



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Ecole Nationale Supérieure Agronomique
Département : Technologie Alimentaire
Spécialité : Elaboration et qualité des aliments

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة
القسم : التكنولوجيا الغذائية

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme De Master

THEME

Kéfir d'hibiscus (*Hibiscus sabdariffa*) : Elaboration et optimisation de la fermentation

Présenté par : **MENNAS Selma** Soutenu publiquement le : 10 / 07 / 2025

BENLAKEHAL Haifaa

Devant le jury composé de :

Président : Mr. HAZZIT Mohamed Pr, ENSA

Promotrice : Mme. AOUIR Amel MCB, ENSA

Examinatrices : Mme. EL AICHAR Fairouz MCB, ENSA

Mme. IDDIR Anissa MCB, ENSA

Promotion : 2020-2025

Sommaire :

Introduction	1
Partie I : Etude bibliographique	
Chapitre I : Généralité sur les aliments fonctionnels.....	3
1. Définition de l'aliment fonctionnel.....	3
2. Origine des aliments fonctionnels.....	3
3. Catégories des aliments fonctionnels.....	4
3.1. Aliments fonctionnels conventionnels.....	4
3.2. Aliments fonctionnels modifiés	4
4. Classification des aliments fonctionnels.....	4
4.1. Produits alimentaires enrichis.....	5
4.2. Aliments libérés pour contrer les composés anti-nutritionnels.....	5
4.3. Matières premières alimentaires améliorées	5
4.4. Aliments nouveaux avec des bénéfices pour la santé améliorés.....	5
5. Bienfaits des aliments fonctionnels	5
Chapitre II : Les boissons fermentées.....	7
1. Les aliments fermentés.....	7
1.1. La fermentation.....	7
1.2. Les aliments fermentés.....	7
1.3. Les boissons fermentées.....	7
1.3.1. Boissons fermentées non lactiques.....	8
1.3.2. Boissons fermentées lactiques.....	11
Chapitre III : Généralité sur le kéfir.....	14
1. kéfir.....	14
2. Types de kéfir.....	14
2.1. Kéfir lactique.....	14
2.2. Kéfir de fruit.....	15
3. Grains de kéfir	16

3.1. Structure des grains de Kéfir.....	16
3.2. Conservation des grains de Kéfir d'eau.....	17
4. Composition des grains de kéfir.....	17
4.1. Composition chimique.....	17
4.2. Composition minérale.....	18
4.3. Composition en vitamine.....	18
4.4. Composition microbiologique	19
5. Propriétés biologiques du Kéfir.....	19
5.1. Propriété hyper-tensive.....	19
5.2. Propriété anticancéreuse.....	20
5.3. Propriété antidiabétique.....	20
5.4. Propriété antimicrobienne.....	20
5.5. Propriété anti-oxydante.....	20
6. Produits commerciaux à base de Kéfir.....	21
Chapitre VI : Généralités sur la plante d'<i>Hibiscus sabdariffa</i>.....	22
1. Répartition géographique de la plante.....	22
2. Classification.....	22
2.1. Nom vernaculaire	22
2.2. Classification phylogénique.....	22
3. Description botanique.....	23
4. Intérêt nutritionnel.....	24
5. Différentes utilisations	24
5.1. Usages médicinales.....	24
5.1.1. Activité anticancéreuse	24
5.1.2. Activité anti-obésité.....	25
5.1.3. Activité anti-diabétique	25
5.1.4. Activité anti-anémique.....	25
5.1.5. Activité anti-hypertensive	25
5.2. Usages alimentaires	26
6. Méthode d'extractions des composés bioactifs <i>Hibiscus sabdariffa</i>	26
6.1. Infusion.....	26
6.2. Extraction assistée par micro-onde.....	27

6.3. Extraction par macération	27
6.4. Extraction par les solvants DES et NADES.....	28
6.4.1. Les solvants DES.....	28
6.4.2. Les solvants NADES.....	29
6.5. Méthode de Soxhlet.....	29

Partie II : Etude expérimentale

Chapitre I : Matériels et méthodes.....32

1. Analyses phytochimiques de l'*Hibiscus sabdariffa*32

1.1. Matériel végétal.....	32
1.2. Détermination de la teneur en matière séchés.....	32
1.3. Méthodes d'extraction des anthocyanines.....	33
1.3.1. Extraction par solvants eutectiques.....	33
1.3.2. Extraction par la méthode de Soxhlet.....	35
1.3.3. Extraction par décoction.....	36
1.3.4. Extraction par infusion.....	37
1.4. Dosage des anthocyanes	37
1.5. Dosage de l'acide ascorbique vitamine C.....	40
1.5.1. Dosage iodométrique de l'acide ascorbique.....	40
1.6. Dosage des polyphénols totaux.....	42
1.7. Dosage des flavonoïdes.....	43
1.8. Evaluation de l'activité anti-oxydante.....	44
1.8.1. Evaluation de l'activité antiradicalaire par le test de DPPH.....	44
1.8.2. Mesure du pouvoir réducteur par la méthode ABTS	45

2. Optimisation du Kéfir d'*hibiscus*.....47

2.1. Essais préliminaires.....	47
2.1.1. Préparation du Kéfir d' <i>hibiscus</i>	47
2.1.2. Analyse microbiologique.....	48
2.1.2.1. Analyse des levures et moisissures.....	48
2.1.2.2. Analyse des bactéries lactiques.....	49
2.1.3. Analyse de l'activité antiradicalaire du kéfir.....	50
2.2. L'optimisation de la fermentation du kéfir d' <i>hibiscus</i>	50
2.2.1. Méthodes d'analyses des réponses.....	52

2.2.1.1.	Analyse de l'activité anti-oxydante des essais.....	52
2.2.1.2.	Dénombrement des <i>Lactobacilles</i>	52
2.2.1.3.	Mesure du pH.	53
2.2.1.4.	Acceptabilité.....	53
3.	Formulation d'un kéfir de fruit à base d'<i>hibiscus</i>.....	54
3.1.	Analyse sensorielle.....	54
3.2.	Analyses phytochimiques	55
3.2.1.	Analyse de l'activité anti-radicalaire.....	55
3.2.2.	Dosage des Anthocyanes.....	55
3.3.	Analyses microbiologique (test de salubrité).....	55
3.3.1.	Dénombrement des bactéries lactiques.....	56
3.3.2.	Dénombrement de la Flore Mésophile aérobie totale (FMAT).....	56
3.3.3.	Recherche de <i>Staphylococcus aureus</i>	57
3.3.4.	Recherche des Enterobacteriaceae.....	58
4.	Analyses statistiques.....	60
 Chapitre II : Résultats et discussions.....		61
1.	Résultats des analyses phytochimique de l'<i>Hibiscus sabrariffa</i>.....	61
1.1.	Résultat de la détermination de la teneur en matière sèche.....	61
1.2.	Résultats de l'extraction des anthocyanines.....	61
1.2.1.	Extraction par les solvants eutectiques profonds (NADES et DES).....	61
1.2.2.	Extraction par Soxhlet.....	62
1.3.	Résultats du dosage d'anthocyanes.....	64
1.4.	Résultat du dosage de la vitamine C.....	64
1.5.	Résultat de l'évaluation de l'activité anti-radicalaire des différents extraits.....	66
1.5.1.	Résultat de l'activité anti oxydante de l'extrait éthanolique.....	66
1.5.2.	Résultat de l'activité anti oxydante de l'extrait obtenue par décoction.....	68
1.6.	Résultat de la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes des calices.....	68
2.	Résultats de l'optimisation du kéfir d'<i>hibiscus</i>	70
2.1.	Résultats des essais préliminaires.....	70
2.1.1.	Analyses microbiologiques.....	70
2.1.2.	Analyses de l'activité anti-oxydante du kéfir.....	71
2.2.	Résultats de l'optimisation du kéfir d' <i>hibiscus</i>	72

2.2.1. Résultats de la modélisation des paramètres de réponse.....	73
2.2.1.1. Résultats de la modélisation de l'activité anti oxydante (DPPH).....	73
2.2.1.2. Résultats de la modélisation des <i>Lactobacilles</i>	83
2.2.1.3. Résultats de la modélisation de la réponse pH	93
2.2.1.4. Résultats de la modélisation de la réponse acceptabilité.....	101
3. Résultats de la formulation d'un kéfir de fruit à base d'<i>Hibiscus</i>.....	110
3.1. Résultats de l'analyse sensorielle.....	110
3.1.1. Kéfir d' <i>Hibiscus sabdariffa</i> enrichi à la fraise (E1).....	111
3.1.2. Kéfir d' <i>Hibiscus sabdariffa</i> enrichi en nectarine (E2).....	112
3.1.3. Témoin (E3).....	113
3.2. Résultats des analyses phytochimiques.....	115
3.2.1. Analyse de l'activité anti-radicalaire du kéfir enrichi.....	115
3.2.2. Analyse du taux d'anthocyanes du kéfir enrichi à la nectarine.....	116
3.3. Résultats de l'analyse microbiologique (test de salubrité).....	116
Conclusion.....	120

Résumé :

Cette étude vise à développer une boisson fonctionnelle à base de kéfir d'eau enrichi en *Hibiscus sabdariffa*, en optimisant la fermentation afin d'obtenir un produit probiotique, antioxydant, et apprécié sensoriellement.

Le travail s'est articulé autour de trois étapes principales. La première a consisté à caractériser phytochimiquement les calices d'*hibiscus*, confirmant leurs richesses en composés bioactifs tels que les anthocyanes, flavonoïdes, polyphénols et vitamine C.

La deuxième étape, dédiée à l'optimisation de la fermentation, a débuté par une étude préliminaire, suivie de l'application d'un plan Box-Behnken évaluant l'effet de trois facteurs (taux d'*hibiscus*, grains de kéfir, durée de fermentation) sur l'activité anti-oxydante, le pH, le taux de *Lactobacillus* et l'acceptabilité sensorielle. Cette démarche a permis d'identifier un échantillon optimal.

Enfin, dans la formulation finale, cet échantillon a été enrichi avec de la fraise et de la nectarine. L'analyse sensorielle, suivie d'une ACP, a désigné l'échantillon à la nectarine comme le plus apprécié. Celui-ci a présenté une activité anti-oxydante finale de 37,50 % à 800 mg/L, et une teneur en anthocyanes de 20,73 mg/L. Les analyses microbiologiques ont révélé l'absence totale de germes pathogènes (*Salmonella*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*) et une concentration en *Lactobacillus* de $2,40 \times 10^7$ UFC/mL, confirmant la salubrité et la qualité probiotique de la boisson.

Mots clés : Kéfir, *Hibiscus sabdariffa*, optimisation, aliment fonctionnel, fermentation

Abstract:

This work aims to develop a functional beverage based on water kefir enriched with *Hibiscus sabdariffa*, by optimizing the fermentation process to obtain a probiotic, antioxidant and sensorially appreciated product.

The work was structured into three main stages. The first consisted of a phytochemical characterization of hibiscus calyces, confirming their richness in bioactive compounds such as anthocyanins, flavonoids, polyphenols, and vitamin C.

The second stage, dedicated to fermentation optimization, began with a preliminary study, followed by the application of a Box-Behnken design evaluating the effect of three factors (hibiscus concentration, kefir grains, and fermentation time) on antioxidant activity, pH, Lactobacillus count, and sensory acceptability. This approach led to the identification of an optimal sample.

Finally, in the final formulation, this sample was enriched with strawberry and nectarine. Sensory analysis, followed by a principal component analysis (PCA), identified the nectarine-enriched sample as the most appreciated. This sample showed a final antioxidant activity of 37.50% at 800 mg/L and an anthocyanin content of 20.73 mg/L. Microbiological analyses revealed the complete absence of pathogenic germs (*Salmonella*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*) and a Lactobacillus concentration of 2.40×10^7 CFU/mL, confirming the safety and probiotic quality of the beverage.

Key words: Kefir, *Hibiscus sabdariffa*, optimization, functional food, fermentation

الملخص:

الكفير المائي هو مشروب مخمر غني بالبروبيوتيك، ويُعرف بتأثيراته المفيدة على صحة الجهاز الهضمي والمناعة. هدفت هذه الدراسة إلى تطوير مشروب وظيفي يعتمد على الكفير المائي المُعزَّز بـ (الكرديه)، وهو نبات يتمتع بخصائص مضادة للأكسدة وقيم غذائية عالية، وذلك من خلال تحسين عملية التخمير للحصول على منتج بروبيوتيكي، مضاد للأكسدة، مستقر ميكروبيولوجياً، ومرغوب حسيًا.

تم تقسيم العمل إلى ثلاث مراحل رئيسية المرحلة الأولى تمثلت في التحليل الكيميائي النباتي لكؤوس الكركديه، وقد أكدت هذه المرحلة غناه بالمركبات النشطة بيولوجيًا مثل الأنثوسيانين، الفلافونويدات، البوليفينولات، وفيتامين س.

أما المرحلة الثانية فركزت على تحسين التخمير، حيث بدأت بدراسة تمهيدية، تلتها تطبيق لتصميم (بوكس-بينكن) الذي قِيم تأثير ثلاثة عوامل (تركيز الكركديه، كمية حبوب الكفير، ومدة التخمير) على النشاط المضاد للأكسدة، درجة الحموضة، عدد بكتيريا اللاكتوباسيلوس، والقبول الحسي. وقد أدى هذا النهج إلى تحديد العينة المثلى.

أخيرًا، في التركيبة النهائية، تم إثراء هذه العينة بالفراولة والنكتارين. أظهرت التحاليل الحسية، التي تلتها تحليل المكونات، أن العينة المعززة بالنكتارين كانت الأكثر قبولًا. وقد أظهرت هذه العينة نشاطًا مضادًا للأكسدة بلغ (PCA) الرئيسية 37.50% عند تركيز 800 ملغم/لتر، ومحتوى أنثوسيانين بلغ 20.73 ملغم/لتر. كما كشفت التحاليل الميكروبيولوجية عن الغياب التام للجراثيم الممرضة (السالمونيلا، إيشيريشياكولاي، المكورات العنقودية الذهبية)، وبلغ تركيز، مما يؤكد سلامة وجودة المشروب من الناحية البروبيوتيكية 2.40×10^7 CFU/mL اللاكتوباسيلوس

الكلمات المفتاحية: الكفير، الكركديه، التحسين، غذاء وظيفي، التخم