jours au cours des différentes étapes de purification à 90 °C. Ces observations complètent le suivi de l'évolution de la masse présenté précédemment.

Avant traitement, les pellicules présentent une coloration plutôt brunâtre. Après les deux bains alcalins successifs, une modification de l'aspect est observée, caractérisée par un éclaircissement partiel de la couleur et une apparence plus homogène, en cohérence avec les variations de masse mesurées au cours de ces étapes. À l'issue du traitement oxydant au peroxyde d'hydrogène, les pellicules apparaissent nettement plus claires et plus translucides, traduisant une modification visible du matériau.










Etapes de traitement	SCOBY J7	SCOBY J14	SCOBY J21
Avant traitement			
Après deux bain de NaOH (1M)			
Après un bain de peroxide d'hydrogène (1,5%)			

Figure 14. Evolution visuelle de l'aspect de la pellicule de SCOBY (J7, J14, J21) au cours des étapes de purification à 90°C

1. Evolution de la masse humide du SCOBY et limites de l'indicateur

Le tableau 5 présente le facteur d'évolution de la masse humide du SCOBY en fonction de la durée de fermentation et de la température de purification. Cet indicateur correspond au rapport entre la masse humide finale du SCOBY purifié et la masse humide initiale de l'inoculum, et permet d'estimer la masse humide finale à partir de la masse humide initialement inoculé.

Cependant, la masse humide du SCOBY est fortement dépendante de sa teneur en eau, laquelle peut varier en fonction de paramètres non strictement contrôlés, tels que l'égouttage, la manipulation des pellicules ou leur capacité spécifique de rétention d'eau. Le SCOBY étant majoritairement constitué de cellulose bactérienne, présentant une capacité élevée de rétention d'eau, liée à la structure tridimensionnelle et poreuse du réseau cellulosique ainsi qu'à la présence de nombreux groupements hydroxyles (Lin et al., 2013). En conséquence, l'évolution de la masse humide constitue un indicateur global, mais peu spécifique de la quantité réelle de matière solide produite.

Les valeurs du facteur d'évolution de la masse humide sont présentées à titre descriptif, afin de fournir un ordre de grandeur de l'évolution du matériau au cours de la fermentation et de la purification.

Les résultats montrent néanmoins une augmentation du facteur d'évolution de la masse humide avec la durée de fermentation, quelle que soit la température de purification considérée. Cette observation doit être interprétée avec prudence, dans la mesure où elle reflète à la fois la formation de la matrice cellulosique et l'importante contribution de l'eau retenue dans le biofilm.

Ainsi, le facteur d'évolution de la masse humide peut être compris comme une estimation de la quantité de SCOBY humide obtenue à partir de 10 g de SCOBY inoculé en début de fermentation. C'est donc un indicateur de rendement.

Tableau 5. Variation du rendement en masse humide selon la durée de fermentation et la température de purification (moyenne +/- écart type n=3)

Température de purification	Durée fermentation	Facteur d'évolution de la masse humide
20 °C	J7	4,02 ± 0,38
	J14	6,01 ± 0,47
	J21	9,93 ± 0,85
90 °C	J7	3,14 ± 0,09
	J14	4,48 ± 0,17
	J21	14,13 ± 3,18

1. Masse résiduelle après étuvage

Afin de limiter l'influence de la forte teneur en eau du SCOBY sur les résultats obtenus à partir de la masse humide, la masse a également été évaluée après étuvage. Cette approche vise à fournir un indicateur plus représentatif de la fraction solide du SCOBY. Cette analyse a été réalisée uniquement sur des échantillons J14 purifiés à 20 °C et à 90 °C. L'étuvage a été réalisé selon le protocole décrit par Amarasekara et al., 2020 consistant à maintenir les échantillons à 50 °C pendant 20 h. À l'issue de cette étape, la masse résiduelle correspond à la masse du SCOBY purifié après élimination d'une grande partie de l'eau.

Le Tableau 6 présente, pour des échantillons de SCOBY issus de 14 jours de fermentation (J14), la masse humide mesurée avant purification, la masse résiduelle obtenue après purification et étuvage, ainsi que la fraction massique résiduelle associée. Cette fraction massique résiduelle permet d'estimer, de manière comparative, la proportion de matière conservée après purification.

Les résultats montrent que la fraction massique résiduelle apparaît plus élevée pour les échantillons purifiés à 90 °C que pour ceux purifiés à 20 °C. Une analyse de variance (test t de student) met en évidence un effet significatif de la température de purification sur la fraction massique résiduelle.

Tableau 6. masse résiduelle de SCOBY J14 après étuvage : 50 °C – 20 h ; moyenne ± écart-type, n = 3

Condition	Masse humide avant purification (g)	Masse résiduelle après purification et étuvage (g)	Fraction massique résiduelle
20 °C	67,86 ± 5,30	1,15 ± 0,09	0,01695 ± 0,00003
90 °C	54,00 ± 2,00	1,33 ± 0,05	0,02463 ± 0,00001

Il convient toutefois de souligner que l'étuvage à 50 °C pendant 20 h ne permet pas l'élimination complète de l'eau, de sorte que la masse résiduelle obtenue ne correspond pas à une masse sèche au sens strict. Les valeurs de fraction massique résiduelle doivent donc être interprétées comme des indicateurs comparatifs, et non comme une quantification absolue de la matière sèche du SCOBY.

III. Caractérisation du SCOBY

Après purification, les pellicules de SCOBY ont ensuite fait l'objet d'une caractérisation incluant des analyses microbiologiques ainsi que des analyses physico-chimiques permettant de décrire les effets des paramètres de fermentation et des traitements de purification sur les propriétés et la structure du SCOBY.

1. Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR)

Les spectres FTIR des SCOBY récupérés après 7, 14 et 21 jours de fermentation et purifiés à 20 °C sont présentés dans la figure 15, tandis que ceux des SCOBY purifiés à 90 °C sont illustrés dans la figure 16. Les spectres individuels sont repris en annexe. Dans les deux cas, les spectres FTIR obtenus sont en accord avec ceux de la cellulose bactérienne rapportés dans la littérature (Tanveer et al., 2025 ; Nam et al., 2025 ; Chaussée et al., 2025).

Une large bande d'absorption observée autour de 3307 cm^{-1} est attribuée aux vibrations d'étirement des groupements -OH, ce qui témoigne la présence de liaisons hydrogène étendues au sein du réseau cellulosique (Tanveer et al., 2025 ; Nam et al., 2025). Les bandes d'absorption situées dans la région 2990–2800 cm^{-1} correspondent aux modes d'étirement symétriques et asymétriques des liaisons C–H des groupements méthylène (CH_2) et méthyle (CH_3) associés à la cellulose (El-Shall et al., 2023).

La bande observée à 1641 cm^{-1} est associée aux vibrations de déformation des groupements O–H de l'eau liée, reflétant le caractère hydrophile de la cellulose bactérienne (Chaussée et al.,

2025). Le pic observé à 1384 cm^{-1} est attribué aux vibrations de déformation des liaisons C-H (Chaussée et al., 2025).

Les bandes intenses comprises entre 1200 et 1000 cm^{-1} correspondent aux vibrations d'étirement des liaisons C-O-C et C-O, caractéristiques de la structure polysaccharidique de la cellulose (Chaussée et al., 2025). Enfin, le pic observé à 826 cm^{-1} est attribué aux vibrations des liaisons glycosidiques β -1 \rightarrow 4, confirmant la présence de la cellulose (Laavanya et al, 2021 ; Chaussée et al., 2025).

Il convient de souligner que la spectroscopie FTIR est une technique semi-quantitative ; par conséquent, l'observation d'un pic d'intensité plus élevée ne traduit pas nécessairement une augmentation proportionnelle de la quantité de cellulose ni une modification de sa structure chimique. Les variations d'intensité peuvent être dues à des changements physiques et structuraux, tels que la réorganisation des liaisons hydrogène, la densification du réseau cellulosique ou les conditions de préparation des échantillons (Kruer-Zerhusen et al., 2018).

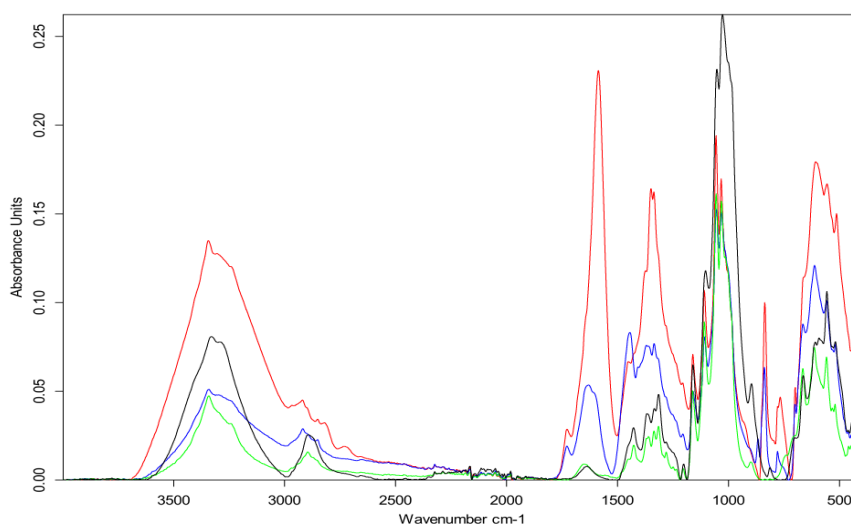


Figure 15. Analyse FTIR du SCOBY de kombucha purifié à 20 °C : MCC (noir), J7 (vert), J14 (bleu) et J21 (rouge)

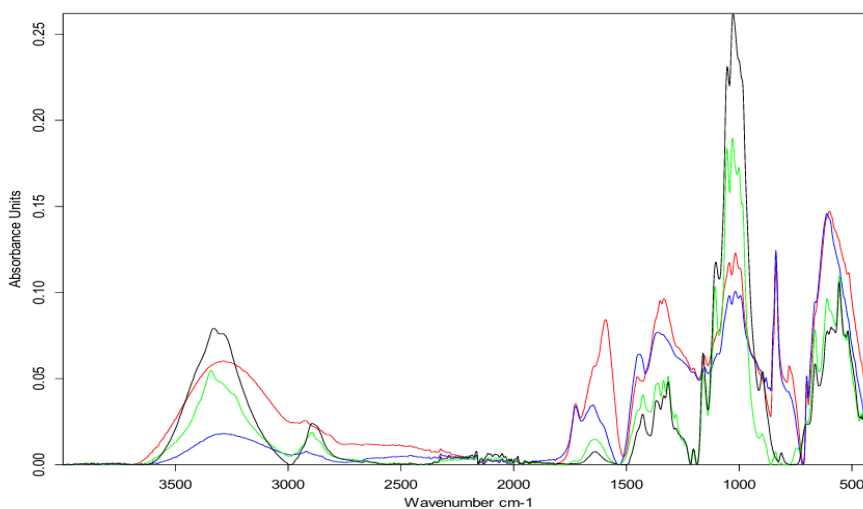


Figure 16. Analyse FTIR du SCOBY de kombucha purifié à 20 °C : MCC (noir), J7 (vert), J14 (bleu) et J21 (rouge)

L'augmentation progressive de l'intensité des bandes FTIR avec le temps de fermentation, particulièrement marquée après 21 jours, peut être attribuée à la poursuite de la synthèse et de l'accumulation de cellulose bactérienne. Ce qui peut aboutir à une densification du réseau cellulosique. Au cours de la fermentation, le développement du SCOBY s'accompagne d'un renforcement du réseau de liaisons hydrogène et des interactions C-H, traduisant une organisation croissante des chaînes cellulosiques (Villarreal et al., 2018). La production de cellulose se poursuit jusqu'à ce que le biofilm atteigne une épaisseur maximale, ce qui semble expliquer l'intensité plus élevée des bandes FTIR observée aux temps de fermentation prolongés, sans pour autant impliquer une modification de la structure chimique de la cellulose (Villarreal et al., 2018).

Par ailleurs, la comparaison entre les spectres des échantillons purifiés à 20 °C et 90 °C met en évidence des différences d'intensité attribuables aux conditions de purification thermique. Par exemple, le traitement à haute température peut favoriser l'élimination de l'eau liée, la réorganisation des liaisons hydrogène et la densification du réseau fibrillaire de la cellulose bactérienne. Ces effets du traitement appliqué au SCOBY peuvent induire des variations de l'intensité des bandes FTIR, sans modification réelle de la cristallinité de la cellulose, de sorte que les différences observées entre les deux graphes reflètent principalement des changements physiques et structuraux plutôt qu'une transformation chimique de la cellulose bactérienne (Kruer-Zerhusen et al., 2018).

2. Effet du temps de fermentation et de la purification thermique sur la capacité d'absorption d'eau du SCOBY

Les résultats présentés dans le tableau 7 montrent que la capacité d'absorption d'eau du SCOBY varie à la fois en fonction du temps de fermentation et de la température de purification. Pour les échantillons purifiés à 20 °C, la capacité d'absorption d'eau est la plus élevée à J7, puis diminue à J14 et reste relativement stable à J21. En revanche, pour les échantillons purifiés à 90 °C, les valeurs d'absorption d'eau sont nettement plus faibles pour l'ensemble des temps de fermentation. Ces résultats mettent en évidence une tendance à la diminution globale de la capacité d'absorption d'eau avec l'augmentation du temps de fermentation, particulièrement prononcée pour les échantillons soumis à une purification à haute température.

Tableau 7. Capacité d'absorption d'eau du SCOBY en fonction du temps de fermentation et de la température de purification

Durée de fermentation	Capacité d'absorption d'eau (g/g) – SCOBY purifié à 20 °C	Capacité d'absorption d'eau (g/g) – SCOBY purifié à 90 °C
J7	19,40	14,19
J14	13,64	2,07
J21	13,31	1,11

La capacité d'absorption d'eau du SCOBY évolue avec le temps de fermentation, traduisant des modifications progressives de la structure du biofilm de cellulose bactérienne. Aux temps de fermentation courts, la cellulose bactérienne présente un réseau nanofibrillaire fin, peu ramifié et fortement poreux favorisant l'absorption de l'eau (Chawla et al., 2009 ; Laavanya et al., 2021). La présence d'un réseau dense de liaisons hydrogène contribue au piégeage de l'eau au sein de la matrice cellulosique (Laavanya et al., 2021). Avec l'augmentation du temps de fermentation, les résultats obtenus suggèrent que la maturation structurale du biofilm s'accompagne d'une organisation accrue des fibrilles et d'une densification progressive du réseau, susceptible de réduire l'accessibilité des pores et, par conséquent, la capacité d'absorption d'eau. Cette évolution est cohérente avec les variations d'intensité des bandes O–H observées en FTIR, traduisant une évolution des interactions hydrogène sans modification de la structure chimique de la cellulose. Par ailleurs, la purification thermique à 90 °C est associée à une diminution supplémentaire de l'absorption d'eau, pouvant être liée à des modifications physiques du réseau cellulosique induites par les conditions de purification (Amarasekara et al., 2020).

3. Thermogravimétrie

L'analyse thermogravimétrique a été réalisée sur des échantillons de SCOBY J14 purifiés à 20 °C et 90 °C. Le choix de la condition J14 s'explique par des considérations de rendement et de reproductibilité. En effet à J7, la quantité de cellulose produite est trop faible alors qu'à J21, le rendement devient trop variable. Par ailleurs, le nombre d'échantillons analysés a été limité en raison de la réalisation des mesures dans un laboratoire externe.

L'analyse thermogravimétrique permet d'apporter des informations sur la stabilité thermique et le comportement thermique de la cellulose bactérienne issue du kombucha après différentes conditions de purification (Dima et al., 2017).

La figure 17 présente les courbes TGA du SCOBY J14 purifié à 20 °C, du SCOBY J14 purifié à 90 °C et de la cellulose microcristalline (MCC). Pour les deux échantillons de SCOBY, une première perte de masse est observée à basse température, liée à l'élimination de l'eau résiduelle (Dima et al., 2017), cette perte étant plus marquée pour le SCOBY purifié à 20 °C.

La dégradation thermique principale du SCOBY J14 purifié à 20 °C débute autour de 241 °C, tandis que celle du SCOBY J14 purifié à 90 °C commence autour de 240 °C, indiquant des températures de dégradation très proches pour les deux conditions de purification. En comparaison, la MCC présente une dégradation thermique principale à une température plus élevée, située autour de 290 °C, traduisant une stabilité thermique supérieure par rapport aux échantillons de SCOBY. Enfin, les courbes TGA indiquent que le résidu final du SCOBY J14 purifié à 20 °C est légèrement plus important que celui du SCOBY J14 purifié à 90 °C. Ces deux échantillons de SCOBY présentent toutefois un résidu final nettement supérieur à celui de la cellulose microcristalline (MCC).

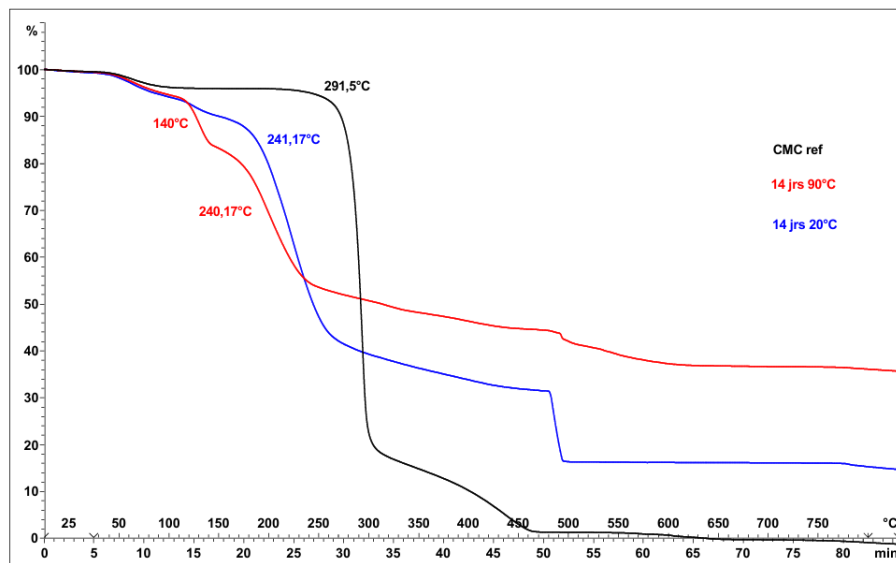


Figure 17. Thermogrammes comparatifs de SCOBY J14 purifié à 20°C et à 90°C et MCC

Les profils thermogravimétriques obtenus confirment que la cellulose bactérienne issue du SCOBY présente un comportement thermique distinct de celui de la cellulose microcristalline d'origine végétale, en lien avec son origine biologique et son degré de purification. La perte de masse observée à basse température est cohérente avec le caractère fortement hydraté des membranes de cellulose bactérienne (Chaussée et al., 2024).

La présence de résidus est probablement due à des composés issus du milieu de fermentation et des étapes de purification chimique, notamment des traces de réactifs tels que le NaOH ou le H₂O₂. Les études montrent que le degré de purification influence directement la quantité de résidu final, les échantillons les moins purifiés conservant une fraction non volatile plus importante en raison d'impuretés organiques ou minérales (Amarasekara et al., 2020 ; Daus et al., 2025)

L'analyse du résidu final constitue dès lors un indicateur pertinent de l'efficacité des étapes de purification. Les différences de résidu observées entre les échantillons purifiés à 20 °C et à 90 °C suggèrent une purification plus efficace à 20 °C, l'échantillon correspondant présentant une fraction résiduelle plus faible. Toutefois, le comportement thermique de ces échantillons reste

distinct de celui d'une cellulose de référence hautement purifiée telle que la cellulose microcristalline (MCC).

4. Microscopie électronique à balayage (MEB)

La microscopie électronique à balayage permet d'évaluer qualitativement l'efficacité du protocole de purification appliqué au SCOBY en fournissant une visualisation directe de la morphologie de la cellulose bactérienne. Les observations MEB ont été réalisées uniquement sur le SCOBY J14 purifié à 90 °C, en raison de contraintes expérimentales liées à la réalisation des mesures dans un laboratoire externe. Les micrographies obtenues à différents grossissements, présentées dans la figure 18, permettent d'observer l'organisation morphologique du matériau à plusieurs échelles.

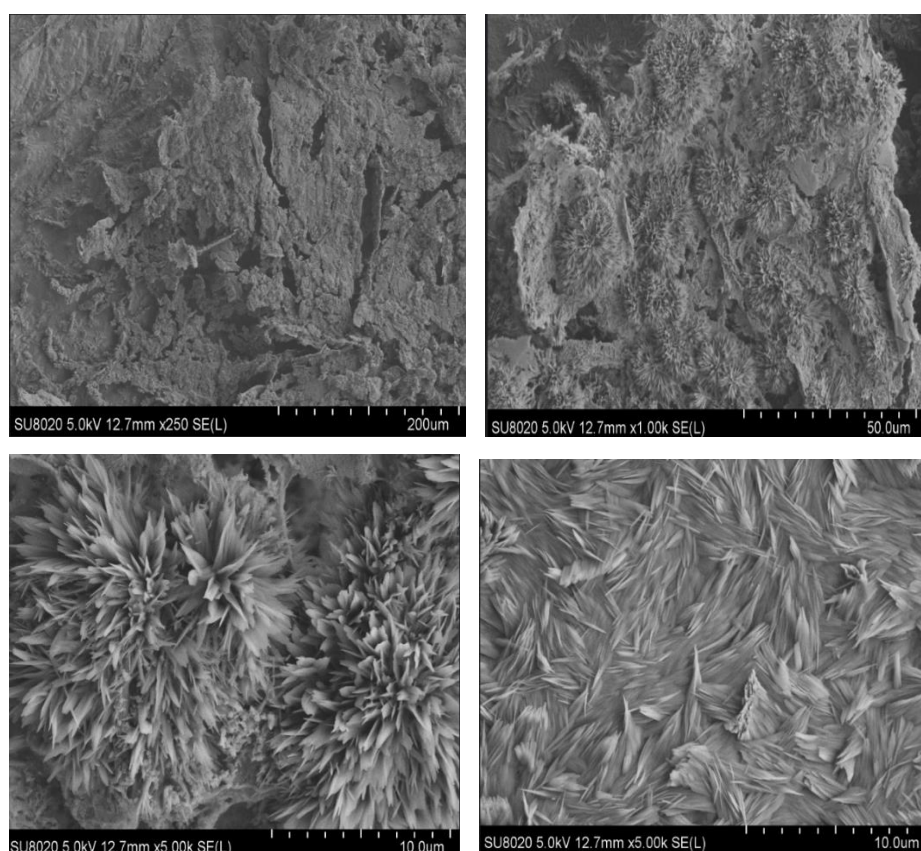


Figure 18. Micrographies de SCOBY J14 purifié à 90°C

Les images révèlent un réseau fibrillaire dense et continu, constitué de fibres fines fortement entrelacées et organisées en faisceaux, sans présence évidente de cellules bactériennes, de levures ou de dépôts inorganiques visibles. Cette morphologie est caractéristique de la cellulose bactérienne purifiée et contraste avec celle du SCOBY brut, généralement décrite comme contenant encore des microorganismes et des résidus du milieu de fermentation. Des études ont montré que, après purification, la cellulose bactérienne présente une morphologie constituée de fibres propres et d'un réseau compact, tandis que le SCOBY non purifié contient encore des bactéries et des cristaux inorganiques clairement observables en microscopie électronique, ce qui

permet de documenter l'efficacité du protocole de purification pour éliminer ces contaminants (Daus et al., 2025).

Ces observations sont également en accord avec des travaux antérieurs montrant que les traitements de purification alcalins, éventuellement combinés à des étapes oxydantes, permettent d'éliminer efficacement les cellules bactériennes, les protéines et les résidus issus du milieu de fermentation, conduisant à l'obtention d'un réseau de cellulose bactérienne morphologiquement plus homogène (Amarasekara et al., 2020 ; Sederavičiūtė et al., 2019). L'aspect compact et la forte densité fibrillaire observés suggèrent que la purification appliquée est efficace d'un point de vue structural, tout en préservant l'intégrité du réseau cellulosique.

Ainsi, la MEB constitue un outil pertinent pour confirmer qualitativement l'efficacité de la purification du SCOBY, en complément des analyses FTIR, d'absorption d'eau et de thermogravimétrie.

5. Analyses microbiologiques

Les analyses microbiologiques sont réalisées afin d'évaluer la présence de microorganismes dans les échantillons de SCOBY après purification, en fonction du temps de fermentation et de la température de purification. Les analyses ont porté sur des SCOBY frais (non déshydraté et conservé sous vide après purification) et lyophilisés, purifiés à 20 °C et à 90 °C, après 7, 14 et 21 jours de fermentation. Les résultats sont exprimés en nombre de colonies de bactéries, de levures et de champignons. Elles sont réalisées par dénombrement des colonies formées sur boîtes de Pétri (voir annexe). Les échantillons sont incubés à 30 °C pendant 72 h dans un incubateur, sur milieu PCA (Plate Count Agar). Lorsque les résultats sont indiqués sous la forme « >300 » ou « >100 », cela signifie que le nombre de colonies est trop élevé pour être dénombré avec précision.

Résultats des analyses microbiologiques du SCOBY frais

Les résultats relatifs au SCOBY frais purifié à 20 °C sont présentés dans le tableau 8. De façon générale, aucune croissance microbienne n'est observée pour la majorité des conditions étudiées. À J7, une très faible contamination bactérienne est observée, avec une colonie détectée sur l'une des répétitions, tandis qu'aucune levure ni champignon n'est mis en évidence. À J14, une contamination bactérienne légèrement plus élevée est observée, avec deux colonies sur l'une des répétitions, sans détection de levures ni de champignons. À J21, aucune croissance microbienne n'est observée pour l'ensemble des microorganismes analysés. Ces résultats indiquent une charge microbiologique résiduelle très faible pour le SCOBY frais purifié à 20 °C.

Les résultats obtenus pour le SCOBY frais purifié à 90 °C, sont présentés dans le tableau 9. À J7, une croissance bactérienne importante est observée, avec un nombre de colonies supérieur à 300 pour les deux répétitions, tandis qu'aucune levure ni champignon n'est détectée. En revanche, pour J14 et J21, aucune croissance microbienne n'est observée, quelle que soit la catégorie de microorganismes analysée.

Tableau 8. Résultats de l'analyse microbiologique du SCOBY frais purifié à 20 °C après 7, 14 et 21 jours de fermentation, exprimés en nombre de colonies de bactéries, levures et champignons. (n=2)

Durée de fermentation	Colonies		
	Bactéries	Levures	Champignons
J7	0	0	0
	1	0	0
J14	0	0	0
	2	0	0
J21	0	0	0
	0	0	0

Tableau 9. Résultats de l'analyse microbiologique du SCOBY frais purifié à 90 °C après 7, 14 et 21 jours de fermentation, exprimés en nombre de colonies de bactéries, levures et champignons. (n=2)

Durée de fermentation	Colonies		
	Bactéries	Levures	Champignons
J7	>300	0	0
	>300	0	0
J14	0	0	0
	0	0	0
J21	0	0	0
	0	0	0

Résultats des analyses microbiologiques du SCOBY lyophilisé

Les résultats obtenus pour le SCOBY lyophilisé purifié à 20 °C sont présentés dans le tableau 10. À J7, une croissance importante de levures est observée, avec un nombre de colonies supérieur à 100 pour les deux répétitions, tandis qu'aucune bactérie ni champignon n'est détecté. À J14, une faible charge bactérienne apparaît, comprise entre une et douze colonies selon les répétitions, sans présence de levures ni de champignons. À J21, quelques colonies de bactéries et de levures sont observées, bien que les valeurs restent faibles, et aucune croissance fongique n'est détectée. Ces résultats indiquent la persistance d'une contamination microbienne limitée dans les échantillons lyophilisés purifiés à 20 °C.

Le SCOBY lyophilisé purifié à 90 °C, dont les résultats sont présentés dans le tableau 11, montre un profil similaire à J7, avec une croissance importante de levures (>100 colonies pour les deux répétitions), sans détection de bactéries ni de champignons. À J14, aucune croissance microbienne n'est observée. À J21, une contamination très faible est détectée, avec une à deux colonies de bactéries ou de levures selon les répétitions, et aucune croissance fongique.

Tableau 10. Résultats de l'analyse microbiologique du SCOBY lyophilisé purifié à 20 °C après 7, 14 et 21 jours de fermentation, exprimés en nombre de colonies de bactéries, levures et champignons. (n=2)

Durée de fermentation	Colonies		
	Bactéries	Levures	Champignons
J7	0	>100	0
	0	>100	0
J14	1	0	0
	12	0	0
J21	2	3	0
	4	1	0

Tableau 11. Résultats de l'analyse microbiologique du SCOBY lyophilisé purifié à 90 °C après 7, 14 et 21 jours de fermentation, exprimés en nombre de colonies de bactéries, levures et champignons. (n=2)

Durée de fermentation	Colonies		
	Bactéries	Levures	Champignons
J7	0	>100	0
	0	>100	0
J14	0	0	0
	0	0	0
J21	1	0	0
	0	1	0

En complément, un dénombrement microbiologique est réalisé sur des échantillons de SCOBY non purifié à J21, à titre de référence. Ces échantillons présentent une charge microbienne élevée, avec un nombre de colonies bactériennes supérieur à 300, la présence de quelques colonies de levures (2 à 7 colonies) et l'absence de champignons détectables.

Les résultats des analyses microbiologiques montrent l'absence totale de champignons pour l'ensemble des échantillons analysés, qu'ils soient frais ou lyophilisés, et quelle que soit la température de purification appliquée. Cette observation est cohérente avec la nature même du SCOBY, qui correspond à une culture symbiotique de bactéries et de levures et ne contient pas de champignons. L'absence de champignons observée dans les échantillons traités confirme ainsi que les conditions expérimentales mises en œuvre ne favorisent pas l'apparition de contaminations exogènes de ce type de microorganismes. Cette observation indique que les conditions

expérimentales mises en œuvre, ainsi que les étapes de purification, sont efficaces pour prévenir le développement de champignons dans le SCOBY traité.

Des bactéries et des levures sont occasionnellement détectées sur certaines boîtes de Pétri. Néanmoins, leur présence reste très limitée dans la majorité des cas, avec des valeurs généralement comprises entre 1 et 10 colonies pour un volume de 50 μL de suspensionensemencée. Une telle charge microbienne est considérée comme très faible, et l'absence totale de colonies observée pour de nombreux échantillons constitue un résultat satisfaisant du point de vue de la qualité microbiologique.

Aucune différence marquée n'est mise en évidence entre les échantillons frais et lyophilisés en termes de charge microbienne résiduelle. De même, les rares contaminations observées ne semblent pas corrélées à la température de purification, que celle-ci soit réalisée à 20 °C ou à 90 °C. Ces résultats suggèrent que les étapes de purification appliquées, reposant sur un traitement alcalin à la soude (NaOH), suivi d'une oxydation au peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), permettent globalement d'éliminer ou d'inactiver efficacement les microorganismes présents dans le SCOBY, indépendamment de la température de traitement.

Il est établi que le traitement alcalin est particulièrement efficace pour la lyse des cellules des bactéries et levures, la dénaturation des protéines et l'élimination des composés issus du milieu de fermentation, tout en préservant la structure de la cellulose bactérienne (Amarasekara et al., 2020 ; Sederavičiūtė et al., 2019 ; Dima et al., 2017). L'étape de purification par H_2O_2 contribue en plus à l'oxydation des résidus organiques persistants et renforce l'effet antimicrobien du protocole de purification, conduisant à une cellulose bactérienne plus propre et microbiologiquement stable (Daus et al., 2025 ; Laavanya et al., 2021).

Les quelques colonies détectées ponctuellement sont probablement liées à des contaminations accidentelles survenues lors des étapes de manipulation, plutôt qu'à une survie réelle des microorganismes au sein du SCOBY purifié. Cette hypothèse est renforcée par l'observation d'une charge microbienne extrêmement élevée dans le SCOBY non purifié, utilisé comme échantillon de référence, soulignant le rôle déterminant des étapes de purification chimique dans la réduction drastique de la charge microbienne.

Par ailleurs, les échantillons frais conservent une très bonne qualité microbiologique au cours du temps. Cette stabilité peut s'expliquer par l'absence de nutriments résiduels suffisants dans la matrice de cellulose purifiée pour permettre le développement microbien, ainsi que par les conditions de stockage à basse température (4°C), qui limitent la croissance des microorganismes.

Pour conclure, ces résultats indiquent que le traitement de purification mis en œuvre, qu'il soit réalisé à 20 °C ou à 90 °C, permet d'inactiver efficacement les microorganismes associés au SCOBY, sans différence notable entre les échantillons frais et lyophilisés. Les rares colonies observées ponctuellement ne remettent pas en cause cette tendance générale et sont vraisemblablement liées à des contaminations accidentelles lors des étapes de manipulation. Les échantillons obtenus présentent ainsi une bonne qualité microbiologique globale, compatible avec leur utilisation ultérieure dans des applications nécessitant un matériau faiblement contaminé, notamment dans le domaine alimentaire.

VI. Incorporation du SCOBY dans le sorbet

Les résultats précédents montrent que le SCOBY issu de la fermentation du kombucha peut être produit de manière reproductible, purifié efficacement et caractérisé comme un matériau majoritairement cellulosique, présentant une bonne stabilité microbiologique et des propriétés physico-chimiques spécifiques, notamment une capacité élevée d'absorption d'eau. Ces caractéristiques suggèrent un potentiel d'utilisation du SCOBY comme ingrédient fonctionnel dans des matrices alimentaires. Ici, l'incorporation du SCOBY dans une matrice de sorbet est étudiée à partir d'un SCOBY de 14 jours de fermentation, purifié à 90 °C, ce choix étant justifié par des considérations de rendement, de reproductibilité et de sécurité alimentaire. Les performances du SCOBY sont comparées à celles d'une formulation témoin, d'un stabilisant commercial à base de fibres végétales et de la cellulose microcristalline d'origine végétale. Les résultats présentés dans cette section portent sur l'impact de ces différents ingrédients sur la texture instrumentale, le comportement à la fonte et l'acceptabilité sensorielle du sorbet.

1. Evaluation de la texture

Afin d'évaluer l'impact de l'incorporation du SCOBY sur la texture du sorbet, six formulations distinctes ont été comparées : un sorbet témoin sans additif (Blanc), trois sorbets formulés avec des concentrations croissantes de SCOBY (20, 50 et 100 g de SCOBY frais par litre de sorbet), ainsi que deux sorbets formulés respectivement avec de la cellulose microcristalline (MCC) et avec un stabilisant commercial (Stabpur). Les paramètres texturaux mesurés à l'aide d'un texturomètre comprennent la cohésion, la consistance, la fermeté et l'indice de viscosité (tableau 12).

Les courbes force-temps obtenues lors des essais au texturomètre (Figure 19) présentent un profil global similaire pour l'ensemble des formulations. Lors de la phase de compression, une augmentation quasi linéaire de la force est observée avant l'atteinte d'un plateau. Les formulations contenant du SCOBY se distinguent par une montée plus marquée de la force par rapport au

sorbet témoin ainsi qu'aux formulations contenant la cellulose microcristalline et le Stabpur. Lors de la phase de retrait, les différences entre formulations apparaissent moins prononcées.

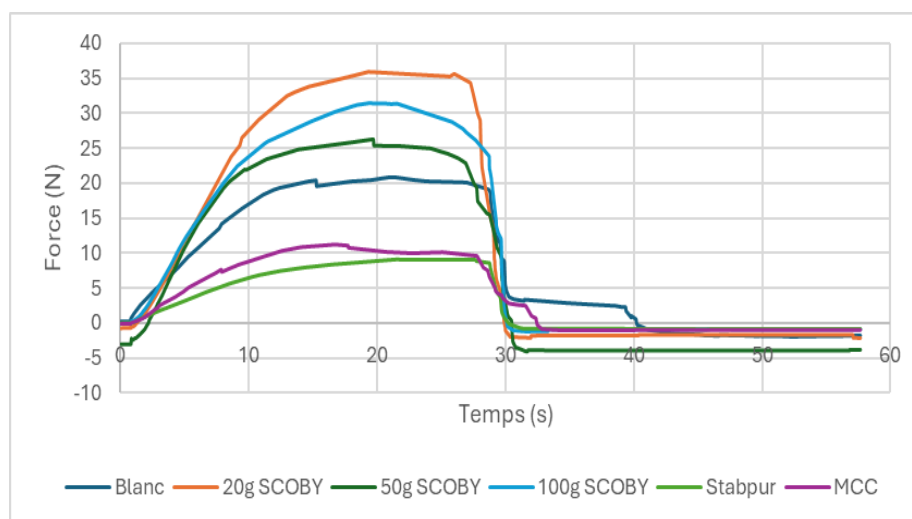


Figure 19. Graphique de la force (N) en fonction du temps (s) lors de la phase de compression et de retrait des 6 formulations (moyenne; n=3)

La cohésion qui représente la force maximale négative lors de la phase de retrait, donne une information sur la capacité du sorbet à rester intègre après avoir subi une déformation. Aucune différence significative n'est observée entre le sorbet désigné comme blanc, la formulation contenant 20 g de SCOBY par litre et celle à 100 g de SCOBY par litre, indiquant une résistance à l'extrusion comparable. En revanche, la formulation incorporant 50 g de SCOBY par litre présente une cohésion significativement plus élevée en valeur absolue, traduisant une structure plus résistante à la déformation. Les sorbets formulés avec la cellulose microcristalline et le Stabpur présentent des valeurs de cohésion statistiquement inférieures à celles observées pour les sorbets contenant du SCOBY, en particulier à 50 g par litre.

La consistance mesure le travail nécessaire à la déformation. Au plus elle est élevée, au plus il faut appliquer une contrainte pour déformer le produit. Elle est significativement augmentée par l'ajout de SCOBY par rapport au sorbet blanc. La formulation à 20 g de SCOBY par litre présente déjà une consistance plus élevée que le témoin. Les formulations à 50 et 100 g de SCOBY par litre affichent également des valeurs élevées, sans différence significative entre elles, suggérant que l'augmentation de la concentration de SCOBY au-delà de 20 g par litre n'entraîne pas une augmentation proportionnelle de la consistance. À l'inverse, les sorbets formulés avec la cellulose microcristalline et le Stabpur présentent des consistances significativement plus faibles que toutes les formulations contenant du SCOBY.

Concernant la fermeté, aucune différence significative n'est observée entre le sorbet blanc et la formulation à 20 g/L de SCOBY . Les formulations à 50 et 100 g de SCOBY par litre présentent des valeurs intermédiaires, sans distinction statistique nette avec le témoin. En revanche, les sorbets contenant la cellulose microcristalline et le Stabpur présentent des fermetés significativement plus faibles, traduisant des textures plus molles ce qui est cohérent avec les valeurs de consistance plus faibles mesurées pour ces formulations.

L'indice de viscosité correspond à l'aire négative sous la courbe force-temps, il permet de caractériser la résistance du sorbet à l'écoulement et donne une idée sur l'aspect collant de la préparation. Dans cette étude, la formulation contenant 50 g/L de SCOBY présente un indice de viscosité plus élevé que l'ensemble des autres formulations. Les formulations Blanc, 20 g et 100 g de SCOBY par litre ne présentent pas de différences significatives entre elles et affichent des indices de viscosité intermédiaires. Les sorbets formulés avec la cellulose microcristalline et le Stabpur présentent des indices de viscosité plus faibles, comparables à ceux des formulations sans ou faiblement enrichies en SCOBY.

Tableau 12. Paramètres de texture (cohésion, consistance, fermeté et indice de viscosité) des différentes formulations, exprimés en moyenne \pm écart-type (n=3).

Formulations	Cohésion (N)	Consistance (N·mm)	Fermeté (N)	Index de viscosité (N·mm)
Blanc	-2,18 \pm 0,90 ^{ab}	499,22 \pm 9,94 ^{ab}	23,74 \pm 6,68 ^{ab}	45,98 \pm 26,90 ^a
20g SCOBY	-2,14 \pm 1,25 ^a	736,29 \pm 166,38 ^a	37,41 \pm 7,54 ^a	48,15 \pm 36,87 ^a
50g SCOBY	-4,12 \pm 0,72 ^b	562,56 \pm 218,20 ^{ab}	27,23 \pm 9,92 ^{ab}	106,44 \pm 14,05 ^a
100g SCOBY	-1,27 \pm 0,40 ^a	656,90 \pm 173,56 ^a	31,97 \pm 10,49 ^a	25,44 \pm 3,16 ^a
MCC	-1,08 \pm 0,02 ^a	241,89 \pm 45,43 ^b	11,50 \pm 1,79 ^b	27,71 \pm 0,53 ^a
Stabpur	-0,94 \pm 0,04 ^a	189,57 \pm 41,17 ^b	9,59 \pm 1,87 ^b	22,74 \pm 1,28 ^a

L'ensemble des résultats met en évidence que le SCOBY amène de la consistance à la matrice glacée, particulièrement à une concentration intermédiaire de 50 g par litre de sorbet. Parmi les paramètres étudiés, la cohésion et la fermeté apparaissent comme les plus discriminants pour caractériser l'impact du SCOBY sur la résistance à la déformation et à l'écoulement.

L'augmentation de ces paramètres à 50g par litre peut être interprétée à la lumière des mécanismes de structuration des polymères fibrillaires. L'élévation de la concentration en polymère favorise le rapprochement des chaînes, la réduction des volumes libres et le

renforcement des interactions entre les éléments structuraux, conduisant à la formation d'un réseau plus rigide et plus cohésif (Radocaj et al., 2011 ; Riquelme et al., 2023). Cette organisation s'accompagne d'une augmentation du nombre de chaînes polymériques élastiquement actives, renforçant la résistance mécanique de la matrice (Chong et al., 2025).

Toutefois, l'effet du SCOPY sur la texture n'évolue pas de manière linéaire avec la concentration. Une teneur de 20 g par litre semble insuffisante pour induire une structuration efficace, tandis qu'une concentration plus élevée de 100 g par litre n'entraîne pas d'amélioration supplémentaire des propriétés mécaniques. Ce comportement suggère une organisation moins optimale du réseau fibrillaire à forte teneur et l'existence d'une concentration seuil au-delà de laquelle l'augmentation de la quantité de polymère ne se traduit plus par un renforcement de la structure.

L'interprétation de ces résultats doit également tenir compte des spécificités des sorbets, dont les propriétés mécaniques dépendent fortement de la structure de la phase glacée et de la fraction d'eau non gelée. La texture est influencée par les caractéristiques des cristaux de glace et par la présence d'hydrocolloïdes dans la matrice aqueuse (Mehta et al., 2024), ces derniers pouvant induire des phénomènes de congélation et agir comme agents cryoprotecteurs en limitant la mobilité de l'eau entre les cristaux de glace. Ces mécanismes peuvent atténuer l'impact direct de la concentration en SCOPY sur la dureté, expliquant pourquoi ce paramètre est moins discriminant que la cohésion et l'indice de viscosité dans la présente étude.

La comparaison avec les épaississants de référence met en évidence des différences significatives de mécanismes d'action, suggérant des modes d'interaction distincts au sein du système étudié. La cellulose microcristalline et le stabilisant commercial Stabpur conduisent à des valeurs mécaniques plus faibles que celles observées pour la formulation à 50 g de SCOPY par litre, en raison de leur capacité limitée à former un réseau tridimensionnel continu.

Enfin, la présence de cristaux de glace, la fraction d'eau non gelée et la sensibilité à la température rendent les mesures texturales particulièrement délicates et peuvent contribuer à la variabilité observée. Malgré ces contraintes expérimentales, les tendances mises en évidence confirment le potentiel du SCOPY comme ingrédient structurant pour les sorbets lorsqu'il est incorporé à une concentration adaptée.

2. Test de fonte

La vitesse de fonte est calculée à partir de la pente de la régression linéaire décrivant la relation entre la masse de sorbet fondu récupérée et le temps, sur l'intervalle quasi linéaire compris entre 5 et 35 minutes, et exprimée en $\text{g}\cdot\text{min}^{-1}$. Les résultats obtenus sont repris dans le tableau 13 et

la figure 20. Les vitesses de fonte obtenues mettent en évidence un effet significatif de la formulation, comme confirmé par l'analyse de variance à un facteur (ANOVA, $p < 0,05$). Le sorbet témoin (blanc) et la formulation contenant 20 g de SCOBY présentent des vitesses de fonte élevées et comparables, sans différence significative entre elles. En revanche, l'augmentation de la teneur en SCOBY à 50 g puis à 100 g s'accompagne d'une diminution progressive et significative de la vitesse de fonte, la formulation à 100 g de SCOBY présentant la valeur la plus faible parmi les formulations enrichies en SCOBY. Les formulations contenant MCC et Stabpur présentent également des comportements cinétiques distincts, avec des vitesses de fonte significativement différentes de certaines formulations à base de SCOBY et du témoin. Le sorbet contenant le stabilisant stabpur a une vitesse de fonte beaucoup plus élevée que le reste des formulations. Globalement, ces résultats mettent en évidence une tendance nette à la diminution de la vitesse de fonte avec l'augmentation de la teneur en SCOBY.

Tableau 13. Vitesse de fonte (g/min) des différentes formulations de sorbets

Formulation	Vitesse de fonte (g·min ⁻¹)	R ²
Blanc	1,05	0,95
20 g SCOBY	0,89	0,92
50 g SCOBY	0,76	0,84
100 g SCOBY	0,59	0,79
MCC	0,91	0,97
Stabpur	1,31	0,95

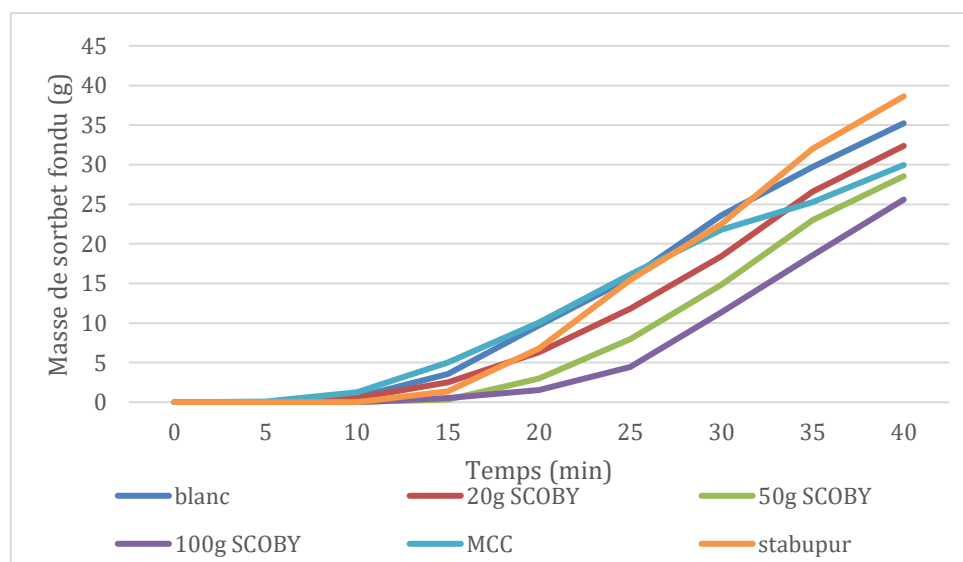


Figure 20. Test de fonte effectué sur les différentes formulations de sorbets (moyenne; $n=3$)

La diminution de la vitesse de fonte observée avec l'incorporation de SCOBY est en accord avec les données de la littérature concernant l'effet de la cellulose bactérienne dans les matrices

aqueuses et les systèmes glacés. La cellulose bactérienne, constituée de microfibrilles de β -1,4-glucane organisées en un réseau tridimensionnel hautement poreux, se caractérise par une capacité élevée de rétention d'eau, attribuée notamment à la densité élevée de groupes hydroxyle favorisant les interactions par liaisons hydrogène avec les molécules d'eau (Gelin et al., 2007 ; Sederavičiūtė et al., 2019 ; Guo et al., 2018). Ces propriétés ont été associées à une limitation de la mobilité de l'eau lors de la décongélation et à un ralentissement de la cinétique de fonte dans des matrices glacées (Guo et al., 2018 ; Mehta et al., 2024).

La comparaison avec les formulations la MCC et le Stabpur mettent en évidence des comportements cinétiques distincts, soulignant que la vitesse de fonte ne dépend pas uniquement de la stabilité finale du produit. Les celluloses, selon leur nature et leur mode d'incorporation, peuvent agir par différents mécanismes, notamment par la formation de réseaux tridimensionnels dans la phase continue ou par des interactions avec les phases présentes dans le système (Costa et al., 2019). Ces mécanismes peuvent limiter la déstructuration globale du produit sans nécessairement induire une réduction proportionnelle de la vitesse de fonte, ce qui pourrait expliquer les différences observées entre les formulations enrichies en SCOBY et celles contenant des stabilisants conventionnels.

Globalement, les résultats obtenus montrent que la formulation influence significativement la vitesse de fonte du sorbet, l'incorporation de SCOBY conduisant à un ralentissement de la cinétique de fonte, tandis que les stabilisants commerciaux induisent des comportements distincts. Ces différences suggèrent des modes d'action différents des agents structurants sur la matrice du sorbet, soulignant l'intérêt de la vitesse de fonte comme paramètre pertinent pour caractériser leur impact fonctionnel.

3. Analyse sensorielle

Les résultats du test hédonique ont été analysés à l'aide d'une approche combinant statistiques descriptives et inférentielles. Dans un premier temps, une analyse statistique globale a été réalisée afin d'évaluer l'effet de la formulation sur les notes attribuées aux différents descripteurs sensoriels. Cette analyse a permis de déterminer si, pour un descripteur donné, au moins une formulation se distinguait des autres. En complément de cette analyse globale, des comparaisons statistiques deux à deux entre les différentes formulations de sorbet ont été effectuées afin de préciser l'origine des différences observées.

Le test sensoriel a été réalisé auprès de 54 participants, qui ont évalué quatre sorbets : un sorbet témoin sans additif (Blanc), un sorbet contenant de la MCC, un sorbet contenant du Stabpur, ainsi qu'un sorbet contenant du Scoby à une concentration de 20 g/L.

Les évaluations ont porté sur des descripteurs de texture, évalués à la cuillère et après dégustation, ainsi que sur l'appréciation globale. Chaque descripteur a été noté sur une échelle discrète allant de 1 à 5.

Les résultats repris dans la figure 21, montrent que, de manière générale, les sorbets sont appréciés de façon comparable, aucune différence significative n'étant observée pour l'appréciation générale entre les formulations. Lors de l'évaluation à la cuillère, aucune différence significative n'est mise en évidence entre les formulations pour l'ensemble des descripteurs évalués. Néanmoins, les comparaisons deux à deux indiquent que le sorbet contenant du Stabpur est perçu comme significativement moins ferme que le sorbet témoin.

Après dégustation, une différence significative est observée pour le descripteur « élastique », le sorbet contenant du Stabpur étant perçu comme plus élastique que les autres formulations. Les comparaisons deux à deux révèlent que seul l'ajout de Stabpur induit des différences sensorielles significatives, caractérisées par une diminution de la fermeté et du caractère fondant, ainsi qu'une augmentation de la crémosité et du caractère élastique ou gélifié en bouche.

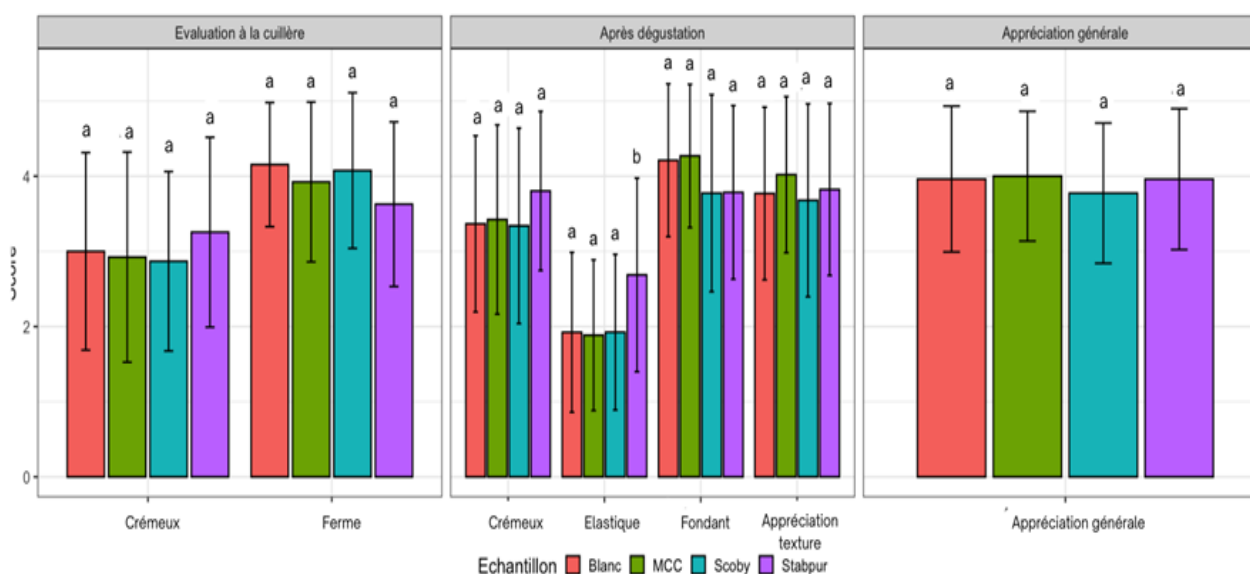


Figure 21. Évaluation hédonique des descripteurs de texture des sorbets en fonction de la formulation (moyenne, +/- écart type)

Les résultats du test hédonique montrent que l'ajout d'agents texturants n'affecte pas significativement l'appréciation globale du sorbet. Cette absence de différence peut s'expliquer par la forte variabilité interindividuelle des réponses dans les tests consommateurs, qui nécessite souvent un grand nombre de participants pour détecter des différences subtiles entre des produits très similaires (Lawless et Heymann et al., 2010).

L'absence de différences significatives entre les formulations pour la majorité des descripteurs peut être attribuée à la forte similarité des matrices évaluées. Dans le cas de produits glacés de composition proche, la discrimination sensorielle est généralement limitée, en particulier lorsqu'elle est réalisée par un panel non entraîné (Lawless et Heymann, 2010). Par ailleurs, la variabilité interindividuelle dans la compréhension et l'interprétation des descripteurs sensoriels contribue à une dispersion accrue des notes attribuées, réduisant la capacité à mettre en évidence des différences statistiquement significatives.

Le sorbet contenant du Stabpur, stabilisant constitué de fibres végétales, se distingue par une augmentation du caractère élastique ou gommeux et de la crémosité perçue. Ces observations sont cohérentes avec les travaux de (Soukoulis et al., 2010), qui mettent en lumière que l'enrichissement des glaces en fibres modifie la structuration du réseau aqueux, la viscosité et la cinétique de fonte, contribuant ainsi à une amélioration de la perception de la texture en bouche et à la stabilité de cristaux de glace en favorisant des cristaux plus fins.

L'absence d'effet significatif observée pour les formulations contenant la MCC et le SCOBY peut s'expliquer par une concentration insuffisante de ces ingrédients pour générer des différences nettement perceptibles dans le cadre d'un test hédonique. En effet, la quantité de MCC incorporée correspond à 20g/L de SCOBY. Concernant le SCOBY, plusieurs études récentes soulignent que les effets sensoriels liés à l'incorporation de cellulose bactérienne dépendent fortement de la concentration, du mode d'incorporation et de la matrice alimentaire considérée (Mehta et al., 2024). Des travaux menés sur des glaces enrichies en SCOBY montrent que, bien que des modifications de texture puissent être détectées, celles-ci ne se traduisent pas systématiquement par une variation significative de l'acceptabilité globale (Mehta et al., 2023).

Une remarque fréquemment formulée par les participants concerne la perception d'un caractère trop sucré de sorbets, observée pour l'ensemble des formulations testées. Selon Wang et al. (2019), la perception de la douceur est modulée par des facteurs sensoriels intrinsèques liés à la matrice alimentaire, notamment la texture, la viscosité, la microstructure et les propriétés de surface. Ces paramètres influencent la dynamique de libération des sucres, leur diffusion dans la salive ainsi que leur interaction avec les récepteurs gustatifs, pouvant conduire à une intensification de la réponse sucrée sans modification de la concentration en sucres (Wang et al., 2019).

La nature glacée du produit constitue une contrainte importante pour l'évaluation sensorielle. Les basses températures et la structure spécifique des matrices glacées réduisent la sensibilité gustative, ce qui complexifie la discrimination des textures et peut masquer certaines différences

entre formulations (Drake et al., 2007). Par ailleurs, bien qu'un protocole rigoureux ait permis de présenter les échantillons dans des conditions standardisées, certains biais expérimentaux peuvent subsister, notamment ceux liés à la durée et aux conditions de conservation à température négative, au temps de préparation des échantillons et aux conditions de dégustation.

Enfin, l'utilisation de tests discriminants, tels que le test de classement ou le test triangulaire, aurait pu être particulièrement pertinente pour augmenter la sensibilité de l'évaluation sensorielle entre des formulations très similaires. Les tests discriminants sont spécifiquement conçus pour déterminer l'existence de différences perceptibles entre des produits, indépendamment de la nature ou de l'intensité des attributs sensoriels concernés (Thomas, 2016), et sont souvent recommandés lorsque les différences entre prototypes sont subtiles et difficiles à détecter par des échelles hédoniques seules (Drake et al., 2023). Le test triangulaire, par exemple, consiste à présenter simultanément trois échantillons — deux identiques et un différent — au paneliste, qui doit identifier celui qui se distingue des deux autres; ce type d'essai est normé et repose sur une analyse statistique fondée sur la loi binomiale pour établir si les réponses dépassent ce qui pourrait être attendu par hasard (Pensé Lhériter, 2008).

Un test de classement sollicite quant à lui les évaluateurs pour ordonner plusieurs échantillons selon l'intensité d'un descripteur donné, offrant une discrimination relative entre formulations (Whelan, 2017).

Cependant, la mise en œuvre de ces méthodes analytiques pour des produits glacés présente des contraintes pratiques importantes. La fonte rapide des échantillons et la difficulté à maintenir un contrôle précis de la température pendant l'évaluation peuvent modifier les caractéristiques texturales perçues et introduire une variabilité supplémentaire, compromettant la validité des réponses des panélistes (Drake et al., 2023). Cette variabilité liée à la dynamique thermique est particulièrement critique pour des produits sensibles aux conditions de service, comme les sorbets ou glaces, où la texture et la perception tactile évoluent rapidement hors de conditions optimales de conservation. De plus, la sensibilité de tests discriminants repose sur des conditions de présentation homogènes et des panels suffisamment entraînés pour minimiser les sources de bruit expérimental (Drake et al., 2023), ce qui n'est pas toujours réalisable dans un contexte d'évaluation avec des consommateurs non entraînés. En conséquence, bien que ces tests auraient pu enrichir l'analyse sensorielle des formulations, leur application pratique peut être limitée par ces défis méthodologiques, réduisant ainsi leur fiabilité et leur utilité dans l'étude de produits glacés.

Contribution personnelle

Dans le cadre de ce travail de fin d'études, l'étudiant a réalisé un état de l'art approfondi portant sur le kombucha, le SCOBY et la cellulose bactérienne, avec un accent particulier sur les protocoles de purification compatibles avec une application alimentaire. Sur cette base, il a identifié et sélectionné des méthodes de purification adaptées, qu'il a mises en œuvre expérimentalement. Il a assuré la production du kombucha, le suivi des temps de fermentation, ainsi que la purification du SCOBY selon différentes conditions de température. L'étudiant a également développé et formulé des sorbets intégrant le SCOBY purifié, en réalisant l'ensemble des essais de formulation nécessaires. Il a conduit les analyses physico-chimiques, structurales et microbiologiques, assuré le traitement statistique des données, réalisé les graphiques et interprété l'ensemble des résultats. Il a en outre conçu, organisé et mis en œuvre l'analyse sensorielle, incluant la préparation des échantillons, l'élaboration des questionnaires, l'organisation logistique des séances et l'encadrement des participants.

Enfin, des outils d'intelligence artificielle ont été utilisés comme aide à la reformulation et à la clarification de certains éléments descriptifs, notamment lors de la rédaction de la section relative aux observations en microscopie électronique à balayage (MEB).

Conclusion et perspectives

Ce travail met en évidence l'influence des conditions de fermentation et des étapes de purification sur les propriétés structurales, microbiologiques et fonctionnelles de la cellulose bactérienne issue du SCOBY, soulignant ainsi son potentiel de valorisation dans des applications alimentaires.

L'étude des paramètres de production du SCOBY montre que la durée de fermentation constitue le facteur prédominant influençant la formation et l'accumulation du biofilm cellulosique. L'augmentation de la masse et de l'épaisseur du SCOBY observée entre 7, 14 et 21 jours traduit la poursuite de l'activité des bactéries acétiques à l'interface air-liquide, où la disponibilité en oxygène favorise la biosynthèse de cellulose. À l'inverse, l'influence de la masse initiale de SCOBY et du pourcentage de jus de repiquage apparaît surtout aux stades intermédiaires, puis tend à s'atténuer lorsque la fermentation se prolonge, au profit d'une variabilité accrue des productions, reflétant la complexité du système biologique étudié.

L'analyse de différents dispositifs de fermentation met également en évidence le rôle clé des modalités d'exposition à l'oxygène dans la formation du SCOBY. La diffusion de l'oxygène à travers les parois des sacs en silicone permet une exposition du biofilm sur ses deux faces, favorisant une croissance plus tridimensionnelle et un épaississement du SCOBY.

La purification du SCOBY apparaît comme une étape déterminante en vue de sa caractérisation et de son utilisation en tant qu'ingrédient alimentaire. Les traitements alcalins et oxydants successifs appliqués s'accompagnent d'une diminution progressive de la masse et d'une modification visuelle marquée du biofilm, traduisant l'élimination de composés non cellulosiques et de résidus microbiens. Dans les conditions étudiées, la purification réalisée à 90 °C conduit à une fraction massique résiduelle plus élevée et à un matériau plus homogène que celle réalisée à 20 °C, suggérant une stabilisation accrue du SCOBY à haute température.

Les analyses physicochimiques et microbiologiques confirment la préservation de la structure caractéristique de la cellulose bactérienne après purification, tout en mettant en évidence une diminution importante de la charge microbienne. Cette réduction du nombre de microorganismes viables, observée pour les deux températures de purification, traduit l'efficacité des traitements appliqués pour l'inactivation et l'élimination des cellules résiduelles issues de la fermentation, constituant un critère clé en vue d'applications alimentaires.

Enfin, l'incorporation d'un SCOBY purifié dans une matrice glacée a permis d'explorer de manière appliquée le potentiel de valorisation alimentaire de ce co-produit du kombucha. Les formulations contenant du SCOBY présentent des modifications de texture et de comportement à la fonte par rapport aux formulations témoins, suggérant des modes d'interaction distincts au sein du système étudié. Les résultats sensoriels indiquent que les sorbets enrichis en SCOBY demeurent

globalement acceptables, confirmant l'intérêt de ce co-produit en tant qu'ingrédient fonctionnel d'origine microbienne.

Les perspectives d'amélioration de ce travail de fin d'étude sont multiples et considèrent plusieurs aspects de la recherche.

Concernant l'optimisation de la production de SCOBY, l'exploration d'autres paramètres de fermentation pourrait être envisagée, tels que la concentration initiale en sucres, la température de fermentation ou encore la composition du milieu fermentaire. Une étude plus approfondie de ces facteurs permettrait de mieux comprendre leur influence sur la formation et la croissance de la cellulose bactérienne. Par ailleurs, l'utilisation de bacs gastronormés pourrait faire l'objet d'investigations complémentaires, avec un nombre plus important de conditions expérimentales, afin de mieux évaluer l'impact de la surface de fermentation et de la géométrie des contenants sur le rendement de production du SCOBY.

En ce qui concerne la purification du SCOBY, le développement de protocoles alternatifs plus durables pourrait être envisagé, notamment par l'utilisation de solvants plus respectueux de l'environnement et par la réduction de la consommation énergétique globale du procédé. En particulier, l'évaluation de solvants plus verts pourrait permettre de limiter l'impact environnemental de la purification tout en conservant une efficacité comparable. Par ailleurs, la détermination d'une masse sèche au sens strict, après un séchage complet, permettrait d'obtenir une estimation plus précise du rendement de purification en matière solide.

La mise en forme du SCOBY sous forme de poudre constitue également une perspective intéressante, tant pour la standardisation du matériau que pour sa valorisation alimentaire. Une telle approche permettrait d'évaluer les propriétés de solubilité, de mouillabilité, de dispersion et le comportement fonctionnel du SCOBY en poudre, ainsi que sa stabilité et sa compatibilité avec différentes matrices alimentaires.

Sur le plan de la caractérisation, l'analyse par microscopie électronique à balayage pourrait être approfondie par la comparaison d'échantillons avant et après purification, ainsi qu'entre différentes conditions de purification, afin de mieux visualiser l'impact des traitements sur la structure du réseau cellulosique.

Enfin, pour la partie incorporation du SCOBY dans une matrice alimentaire, le recours à des analyses sensorielles discriminantes, telles que les tests triangulaires ou les tests de classement, pourrait être envisagé afin d'affiner l'évaluation de l'impact du SCOBY sur les propriétés sensorielles du produit final. L'étude de l'incorporation du SCOBY sous forme de poudre dans une matrice glacée, ainsi que son application dans d'autres matrices alimentaires, permettrait d'élargir les perspectives de valorisation de ce matériau.

Références bibliographiques

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

Marsh, A. J.; Hill, C.; Ross, R. P.; Cotter, P. D. Fermented Beverages with Health-Promoting Potential: Past and Future Perspectives. *Trends in Food Science & Technology* **2014**, *38* (2), 113–124. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.05.002>.

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

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

Dutta, H.; Paul, S. K. *Kombucha* Drink: Production, Quality, and Safety Aspects. In *Production and Management of Beverages*; Grumezescu, A. M., Holban, A. M., Eds.; Woodhead Publishing, **2019**; pp 259–288. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815260-7.00008-0>.

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. Kombucha: A Review of Substrates, Regulations, Composition, and Biological Properties. *Journal of Food Science* **2022**, *87* (2), 503–527. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16029>

Li, S.; Zhang, Y.; Gao, J.; Li, T.; Li, H.; Mastroyannis, A.; He, S.; Rahaman, A.; Chang, K. Effect of Fermentation Time on Physiochemical Properties of Kombucha Produced from Different Teas and Fruits: Comparative Study. *Journal of Food Quality* **2022**, *2022* (1), 2342954. <https://doi.org/10.1155/2022/2342954>.

Kim, J.; Adhikari, K. Current Trends in Kombucha: Marketing Perspectives and the Need for Improved Sensory Research. *Beverages* **2020**, *6* (1), 15. <https://doi.org/10.3390/beverages6010015>.

Martínez Leal, J.; Valenzuela Suárez, Lucía; Jayabalan, Rasu; Huerta Oros, Joselina; and Escalante-Aburto, A. A Review on Health Benefits of Kombucha Nutritional Compounds and Metabolites. *CyTA - Journal of Food* **2018**, *16* (1), 390–399. <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1410499>.

Chakravorty, S.; Bhattacharya, S.; Chatzinotas, A.; Chakraborty, W.; Bhattacharya, D.; Gachhui, R. Kombucha Tea Fermentation: Microbial and Biochemical Dynamics. *International Journal of Food Microbiology* **2016**, *220*, 63–72. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.12.015>.

Laureys, D.; Britton, S. J.; De Clippeleer, J. Kombucha Tea Fermentation: A Review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **2020**, *78* (3), 165–174. <https://doi.org/10.1080/03610470.2020.1734150>.

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

Nyhan, L. M.; Lynch, K. M.; Sahin, A. W.; Arendt, E. K. Advances in Kombucha Tea Fermentation: A Review. *Applied Microbiology* 2022, 2 (1), 73–103. <https://doi.org/10.3390/applmicrobiol2010005>.

Neffe-Skocińska, K.; Sionek, B.; Ścibisz, I.; Kołożyn-Krajewska, D. Acid Contents and the Effect of Fermentation Condition of Kombucha Tea Beverages on Physicochemical, Microbiological and Sensory Properties. *CyTA - Journal of Food* 2017, 15 (4), 601–607. <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1321588>.

Kitwetcharoen, H.; Phung, L. T.; Klanrit, P.; Thanonkeo, S.; Tippayawat, P.; Yamada, M.; Thanonkeo, P. Kombucha Healthy Drink—Recent Advances in Production, Chemical Composition and Health Benefits. *Fermentation* 2023, 9 (1), 48. <https://doi.org/10.3390/fermentation9010048>.

Ojo, A. O.; de Smidt, O. Microbial Composition, Bioactive Compounds, Potential Benefits and Risks Associated with Kombucha: A Concise Review. *Fermentation* 2023, 9 (5), 472. <https://doi.org/10.3390/fermentation9050472>.

Dufresne, C.; Farnworth, E. Tea, Kombucha, and Health: A Review. *Food Research International* 2000, 33 (6), 409–421. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00067-3](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00067-3).

Harrison, K.; Curtin, C. Microbial Composition of SCOBY Starter Cultures Used by Commercial Kombucha Brewers in North America. *Microorganisms* 2021, 9 (5), 1060. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9051060>.

Mousavi, S. M.; Hashemi, S. A.; Zarei, M.; Gholami, A.; Lai, C. W.; Chiang, W. H.; Omidifar, N.; Bahrani, S.; Mazraedoost, S. Recent Progress in Chemical Composition, Production, and Pharmaceutical Effects of Kombucha Beverage: A Complementary and Alternative Medicine. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2020, 2020 (1), 4397543. <https://doi.org/10.1155/2020/4397543>.

Teoh, A. L.; Heard, G.; Cox, J. Yeast Ecology of Kombucha Fermentation. *International Journal of Food Microbiology* 2004, 95 (2), 119–126. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2003.12.020>.

Dartora, B.; Hickert, L. R.; Fabricio, M. F.; Ayub, M. A. Z.; Furlan, J. M.; Wagner, R.; Perez, K. J.; Sant'Anna, V. Understanding the Effect of Fermentation Time on Physicochemical Characteristics, Sensory Attributes, and Volatile Compounds in Green Tea Kombucha. *Food Research International* 2023, 174, 113569. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113569>.

Sievers, M.; Lanini, C.; Weber, A.; Schuler-Schmid, U.; Teuber, M. Microbiology and Fermentation Balance in a Kombucha Beverage Obtained from a Tea Fungus Fermentation. *Systematic and Applied Microbiology* 1995, 18 (4), 590–594. [https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(11\)80420-0](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(11)80420-0).

Laavanya, D.; Shirkole, S.; Balasubramanian, P. Current Challenges, Applications and Future Perspectives of SCOBY Cellulose of Kombucha Fermentation. *Journal of Cleaner Production* 2021, 295, 126454. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.126454>.

De Filippis, F.; Troise, A. D.; Vitaglione, P.; Ercolini, D. Different Temperatures Select Distinctive Acetic Acid Bacteria Species and Promotes Organic Acids Production during Kombucha Tea Fermentation. *Food Microbiology* **2018**, *73*, 11–16. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.01.008>.

Gomes, R. J.; Borges, M. de F.; Rosa, M. de F.; Castro-Gómez, R. J. H.; Spinosa, W. A. Acetic Acid Bacteria in the Food Industry: Systematics, Characteristics and Applications. *Food Technol Biotechnol* **2018**, *56* (2), 139–151. <https://doi.org/10.17113/ftb.56.02.18.5593>.

Shoda, M.; Sugano, Y. Recent Advances in Bacterial Cellulose Production. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **2005**, *10* (1), 1–8. <https://doi.org/10.1007/BF02931175>.

Mishra, S.; Singh, P. K.; Pattnaik, R.; Kumar, S.; Ojha, S. K.; Srichandan, H.; Parhi, P. K.; Jyothi, R. K.; Sarangi, P. K. Biochemistry, Synthesis, and Applications of Bacterial Cellulose: A Review. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **2022**, *10*. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.780409>.

Esa, F.; Tasirin, S. M.; Rahman, N. A. Overview of Bacterial Cellulose Production and Application. *Agriculture and Agricultural Science Procedia* **2014**, *2*, 113–119. <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2014.11.017>.

Huang, Y.; Zhu, C.; Yang, J.; Nie, Y.; Chen, C.; Sun, D. Recent Advances in Bacterial Cellulose. *Cellulose* **2014**, *21* (1), 1–30. <https://doi.org/10.1007/s10570-013-0088-z>.

Choi, S. M.; Rao, K. M.; Zo, S. M.; Shin, E. J.; Han, S. S. Bacterial Cellulose and Its Applications. *Polymers* **2022**, *14* (6), 1080. <https://doi.org/10.3390/polym14061080>.

30. Velásquez-Riaño, M.; Bojacá, V. Production of Bacterial Cellulose from Alternative Low-Cost Substrates. *Cellulose* **2017**, *24* (7), 2677–2698. <https://doi.org/10.1007/s10570-017-1309-7>.

Jayabalan, R.; Malini, K.; Sathishkumar, M.; Swaminathan, K.; Yun, S.-E. Biochemical Characteristics of Tea Fungus Produced during Kombucha Fermentation. *Food Sci Biotechnol* **2010**, *19* (3), 843–847. <https://doi.org/10.1007/s10068-010-0119-6>.

Heinze, T. Cellulose: Structure and Properties. In *Cellulose Chemistry and Properties: Fibers, Nanocelluloses and Advanced Materials*; Rojas, O. J., Ed.; Springer International Publishing: Cham, **2016**; pp 1–52. https://doi.org/10.1007/12_2015_319.

Klemm, D.; Heublein, B.; Fink, H.-P.; Bohn, A. Cellulose: Fascinating Biopolymer and Sustainable Raw Material. *Angewandte Chemie International Edition* **2005**, *44* (22), 3358–3393. <https://doi.org/10.1002/anie.200460587>.

Wang, J.; Tavakoli, J.; Tang, Y. Bacterial Cellulose Production, Properties and Applications with Different Culture Methods – A Review. *Carbohydrate Polymers* **2019**, *219*, 63–76. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.05.008>.

Amarasekara, A. S.; Wang, D.; Grady, T. L. A Comparison of Kombucha SCOBY Bacterial Cellulose Purification Methods. *SN Appl. Sci.* **2020**, *2* (2), 1–7. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-1982-2>.

Koxholt, M. M. R.; Eisenmann, B.; Hinrichs, J. Effect of the Fat Globule Sizes on the Meltdown of Ice Cream. *Journal of Dairy Science* **2001**, *84* (1), 31–37. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74448-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74448-7).

Radocaj, O.; Dimic, E.; Vujasinovic, V. Optimization of the Texture of Fat-Based Spread Containing Hull-Less Pumpkin (*Cucurbita Pepo* L.) Seed Press-Cake. *Acta per tech* 2011, No. 42, 131–143. <https://doi.org/10.2298/APT1142131R>.

Chong, A. Q.; Chin, N. L.; Talib, R. A.; Basha, R. K. Application of Scoby Bacterial Cellulose as Hydrocolloids on Physicochemical, Textural and Sensory Characteristics of Mango Jam. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2025, *105* (1), 285–293. <https://doi.org/10.1002/jsfa.13827>.

Shi, Z.; Zhang, Y.; Phillips, G. O.; Yang, G. Utilization of Bacterial Cellulose in Food. *Food Hydrocolloids* 2014, *35*, 539–545. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.07.012>.

Riquelme, N.; Savignones, C.; López, A.; Zúñiga, R. N.; Arancibia, C.; Riquelme, N.; Savignones, C.; López, A.; Zúñiga, R. N.; Arancibia, C. Effect of Gelling Agent Type on the Physical Properties of Nanoemulsion-Based Gels. *Colloids and Interfaces* 2023, *7* (3). <https://doi.org/10.3390/colloids7030049>.

Mehta, A.; Kumar, L.; Serventi, L.; Morton, J. D.; Torrico, D. D. Bacterial Cellulose Infusion: A Comprehensive Investigation into Textural, Tribological and Temporal Sensory Evaluation of Ice Creams. *International Journal of Biological Macromolecules* 2024, *281*, 136510. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.136510>.

Guo, Y.; Zhang, X.; Hao, W.; Xie, Y.; Chen, L.; Li, Z.; Zhu, B.; Feng, X. Nano-Bacterial Cellulose/Soy Protein Isolate Complex Gel as Fat Substitutes in Ice Cream Model. *Carbohydrate Polymers* 2018, *198*, 620–630. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.06.078>.

Gelin, K.; Bodin, A.; Gatenholm, P.; Mihranyan, A.; Edwards, K.; Strømme, M. Characterization of Water in Bacterial Cellulose Using Dielectric Spectroscopy and Electron Microscopy. *Polymer* 2007, *48* (26), 7623–7631. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2007.10.039>.

Sederavičiūtė, F.; Bekampienė, P.; Domskienė, J. Effect of Pretreatment Procedure on Properties of Kombucha Fermented Bacterial Cellulose Membrane. *Polymer Testing* 2019, *78*, 105941. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2019.105941>.

Costa, C.; Medronho, B.; Filipe, A.; Mira, I.; Lindman, B.; Edlund, H.; Norgren, M.; Costa, C.; Medronho, B.; Filipe, A.; Mira, I.; Lindman, B.; Edlund, H.; Norgren, M. Emulsion Formation and Stabilization by Biomolecules: The Leading Role of Cellulose. *Polymers* 2019, *11* (10). <https://doi.org/10.3390/polym11101570>.

Lawless, H. T.; Heymann, H. *Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices*; Springer Science & Business Media, 2010.

Soukoulis, C.; Lebesi, D.; Tzia, C. Enrichment of Ice Cream with Dietary Fibre: Effects on Rheological Properties, Ice Crystallisation and Glass Transition Phenomena. *Food Chemistry* **2009**, *115* (2), 665–671. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.070>.

Mehta, A.; Serventi, L.; Kumar, L.; Torrico, D. D.; Mehta, A.; Serventi, L.; Kumar, L.; Torrico, D. D. The Scoop on SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast): Exploring Consumer Behaviours towards a Novel Ice Cream. *Foods* **2023**, *12* (17). <https://doi.org/10.3390/foods12173152>.

Drake, M. A. Invited Review: Sensory Analysis of Dairy Foods. *Journal of Dairy Science* **2007**, *90* (11), 4925–4937. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0332>.

AL-Kalifawi, E. J.; Hassan, I. A. Factors Influence on the Yield of Bacterial Cellulose of Kombucha (Khubdat Humza). *Baghdad Sci.J* **2014**, *11* (3), 1420–1428. <https://doi.org/10.21123/bsj.2014.11.3.1420-1428>.

Priyadharshini, T.; Nageshwari, K.; Vimaladhasan, S.; Parag Prakash, S.; Balasubramanian, P. Machine Learning Prediction of SCOBY Cellulose Yield from Kombucha Tea Fermentation. *Bioresource Technology Reports* **2022**, *18*, 101027. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.101027>.

Ruka, D. R.; Simon, G. P.; Dean, K. M. Altering the Growth Conditions of *Gluconacetobacter Xylinus* to Maximize the Yield of Bacterial Cellulose. *Carbohydrate Polymers* **2012**, *89* (2), 613–622. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.03.059>.

Setyaningsih, W.; Warni, W. O. R. S.; Larasati, I. D.; Yanti, R.; Utami, T. Bioprocess Strategies for Maximizing SCOBY Growth and Evaluating Fermentation Dynamics on Phenolic Content and Antioxidant Activity in Roselle-Based Kombucha. *Phytomedicine Plus* **2025**, *5* (2), 100791. <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2025.100791>.

Gomez-Maldonado, D.; González Rodríguez, D.; Valdés Rivera, M.; Zerón Pontones, M.; Ulin, E.; Viguera-Ramírez, G.; Hernández-Guerrero, M. Biodegradability of SCOBY-Derived Bacterial Cellulose Affected by Purification Methods. *Mater. Res. Express* **2025**, *12* (5), 055403. <https://doi.org/10.1088/2053-1591/add4cb>.

Chaussé, J.; Girard, V.-D.; Perron, T.; Challut, T.; Vermette, P. Characterization of Bacterial Cellulose Produced by the KomEt Strain Isolated from a Kombucha SCOBY. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* **2024**, *58*, 103172. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2024.103172>.

Nam, Y.; Lee, J.; Kim, S. R.; Kim, J. N. Isolation and Purification of Antibacterial Compound from Kombucha of SCOBY. *J Microbiol Biotechnol* **2025**, *35*, e2504012. <https://doi.org/10.4014/jmb.2504.04012>.

Tanveer, J.; Banerjee, D.; Dey, B.; Sahu, D.; Sivaraman, J.; Jarzebski, M.; Flores, F.; Kim, D.; Kim, H.; Balasubramanian, P.; Pal, K. Selected Materials Techniques for Evaluation of Attributes of Sourdough Bread with Kombucha SCOBY. *REVIEWS ON ADVANCED MATERIALS SCIENCE* **2025**, *64* (1). <https://doi.org/10.1515/rams-2025-0133>.

El-Shall, F. N.; Al-Shemy, M. T.; Dawwam, G. E. Multifunction Smart Nanocomposite Film for Food Packaging Based on Carboxymethyl Cellulose/Kombucha SCOBY/Pomegranate Anthocyanin Pigment. *International Journal of Biological Macromolecules* **2023**, *242*, 125101. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125101>.

Kruer-Zerhusen, N.; Cantero-Tubilla, B.; Wilson, D. B. Characterization of Cellulose Crystallinity after Enzymatic Treatment Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR). *Cellulose* **2018**, *25* (1), 37–48. <https://doi.org/10.1007/s10570-017-1542-0>.

Chawla, P. R.; Bajaj, I. B.; Survase, S. A.; Singhal, R. S. Microbial Cellulose: Fermentative Production and Applications. **2009**.

Daus, F.; Montroni, D.; Pesavento, L.; Bruschi, M.; Liguori, A.; Focarete, M. L. Influence of the Thickness of Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast on Purification and Final Properties of Bacterial Cellulose. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications* **2025**, *9*, 100645. <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2024.100645>.

Dima, S.-O.; Panaitescu, D.-M.; Orban, C.; Ghiurea, M.; Doncea, S.-M.; Fierascu, R. C.; Nistor, C. L.; Alexandrescu, E.; Nicolae, C.-A.; Trică, B.; Moraru, A.; Oancea, F. Bacterial Nanocellulose from Side-Streams of Kombucha Beverages Production: Preparation and Physical-Chemical Properties. *Polymers* **2017**, *9* (8), 374. <https://doi.org/10.3390/polym9080374>.

Drake, M. A.; Watson, M. E.; Liu, Y. Sensory Analysis and Consumer Preference: Best Practices. *Annual Review of Food Science and Technology* **2023**, *14* (Volume 14, 2023), 427–448. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-060721-023619>.

Pensé-Lhéritier, A.-M. L'analyse sensorielle et l'univers cosmétique.

Thomas, A. Analyse Sensorielle Temporelle Descriptive et Hédonique. Theses, Université de Bourgogne, 2016. <https://theses.hal.science/tel-01466921>

Whelan Victoria J. Ranking Test. In *Discrimination Testing in Sensory Science*; Woodhead Publishing, 2017; pp 237–265. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101009-9.00012-5>.

Li, Z.; Hu, W.; Dong, J.; Azi, F.; Xu, X.; Tu, C.; Tang, S.; Dong, M. The Use of Bacterial Cellulose from Kombucha to Produce Curcumin Loaded Pickering Emulsion with Improved Stability and Antioxidant Properties. *Food Science and Human Wellness* **2023**, *12* (2), 669–679. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2022.07.069>.

Ullah, H.; Santos, H. A.; Khan, T. Applications of Bacterial Cellulose in Food, Cosmetics and Drug Delivery. *Cellulose* **2016**, *23* (4), 2291–2314. <https://doi.org/10.1007/s10570-016-0986-y>.

Suffys, S.; Goffin, D.; Richard, G.; Francis, A.; Haubruge, E.; Fauconnier, M.-L.; Suffys, S.; Goffin, D.; Richard, G.; Francis, A.; Haubruge, E.; Fauconnier, M.-L. Unveiling the Aromas and Sensory Evaluation of Hakko Sobacha: A New Functional Non-Dairy Probiotic Fermented Drink. *Molecules* **2023**, *28* (16). <https://doi.org/10.3390/molecules28166084>.

Annexes

Annexe 1 Questions du formulaire d'analyse sensorielle

Evaluation à la cuillère et à l'oeil

- Crémeux : Est-ce que la texture à la cuillère est crémeuse ?

Pas du tout d'accord, Pas d'accord, Neutre, D'accord, Tout à fait d'accord

- Ferme : Est-ce que la texture à la cuillère est ferme ?

Pas du tout d'accord, Pas d'accord, Neutre, D'accord, Tout à fait d'accord

Après dégustation

- Fonte : Est-ce que le sorbet fond facilement en bouche ?

Pas du tout d'accord, Pas d'accord, Neutre, D'accord, Tout à fait d'accord

- Crémeux : Est-ce que le sorbet est crémeux en bouche ?

Pas du tout d'accord, Pas d'accord, Neutre, D'accord, Tout à fait d'accord

- Elastique / Gommeux : Est-ce que la texture du sorbet est élastique ou gommeuse comme du chewing-gum ?

Pas du tout d'accord, Pas d'accord, Neutre, D'accord, Tout à fait d'accord

- Texture : Est-ce que la texture en bouche est agréable ?

Pas du tout d'accord, Pas d'accord, Neutre, D'accord, Tout à fait d'accord

Appréciation générale

Très désagréable, Désagréable, Neutre, Agréable, Très agréable

Annexe 2 Données brutes se référant aux masses de SCOPY

Tableau additionnel 1. Masses de SCOPY

F1	J7	46	38	43
	J14	69,53	72,12	61,92
	J21	95,45	111,33	97,42
F2	J7	33,5	35,5	35
	J14	52	56	54
	J21	171,17	191,1	120,81
F3	J7	43	34,82	36,18
	J14	55,52	54,24	54,89
	J21	110	120,05	153,60

Tableau additionnel 2. Moyennes et écart-types des masses de SCOPY en variant le temps de fermentation.

		Moyenne	Ecart type
F1	J7	42,33	4,04
	J14	67,86	5,30
	J21	101,40	8,66
F2	J7	34,67	1,04
	J14	54,00	2,00
	J21	161,03	36,23
F3	J7	38,00	4,38
	J14	54,88	0,64
	J21	127,88	22,83

Tableau additionnel 3. Masses de SCOBY

SCOBY initial (g)	SCOBY produit (g)		
10	151,17	171,1	110,81
20	200,52	213,79	210
30	250,1	168,44	166,67

Tableau additionnel 4. Moyennes et écart types masses de SCOBY

SCOBY initial (g)	Moyenne	Ecart type
10g	144,36	30,72
20g	208,10	6,84
30g	195,07	47,67

Annexe 3 Analyse FTIR du SCOBY

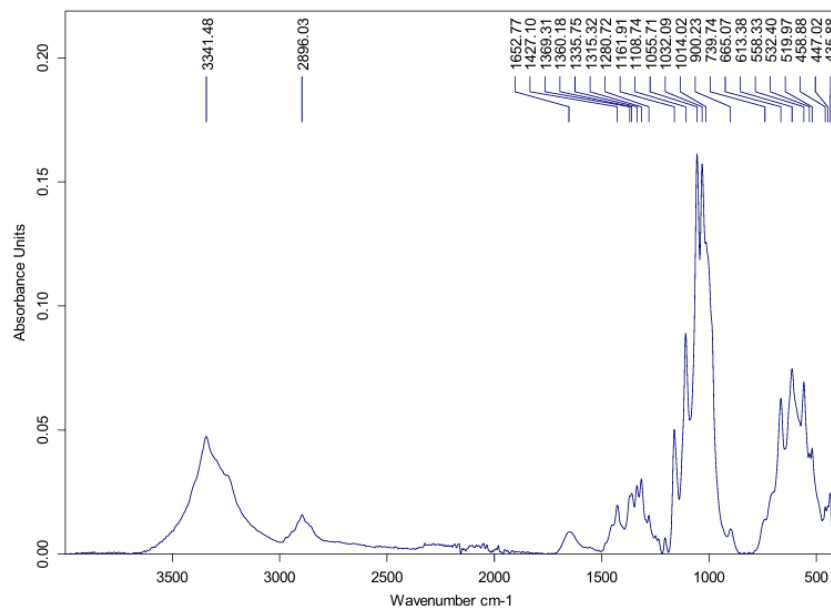


Figure 22. Analyse FTIR du SCOBY J7 purifié à 20 °C

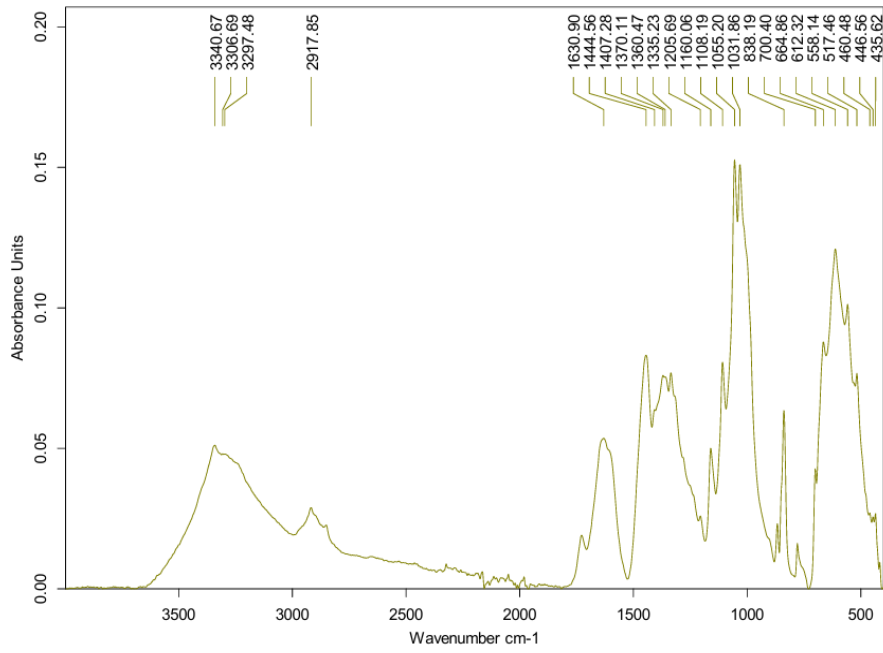


Figure 23. Analyse FTIR du SCOBY J14 purifié à 20°C

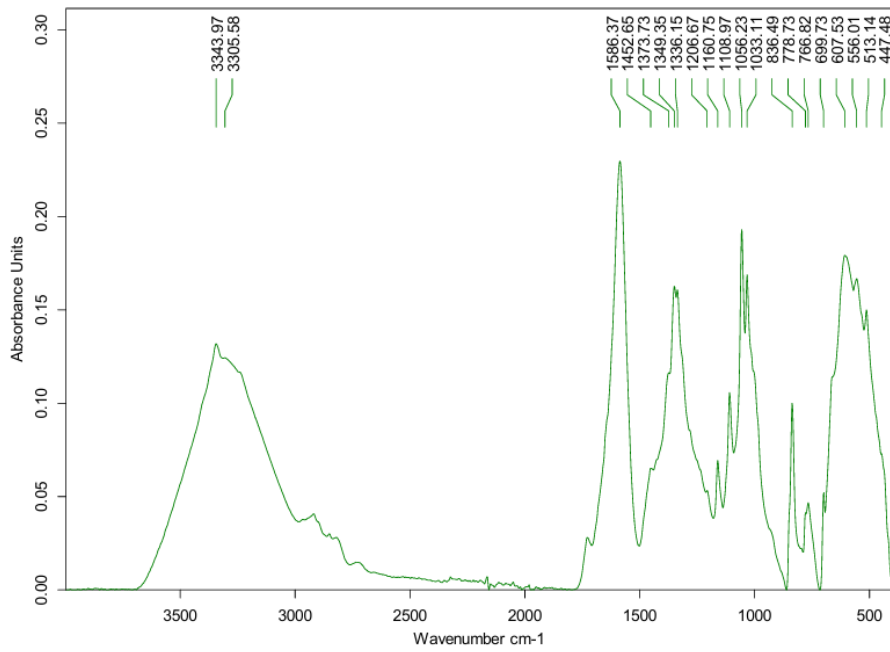


Figure 24. Analyse FTIR sur SCOBY J21 purifié à 20°C

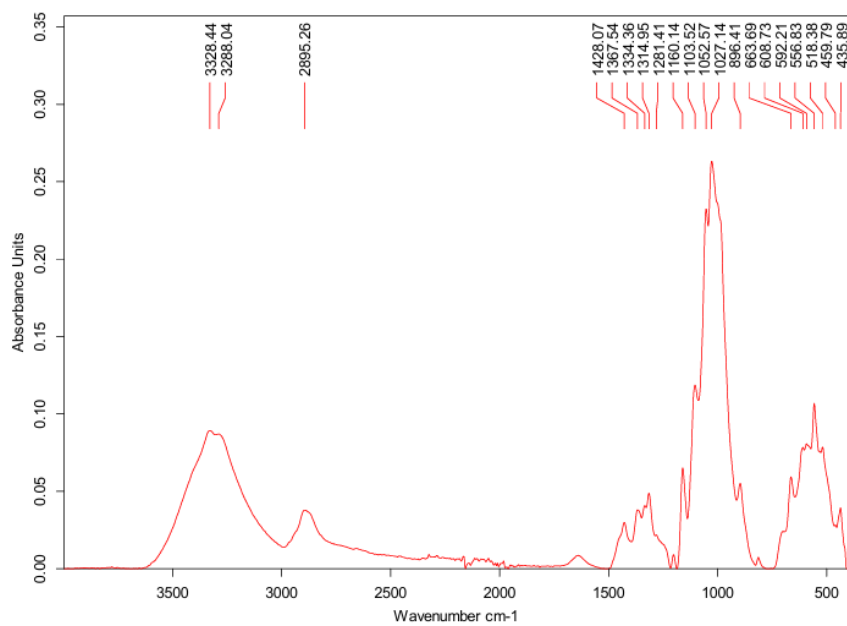


Figure 25. Analyse FTIR sur MCC

Annexe 4 la capacité d'absorption d'eau du SCOBY

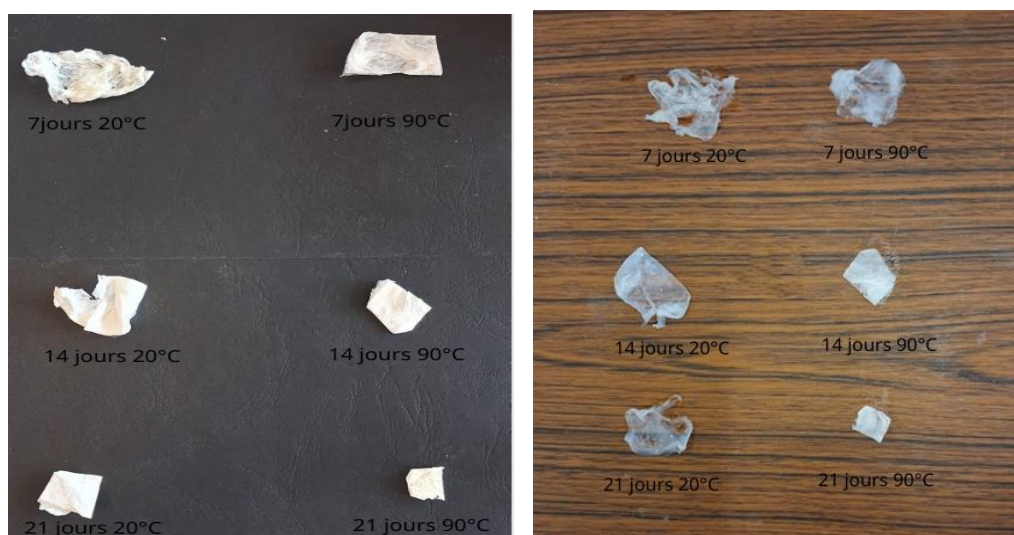


Figure 26. Aspect de SCOBY avant et après test d'absorption d'eau

Annexe 5 Analyses Microbiologiques

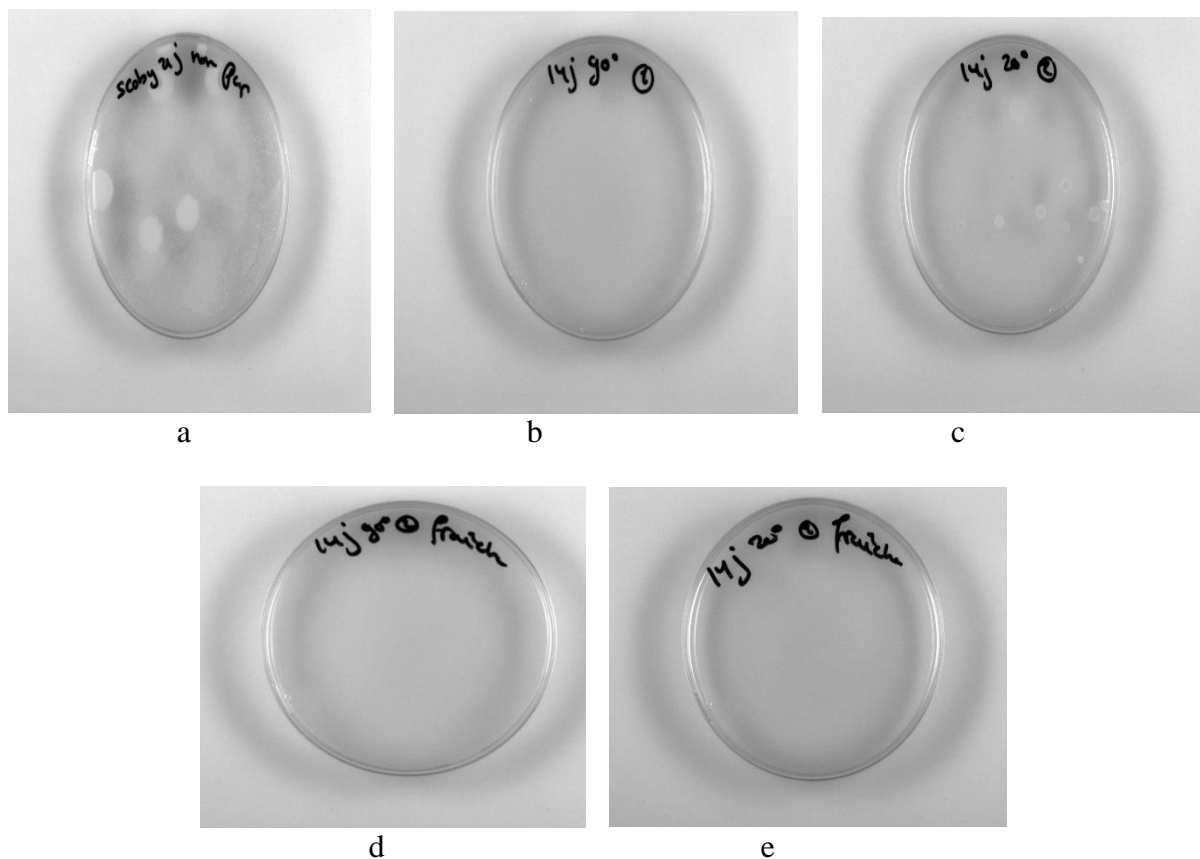


Figure 27. (a) SOBY J21 non purifié (b) SCOBY J14 purifié à 90°C lyophilisé (c) SCOBY J14 jours purifié à 20°C lyophilisé (d) SCOBY J14 purifié à 90°C frais (e) purifié à 20°C frais

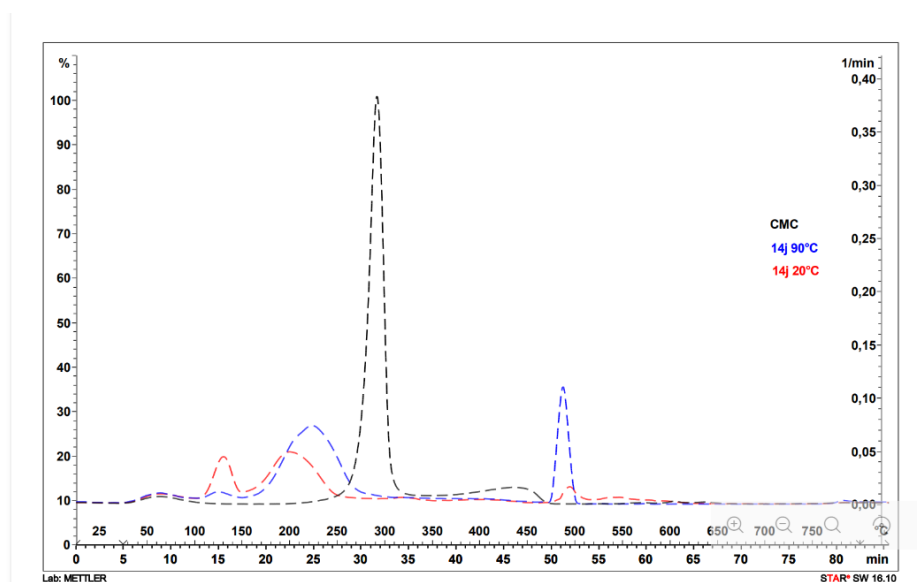


Figure 28. Analyse thermogravimétrique dérivée: comparaison des profils de dégradation thermique du SCOBY J14 purifié à (20 °C vs 90 °C) et de la MCC