

**République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de
l'Enseignement
Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques**



**Mémoire de Master en Biochimie de la Nutrition
Filière : Sciences Alimentaires
Spécialité : Biochimie de la Nutrition**

Thème

**Essai de fabrication d'un kéfir de
lait en suivant deux temps de
fermentation**

Réalisé par : Mlle. Akli Yasmine

Mlle. Ould Saadi Lamia

Soutenues devant les jurys :

Président : Mr. Houali K.	Professeur	UMMTO
Promotrice : Mme. Ouali Abdoune S.	Maitre assistante « A »	UMMTO
Examineur : Mr. Moualek I.	Maitre de conférences « A »	UMMTO

Promotion 2023

Avant toute chose, on tient à remercier Allah Le Tout miséricordieux

L'expression profonde de gratitude à notre cher professeur et encadrante Madame Ouali Abdoune Samia pour son suivi, pour le temps qu'elle a consacré, pour les précieuses informations qu'elle nous a prodiguées avec intérêt et compréhension et pour son énorme soutien qu'elle n'a cessé de nous prodiguer tout au long de l'année.

On adresse aussi nos vifs remerciements aux membres des jurys pour avoir bien voulu examiner et juger ce travail.

Nos remerciements vont aux ingénieurs de laboratoire commun 2 mesdames Tabet et Taleb, et à tous les ingénieurs de laboratoire de biochimie pour leur aide et leurs précieux conseils et pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre stage.

Enfin, on ne peut pas oublier les enseignants de la faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques de l'université Mouloud Mammeri où était le début de notre chemin scientifique. On les remercie sincèrement de nous avoir donné ce niveau d'ingénieur, ce niveau qui a constitué nos véritables appuis et nos supports durant ce travail et il le fera le long de notre chemin professionnel.

Dédicace
Au nom du dieu le tout puissant
J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail

A ma très chère maman *Farida*, autant de phrases aussi expressives sans elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Je sais combien tu as sacrifié juste pour me donner un brillant avenir, je connais les nombreuses nuits que tu n'as pas dormi, les nombreuses vacances que tu n'as pas prises et les nombreuses choses que tu n'as pas achetées pour que je puisse avoir la vie que j'ai en ce moment. J'apprécie tout ce que tu fais pour moi maman, ce travail est un témoin de ta patience.

A mon très cher père *Amara*, tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse, je tiens à honorer l'homme que tu es. Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension... Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que tu as déployés pour mon éducation et ma formation. Je t'aime papa et j'implore le tout-puissant pour qu'il t'accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse

A mon cher frère *Ahmed*, a tous les moments d'enfance passés avec toi mon frère, en gage de ma profonde estime pour l'aide que tu m'as apporté. Tu m'as soutenu, réconforté et encouragé. Puissent nos liens fraternels se consolider et se pérenniser encore plus.

A mes deux petites sœurs *Zehoua* et *Melina*, mes petits anges qui connaissent comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille, je vous aime très fort.

Un très grand merci pour *Loucif*, je n'aurai pas assez de mots pour t'exprimer mes sentiments de reconnaissances pour ta disponibilités ta serviabilité et ta patience tout au long de ma vie.

A mes amis *Yasmine Lakrib*, *Sara*, *Katia*, ma binôme *Yasmine*, je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs sur qui je peux compter. En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur. Un grand merci pour ma meilleur amie *Ferroudja* pour ses conseils et son soutien inconditionnels.

Lamia

Dédicace

Je dédie ce noble travail à mes parents qui ont sacrifié pour ma réussite, qui m'ont soutenu tout au long de mon parcours scolaire et qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui, c'est avec une grande fierté que je vous dédie ce travail.

A mes deux frères « Chérif et Juba »

A ma sœur « Sara » à qui je souhaite tous le bonheur et la réussite, sans oublier mes meilleures avec qui j'ai partagé toutes sortes d'obstacles durant notre parcours « Dehbia et Melissa » merci d'être présentes pendant tous mes moments difficiles, ainsi que « Yasmine Lakrib » malgré la distance elle continue à nous soutenir et à nous encourager.

A ma binôme « Lamia » qui a fait part des moments laborieux pour aboutir au succès de ce travail

Merci pour toutes les personnes qui ont participé de loin ou de près pour la réalisation de ce mémoire.

Yasmine

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumés

Introduction 1

Chapitre 1 : Généralités sur le kéfir

1. L'origine et l'historique du kéfir 3

2. Consommation du kéfir dans le monde..... 3

3. Généralité sur le kéfir 4

3.1 Définition du kéfir 4

3.2 La composition du kéfir..... 4

3.2.1 Les grains de kéfir 4

4. Types de kéfir..... 11

4.1 Kéfir d'eau..... 11

4.2 Kéfir de lait..... 12

Chapitre 2 : Le kéfir de lait

1. Définition du kéfir de lait 14

2. Technologie du kéfir de lait 14

2.1 Fabrication traditionnelle..... 14

2.2 Fabrication industrielle 15

3. Les propriétés du kéfir de lait 17

3.1	Les propriétés physico-chimiques	17
3.1.1	Les propriétés physiques	17
3.1.2	Les propriétés chimiques.....	17
3.2	Les propriétés microbiologiques	21
3.3	Les propriétés organoleptiques	21
4.	Les vertus thérapeutiques	21
4.1	Effet antimicrobien	22
4.2	Effet anticancérigène	22
4.2.1	Cancer d'estomac	22
4.2.2	Leucémie	23
4.2.3	Cancer du sein	23
4.3	Activité anti inflammatoire	24
4.4	Activité anti oxydante.....	24
4.5	Activité anti-diabétique	25
4.6	Cicatrisation des plaies	25
4.7	Propriétés anti-allergiques	25
4.8	Effet d'hypocholestérolémie.....	26
4.9	L'activité de la β -galactosidase.....	27
4.10	Effet du kéfir sur le poids corporel	27
4.11	Effet du kéfir sur le stress oxydatif et la maladie d'Alzheimer	28
5.	Facteurs influençant sur la qualité du kéfir.....	28
 Chapitre 3 : Partie pratique		
 Partie 01 : Matériels et méthodes.....		
1.	Fermentation du lait par les grains de kéfir.....	30
1.1	Origine des grains de kéfir et du lait.....	30
1.2	Fermentation	30
2.	Matériels utilisés pour les analyses.....	31

3. Analyses physico-chimiques	32
3.1 pH-métrie.....	32
3.2 L'acidité titrable.....	32
3.2.1 Dosage des protéines par spectrophotométrie	33
3.3 Dosage de la Matière sèche	34
4. Analyse sensorielle	35
4.1 L'épreuve hédonique.....	35
4.2 L'épreuve discriminative	36
4.3 L'épreuve descriptive	39
Partie 02 : Résultats et discussion	41
1. Résultats des analyses physico-chimiques	41
1.1 pH	41
1.2 Acidité	42
2. Résultats des analyses biochimiques	43
2.1 Matière sèche et humidité.....	43
2.2 La teneur en protéines.....	45
3. Résultats de l'analyse sensorielle	46
3.1 L'épreuve hédonique.....	46
3.2 L'épreuve discriminative	48
3.3 L'épreuvedescriptive	50
Conclusion.....	53
Références bibliographiques	54
Annexes	

Liste des abréviations

ABTS : 2,2'-Azino-Bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)

ADN : Acide désoxyribonucléique

AGS : Cellules adénocarcinomes gastrique

AJR : Apport journalier recommandé

ARN-m : Acide ribonucléique messenger

CD : Cluster de différenciation

DPPH : 2,2-Diphényl 1-PicrylHydrazyle

EPS : Exopolysaccharides

HDL : Lipoprotéines à haute densité

HFD : High fat diet (régime riche en graisse)

HMECs : Cellules épithéliales mammaires humaines normales

HTLV-1 : Virus T-lymphotropique humain-1

KF : Kefir free fraction

LAB : Bactéries lactiques

LB : Lactobacillus

LDL : Lipoprotéines à basse densité.

MCF : Cellules tumorales humaine

MMP : Membrane potentielle de mitochondrie

ND : Normal diet (régime normal)

NO : Oxyde nitrique

TGF- α : Facteur de croissance transformant – alpha

TGF- β 1 : Facteur de croissance transformant- beta1

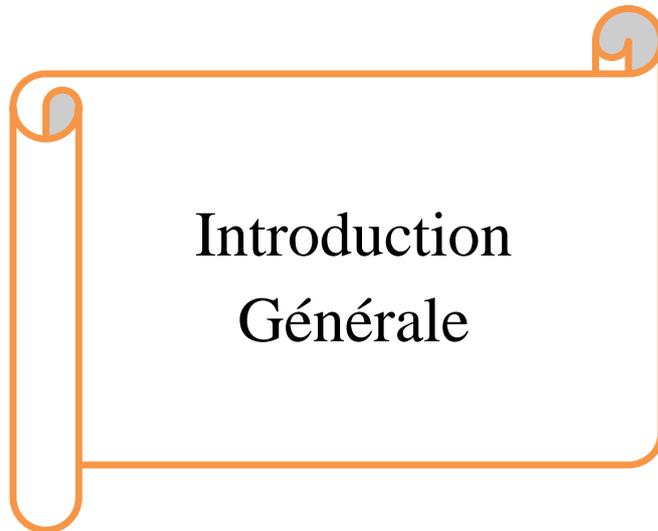
TNF : Facteur de nécrose tumorale

Liste des figures

Figures	Titre des figures	Page
Figure 1	Structure du Kéfirane	3
Figure 2	<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i> sous microscope électronique à balayage ; A et B : cellules pures de <i>L. kefiranofaciens</i> , C et D : cellules de <i>L. kefiranofaciens</i> observées dans les grains de kéfir de lait avec une différence au niveau de la taille	4
Figure 3	Processus de revivification des grains de kéfir du lait	8
Figure 4	Les grains du kéfir d'eau	10
Figure 5	Les grains du kéfir de lait	10
Figure 6	Processus de production du kéfir de lait	14
Figure 7	Courbe étalon DO = f[BSA] pour le dosage des protéines	34
Figure 8	Bulletin de réponse de l'analyse hédonique	36
Figure 9	Bulletin de réponse de l'analyse discriminative	38
Figure 10	Echelle de notation présentant les attributs du kéfir pour l'épreuve descriptive	40
Figure 11	Variation du pH en fonction du temps de fermentation et de la quantité des grains	42
Figure 12	Variation de l'acidité titrable en fonction du temps d'incubation et de la quantité des grains	43
Figure 13	Variation de la teneur en matière sèche et de l'humidité en fonction du temps de fermentation	44
Figure 14	La teneur protéique des différents types du lait	46
Figure 15	Résultats de l'épreuve hédonique	47
Figure 16	Résultats de l'épreuve discriminative du kéfir de 24H	48
Figure 17	Résultats de l'épreuve discriminative du kéfir de 48H	49
Figure 18	Une partie de la table binomiale d'ISO 4120-2021	49
Figure 19	Spider graph de l'épreuve descriptive du kéfir de 24H	50
Figure 20	Spider graph de l'épreuve descriptive du kéfir de 48H	51
Figure 21	Spider graph superposé	52

Liste des tableaux

	Titre des tableaux	Page
Tableau I	Composition chimique des grains de kéfir d'origine diverses	5
Tableau II	Composition microbienne des grains du kéfir de lait. Les différentes espèces sont mentionnées sous leur appellation actuelle	6
Tableau III	Comparaison entre le kéfir de lait et le kéfir de fruit	11
Tableau IV	Les métabolites chimiques produits par certains des microorganismes des grains du kéfir de lait	16
Tableau V	La composition chimique du kéfir de lait	17
Tableau VI	Composition nutritionnelle détaillée du kéfir de lait	18
Tableau VII	Matériels des analyses	31
Tableau VIII	Nombre minimal de réponses correctes nécessaire pour conclure qu'il existe une différence perceptible, sur la base d'un essai triangulaire (ISO 4120 :2021)	37



Introduction
Générale

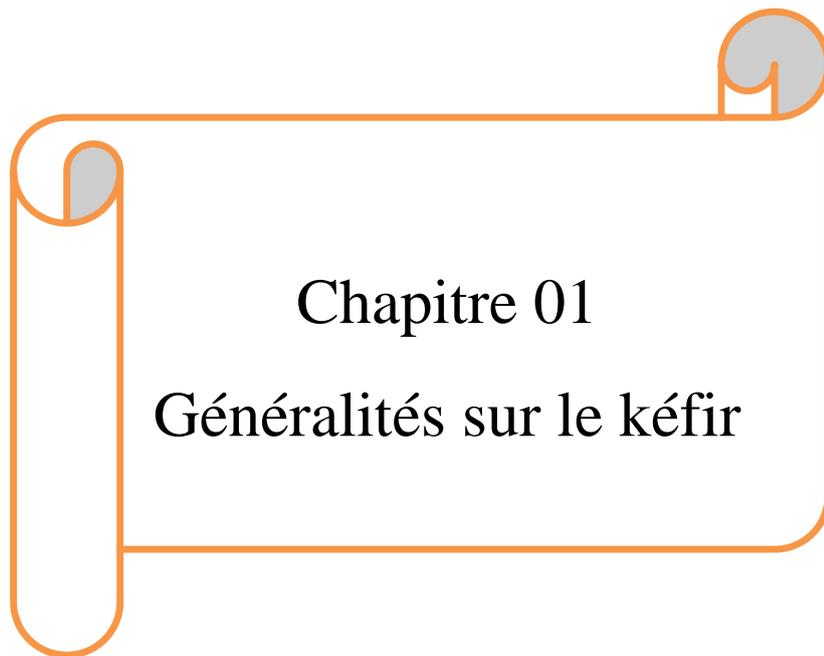
Introduction générale

Considérée comme une des plus anciennes méthodes de transformation biochimique des aliments dans l'histoire de l'homme, la fermentation est à l'origine de nombreuses préparations alimentaires, solides comme liquides. Déclenchée spontanément ou favorisée par l'ajout d'un catalyseur biologique (bactérie, levure, champignon), elle est utilisée traditionnellement comme moyen de production, conservation ou optimisation nutritionnelle des aliments. Hormis le vin ou la bière issus la plupart du temps d'une fabrication professionnelle (artisanale ou industrielle), les boissons fermentées « maison » (boza, ginger beer, kéfir, kombucha, pulque, etc.), répandues partout dans le monde, sont dans l'ensemble encore décrites de manière assez incomplète quant à leurs usages et leurs propriétés chimiques, biologiques et physiologiques (**Baschali et al., 2017**).

De nos jours, les produits fermentés sont fabriqués à l'échelle industrielle au moyen de souches microbiennes sélectionnées et d'équipements modernes. Ce sont des fractions essentielles de l'alimentation de divers peuples d'Europe mais également d'Asie et d'Afrique. Parmi ces produits fermentés le kéfir a été cité comme exemple d'aliment fonctionnel de type probiotique (**Brihmette et Chaoua, 2017**)

Le kéfir désigne un breuvage pétillant obtenu en utilisant des grains translucides composés d'une symbiose de micro-organismes (**Gulitz et al., 2011, Fiorda et al., 2017**). Le kéfir est une culture naturelle mixte utilisé depuis des siècles dans l'Europe de l'Est exactement les montagnes du Caucase de la Russie, obtenue par la fermentation alcoolique et lactique (**Assadi, 2000 ; Yaman, 2006**). Il se distingue des autres boissons fermentées, car il n'est pas le résultat de l'activité métabolique d'une seule espèce, mais d'une symbiose de microorganismes présente dans les grains de kéfir. Selon la boisson voulu (kéfir de lait ou kéfir de fruit), le lait ou une solution sucrée sont inoculés par des grains. La fermentation se fait à une température ambiante pendant un ou deux jours (**Farnworth, 2006**), dépassée 72H la boisson n'est plus consommable. La préparation de cette boisson, peut être faite avec du jus de fruits, de la mélasse, le sucre, et tous types de lait, tels que celui de la vache, de chèvre, brebis, chameaux, buffles, lait de soja (**Botelho, 2014**).

Dans ce contexte et afin d'évaluer la qualité de ce produit dont la consommation prend de plus en plus d'ampleur en Algérie, nous nous sommes intéressés d'une part à la production d'un Kéfir en réalisant des essais de fermentation du lait par les grains de kéfir, en suivant deux temps d'incubation. Un essai après 24 H de fermentation et un deuxième après 48. D'autre part, nous avons réalisés des analyses physico-chimiques et organoleptiques de ces deux laits fermentés.



Chapitre 01
Généralités sur le kéfir

1. L'origine et l'histoire du kéfir

Le kéfir fut apparu en France et s'étend dans toute l'Europe occidentale dès la fin du XIXe siècle. Il devient une boisson domestique et fut très populaire dans les campagnes dans les années 60-70. La première publication concernant cette boisson, faite par un médecin russe, DZHOGIN en (1867), dans les Travaux de la Société Médicale du Caucase, a été suivie par des dizaines d'autres (**Lipatov, 1978**).

L'origine du mot "kéfir" vient du mot turc "keif", dont la signification est « sensation de bien-être après l'avoir bu » en se référant à se sentir en bonne santé après sa consommation (**Stephen Moses John et Sirirat Deeseenthum, 2015**).

Un article publié en 1899, parle d'une boisson adoptée par un régiment d'armée entre 1896 et 1897, le kéfir, dont le lait a été remplacé par de l'eau et du sucre (**Maxence, 2022**). En Europe, la boisson a été introduite vers 1860. L'industrie bavaroise, en 1936, utilisait déjà les grains de kéfir pour la valorisation du lactosérum.

2. Consommation du kéfir dans le monde

Le kéfir serait dans les pays de l'Est la boisson la plus populaire après la vodka. Chiffrée, la consommation annuelle moyenne de kéfir en Union Soviétique était estimée à quelque 5 litres par personne dans les années 80 (**Kosikowski, 1982**). En 1981, Lacrosse rapporte que des laiteries roumaines produisaient jusqu'à 100.000 litres de kéfir par jour, tandis qu'une centaine de laiteries polonaises en produisaient respectivement 22 et 32 millions de litres en 1982 et en 1988 (**Libudzisz et Piatkiewicz, 1990**). En 1997, les seuls Moscovites en auraient consommé quotidiennement 400 tonnes (**Reynaud, 1997**).

Aujourd'hui, de grands groupes laitiers comme Danone ou Valio investissent dans des lignes locales de production de kéfir (**Anonyme Groupe Danone, 2006 ; Anonyme Valio, 2007**). Le groupe Danone, qui occupe une place prépondérante dans le marché des produits laitiers frais, a bien compris l'attachement des populations de l'Est au kéfir. Pour tenir compte des habitudes alimentaires locales, Activia, un de ses produits phares, a été interprété : le yaourt au bifidus actif que l'on connaît chez nous est ainsi devenu un lait fermenté de type kéfir pour le marché russe (**Anonyme Groupe Danone, 2007**).

Le kéfir est connu bien au-delà des frontières soviétiques, comme en témoigne la provenance des grains utilisés dans les études publiées. Ces grains ont en effet été collectés auprès de particuliers habitant des pays aussi divers que l'Afrique du Sud (**Witthuhn et al., 2004**), Taiwan (**Kuo & Lin, 1999**), l'Argentine (**Garrote et al., 1998**), le Portugal (**Pintado et al., 1996**),

l'Espagne (Angulo et al., 1993), la France (Vayssier, 1978), l'Irlande (Rea et al., 1996), l'Allemagne (Neve, 1992) ou la Belgique (Ninane et al., 2005).

3. Généralité sur le kéfir

3.1 Définition du kéfir

Le kéfir est une boisson de lait ou de fruit fermentés dont l'originalité est l'utilisation d'un ferment particulier : le grain de kéfir. Ce ferment est formé par une symbiose de levures et de bactéries enduites dans une matrice de polysaccharides produite naturellement par cette fusion (Rollan, 1988), son origine se trouve dans les montagnes du Caucase, l'ancienne Union soviétique et Asie centrale où a été consommé depuis 2000 ans avant Jésus-Christ.

3.2 La composition du kéfir

3.2.1 Les grains de kéfir

Les grains de kéfir sont décrits comme étant de "petites masses ridées, à consistance gélatineuse, de grosseur variable (Jamotte, 1974), homogène ou hétérogène au sein d'un même lot avec un diamètre de 1 à 3 cm et ils sont insolubles dans l'eau et la plupart des solvants (Ottogalli et al., 1973).

3.2.1.1 Formation et production des grains de kéfir

Les données bibliographiques concernant la production traditionnelle du Kéfir sont insuffisantes. Le mécanisme de formation des grains de kéfir reste à ce jour méconnu. (Anonyme, 1983).

Mais selon Ramparany (2008), les nomades transportaient du lait (vache, chèvre, brebis) dans des outres ou des cuves en chêne dans lesquels ils ajoutaient un fragment d'estomac de veau. C'est ainsi qu'ils ont découvert que le lait frais transporté se transformait parfois par fermentation en une boisson effervescente et acide. Au bout de quelques semaines, ils ont découvert sur la paroi interne des outres une croûte spongieuse, blanchâtre ou jaunâtre qui séchée fut à l'origine des grains de kéfir de lait. Ces grains fermentaient le lait et se multipliaient au fur et à mesure des ensemencements. La boisson, issue de la fermentation du lait a été dénommée kéfir.

3.2.1.2 La composition des grains de kéfir

➤ Composition chimique des grains

Les grains de kéfir sont constitués essentiellement d'eau et d'une fraction non aqueuse contenant principalement des sucres et des protéines. La teneur en eau des grains est de 80% à

90% de leur poids, tandis que la fraction en polysaccharide varie entre 36% et 54% et la fraction protéique varie entre 28% et 35% de leur matière sèche (**Garrote *et al.*, 2001**).

La matrice des grains de kéfir contient un polysaccharide spécifique, jamais isolé d'un autre substrat, et nommé pour cette raison kéfirane. La Rivière *et al.*, (1967), estiment que le kéfirane constitue près de la moitié de la substance cohésive des grains.

Le kéfirane est un hétéropolysaccharide composé majoritairement du D-Glucose et du D-Galactose (**Figure 1**).

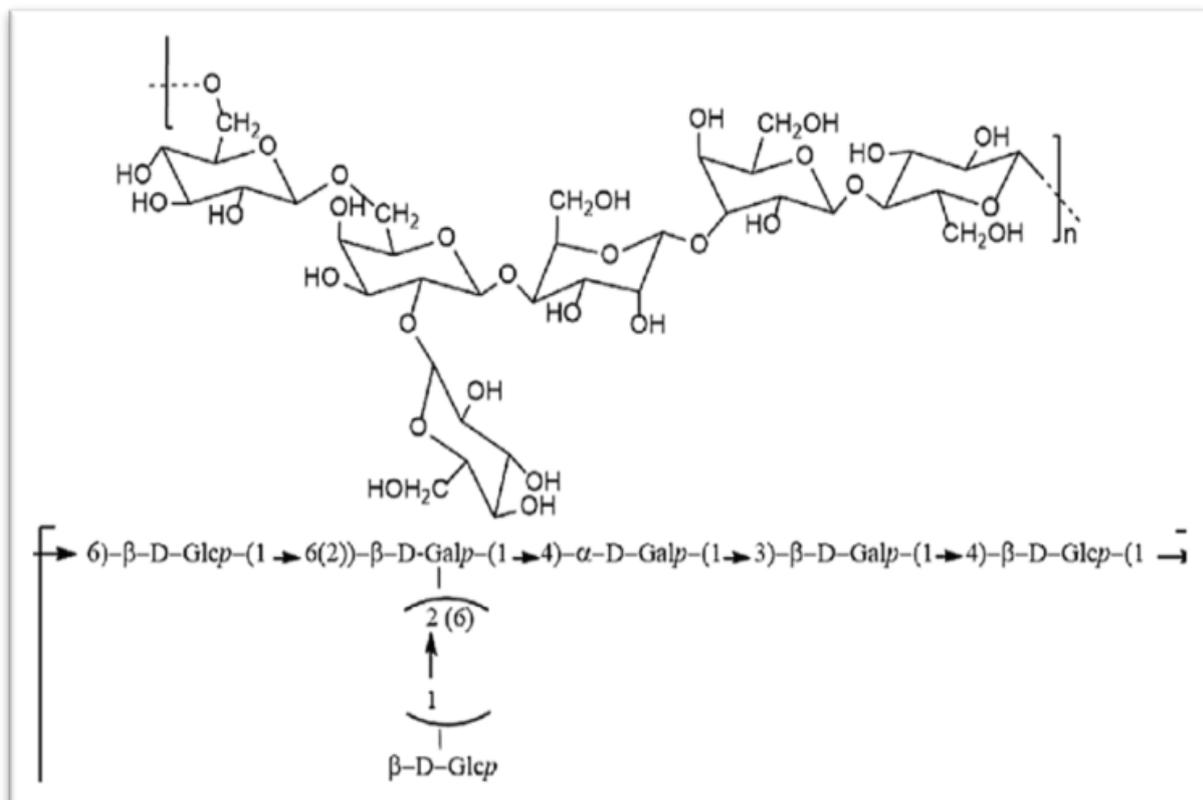


Figure 1 : Structure du Kéfirane proposée par Micheli *et al.*, (1999)

IL est produit par les *Lactobacillus kefiranofaciens* (**Figure 2**), qui sont des bactéries lactiques de la famille des Lactobacillaceae. C'est la bactérie la plus dominante dans les grains de kéfir de lait.

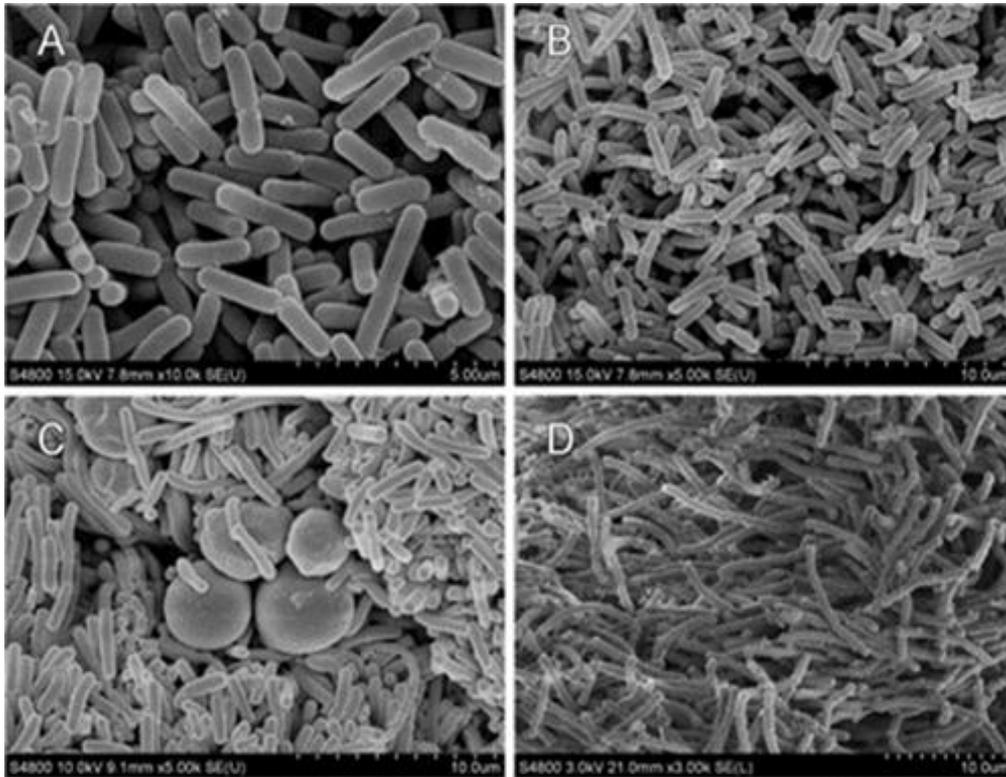


Figure 2 : *Lactobacillus kefiranofaciens* sous microscope électronique à balayage ; A et B : cellules pures de *L. kefiranofaciens*, C et D : cellules de *L. kefiranofaciens* observées dans les grains de kéfir de lait avec une différence au niveau de la taille (Xingxing Wang *et al.*, 2018)

Le kéfirane représente environ 25% de la masse sèche des graines de kéfir (Pogacic *et al.*, 2013) et ne serait pas le seul constituant de la matrice.

Le kéfirane est considéré comme étant un polymère biodégradable pour sa non toxicité, ce qui fait qu'il est utilisé en industrie pharmaceutique (Zahra Moradia et Nastaran Kalanpour, 2019) pour :

- ces caractères protectifs ;
- son activité antimicrobienne contre certains microorganismes ;
- ses effets bifidogènes.

Ainsi qu'en industrie alimentaire pour son pouvoir gélifiant pour la fabrication des biofilms alimentaires, ajouté comme additif pour la protection des aliments (Zolfi *et al.*, 2015) et en

boulangerie pour améliorer les propriétés rhéologiques de la pâte (**Soleimani Fard et al., 2017**). Le kéfirane peut être obtenu par extraction à partir des grains de kéfir inoculé dans du lait. Mais, la procédure d'extraction à l'échelle industrielle est difficile et a un faible rendement (**Zahra Moradia et Nastaran Kalanpour, 2019**).

La composition des grains de kéfir est différente d'une origine à une autre et d'une région à une autre (**Tableau I**).

Tableau I : Composition chimique des grains de kéfir d'origines diverses (Ottogalli *et al.*, 1973)

Pays d'origine	Eau	Matières sèches	Composition de la matière sèche			
			Matières grasses	Protéines	Substances extractibles non azotées	Cendres
URSS	89,5	10.5	2.8	30.3	59.3 (40.1)	7.6
Yougoslavie	88,9	11.1	4.3	31.4	57.2 (42.1)	7.2
Yougoslavie	90,0	10.0	3.5	34.5	55.0 (40.1)	7.0
Bulgarie	90.6	9.4	3.5	34.4	53.4 (35.8)	8.7

- Tous les résultats sont exprimés en %.
- Entre parenthèses figurent les estimations des sucres réducteurs, après hydrolyse sous conditions acides.

➤ La microflore des grains de kéfir

Les micro-organismes constituent, selon Abraham et Antoni (1999), presque 0,9 % de la masse (humide) des grains de kéfir.

Dans ces structures, les bactéries sont assemblées dans une matrice de polymères qu'elles synthétisent. Les matrices des biofilms se composent d'éléments communs dont notamment des exopolysaccharides (**Lasa, 2006**). Ces exopolysaccharides bactériens ne sont généralement pas utilisés comme source énergétique par les micro-organismes qui les produisent ; la plupart d'entre-eux sont incapables de cataboliser le polymère qu'ils synthétisent. Dans le processus de formation des biofilms, ils jouent un rôle prépondérant au niveau de l'adhésion des bactéries aux surfaces qu'elles colonisent (**Lasa, 2006**).

Les études publiées sur la composition microbienne des grains du kéfir mettent en lumière une microflore complexe, souvent composée de plusieurs espèces de bactéries micro lactiques et de

levures, parfois associées à d'autres micro-organismes. La microflore identifiée à partir de grains du kéfir de lait comprend de nombreuses espèces (**Tableau II**), associées dans les grains du kéfir en diverses combinaisons (**Garbers et al., 2004**). Parmi les bactéries lactiques recensées, la majorité des espèces appartient : des micro-organismes, identifiés occasionnellement dans des grains du kéfir, comprennent des bactéries d'intérêt alimentaire : *Acetobacter sp.* et *Micrococcus sp.*, et des bactéries contaminantes : *Acinetobacter sp.*, *Bacillus sp.*, *Enterobacter sp.*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas sp.* et *Sphingobacterium sp.* (**Brihmette et Chaoua, 2017**).

Tableau II : Composition microbienne des grains du kéfir de lait. Les différentes espèces sont mentionnées sous leur appellation actuelle (Veronique, 2008).

Références	Grains (*)	Bactéries lactiques	Levures	Autres groupes microbiens
Ottogalli et al., 1973	I	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus brevis</i> <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>Lactis</i> <i>Leuconostoc kephir</i>	<i>Kluyveromyces lactis</i>	Pas de bactéries acétiques
Angulo et al., 1993	I	<i>Lactobacillus kefiri</i> <i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>Tolerans</i> subsp. <i>paracasei</i> <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	<i>Kluyveromyces lactis</i> <i>Torulaspora delbrueckii</i>	<i>Acetobacter sp.</i> <i>Escherichia coli</i>
Witthuhn et al., 2004	I	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>delbrueckii</i>	<i>Zygosaccharomyces sp.</i>	Pas de bactéries acétiques ou propioniques
Simova et al., 2002	IV	<i>Lactobacillus brevis</i> <i>Lactobacillus helveticus</i> <i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> <i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Candida inconspicua</i> <i>Candida maris</i> <i>Kluyveromyces marxianus</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Pas recherchées

Référence	Grains (*)	Bactéries lactiques	Levures	Autres groupes microbiens
Garrote et al., 2001	IV	<i>Lactobacillus kefir</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>subsp. lactis</i>	<i>Saccharomyces sp.</i>	<i>Acetobacter sp.</i>
Mainville et al., 2006	VIII	<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i> <i>Lactobacillus kefir</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>subsp. lactis</i> <i>subsp. cremoris</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> <i>subsp. cremoris</i>	<i>Pas recherchées</i>	<i>Pas recherchées</i>
Wang et al., 2006	VIII	<i>Lactobacillus sp.</i>	<i>Pas recherchées</i>	<i>Acinetobacter sp.</i> <i>Enterobacter sp.</i> <i>Sphingobacterium</i> <i>sp.</i>
Chen et al., 2008	VIII Hsinchu	<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i> <i>Lactobacillus kefir</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Pas recherchées</i>	<i>Pseudomonas sp.</i>
Lin et al., 1999	VIII	<i>Lactobacillus helveticus</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Kluyveromyces marxianus</i> <i>Pichia fermentans</i>	<i>Pas recherchées</i>
Pintado et al., 1996	VIII	<i>Lactobacillus kefir</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>subsp. lactis</i>	<i>Saccharomyces unisporus</i>	<i>Pas de bactéries acétiques</i>
Takizawa et al., 1998	VIII	<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i> <i>subsp. kefiranofaciens</i> <i>subsp. kefirgranum</i> <i>Lactobacillus kefir</i> <i>Lactobacillus parakefir</i> (**)	<i>Pas recherchées</i>	<i>Pas recherchées</i>

(*) Dénomination, donnée par les auteurs, du grain sous objet.

(**) Les bactéries lactiques appartenant à d'autres genres n'ont pas été recherchées.

3.2.1.3 Conservation des grains

Des difficultés ont été constatées pour maintenir une qualité des grains pour produire une boisson avec une viscosité appropriée et acceptable. Hanging *et al.*, (1997), ont conclu que la

congélation est le meilleur moyen de conserver les grains de kéfir lorsqu'ils sont cultivés après stockage dans du lait. Cette condition de stockage maintient l'activité du grain nécessaire à la fermentation du lait. Les grains stockés à -20°C ou -80°C ont montré une augmentation significative du poids des grains après sous-culture continue (Witthuhn *et al.*, 2005).

➤ Par séchage

D'après Ramparany (2008), le séchage s'effectue en mettant les grains préalablement rincés à l'eau distillée dans une boîte de papier filtre à température ambiante. La revivification (**Figure 3**), est une étape délicate et primordiale qui vise à réactiver tous les microorganismes présents

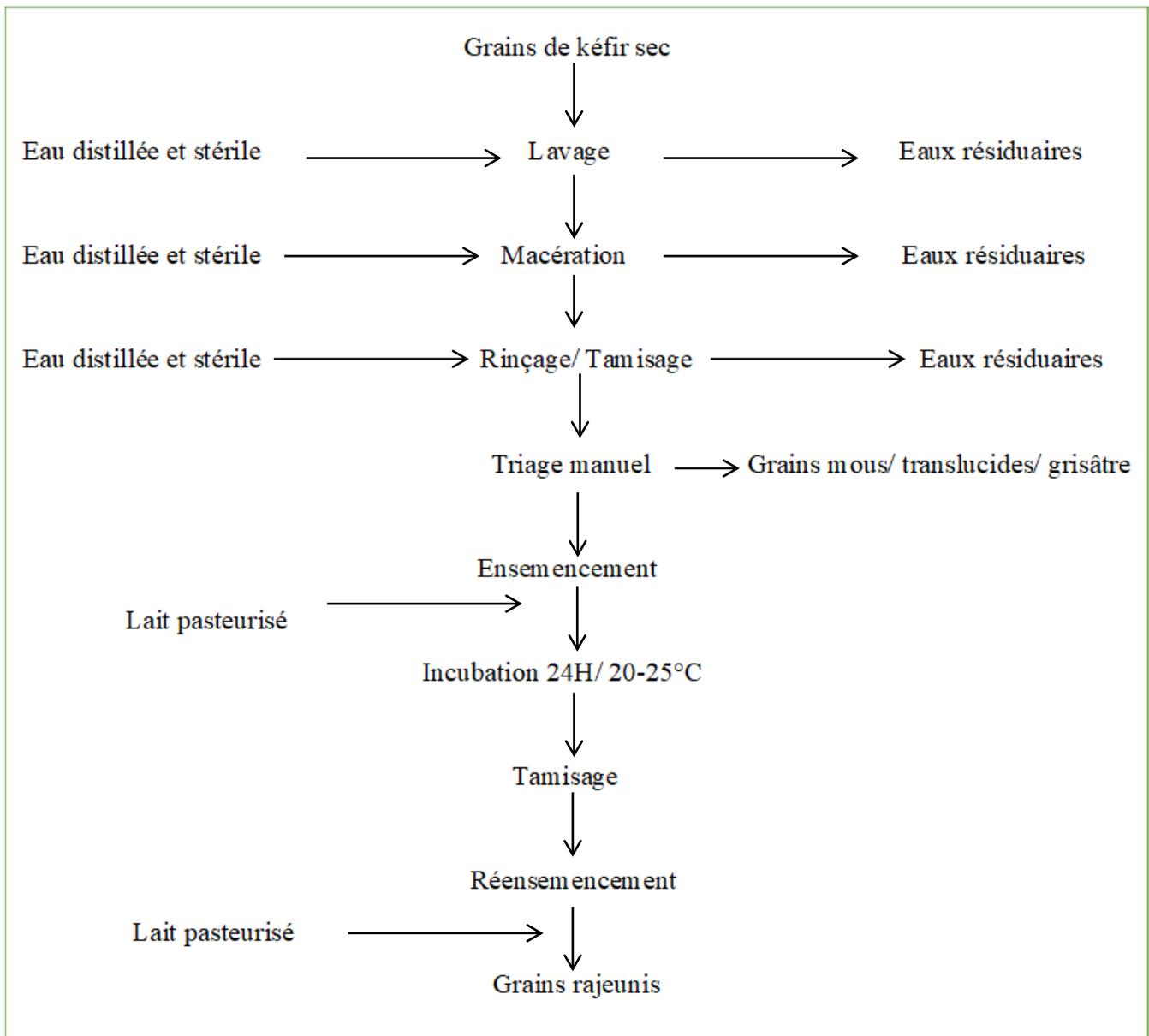


Figure 3 : Processus de revivification des grains de kéfir du lait Ramparany 2008

dans les grains. Elle ne prend fin que lorsqu'un certain équilibre est atteint entre ces différentes souches.

➤ **Conservation humide**

Les normes polonaises et les fournisseurs de culture starter recommandent que les grains de kéfir ne soient pas rincés quotidiennement lorsqu'ils sont ajoutés au lait fraîchement préparé. Alternativement, les grains peuvent être rincés doucement avec du lait pasteurisé ou de l'eau stérile et stockés à des températures inférieures à 6 °C ou congelés. Le rinçage des grains de kéfir, qui est une pratique courante dans l'industrie, peut réduire le nombre de Lactocoques, de levures et la biomasse du grain et le stockage prolongé peut modifier l'équilibre entre les différents micro-organismes (**Schoevers et Britz, 2003**).

➤ **Par congélation**

La congélation est considérée comme la meilleure méthode de conservation des grains (**Analy Machado de Oliveira Leite et al., 2013**).

Pour conserver les grains de kéfir de fruit, il suffit de rajouter de l'eau avec un peu de sucre et changée mensuellement, car l'absence de sucre peut perturber l'équilibre des flores bactériennes. Il est fortement déconseillé de les faire sécher car cela affecte certains éléments spécifiques qui constituent les grains de kéfir. Il est possible de les congeler en les édulcorant fortement pour obtenir un effet cryoprotecteur contre les bactéries et levures (**Anonyme, 2022**).

4. Types de kéfir

Il existe deux sortes du kéfir :

4.1 Kéfir d'eau

C'est une boisson doucement pétillante, désaltérante, légèrement acidulée et peu sucrée, à consommer de préférence lorsqu'il fait extrêmement froid. Obtenu après fermentation d'eau sucrée, parfois en présence des tranches de fruits, constitué de petites granules translucides appelés grains de kéfir d'eau (**Figure 4**). Pour se développer, ils utilisent du sucre qu'ils mettent dans l'eau ; lorsqu'ils se multiplient, ils produisent de l'acide et du gaz (**Misbah, 2014**).



Figure 4 : Les grains du kéfir d'eau (Misbah, 2014)

4.2 Kéfir de lait

Selon Misbah (2014), c'est une boisson blanchâtre à la consistance plus au mois crémeuse, mousseuse, acidifiée et légèrement alcoolisée. Obtenu par fermentation du lait de certains mammifères (les vaches, les chèvres et les brebis), par des grains sous forme de petites boulettes blanches, semblables aux minuscules de choux-fleurs (**Figure 5**).



Figure 5 : Les grains du kéfir de lait (Misbah, 2014)

Le (**Tableau III**) démontre la différence entre les deux sortes de kéfir selon le type du grain (**Elke et al., 2021**).

Tableau III : Comparaison entre le kéfir de lait et le kéfir de fruit (Elke *et al.*, 2021).

Kéfir du lait	Kéfir d'eau
Produit à partir des grains du kéfir de lait	Produit à partir des grains du kéfir d'eau
Le substrat principal est le lait d'un mammifère bovin, par exemple du lait de vache ou de chèvre	Le substrat principal est une solution de saccharose à laquelle on ajoute des fruits secs ou des extraits des fruits
La diversité en termes de substrats différents qui peuvent être fermentés est plus faible	Une plus grande diversité de substrats peut être fermentée
Les grains sont de couleur blanche ou crème et plus résistantes	Les grains sont transparents, mucilagineux, et moins résistantes
L'exo polysaccharide de grain est principalement composé de kéfirane	L'exo polysaccharide des grains est principalement composé d' α -glucanes
Les espèces de bactéries acétiques moins prévalentes	Les espèces de bactéries acétiques sont plus prévalentes
Les espèces de levure <i>Saccharomyces</i> sont des composantes mineures	Les espèces de levure <i>Saccharomyces</i> sont dominantes
Les espèces bactériennes <i>Lactococcus</i> sont plus dominantes	Les espèces bactériennes <i>Lactococcus</i> sont rarement présentes
Espèce de levure <i>Candida</i> plus susceptible d'être présentes	Espèce de levure <i>Candida</i> rarement présente



Chapitre 02
Kéfir de lait

1. Définition du kéfir de lait

Le kéfir de lait est une boisson fermentée, originaire du Caucase une région montagneuse et désertique d'Europe de l'Est s'étendant de la mer Noire à la mer Caspienne, issu d'une interaction entre le lait et les grains du kéfir du lait qui ont une forme de petites boules blanches, gélatineuses, sous forme de petits choux-fleurs agglomérés les uns aux autres. Les nombreuses bactéries et levures permettent une double fermentation (lactique + alcoolique) et le développement des propriétés organoleptiques du kéfir (**Pogacic et al., 2013**).

2. Technologie du kéfir de lait

À l'origine, les boissons au kéfir peuvent être fabriquées à partir de lait entier, demi-écrémé ou de lait écrémé de vache, de chèvre, de brebis et de bufflonne, selon les goûts ou la nécessité diététique (**Rosa et al., 2017**). Il peut être produit aussi à partir du lait issus des végétaux tels que : soja, riz, noix de coco...etc.

Il reste que le kéfir produit par le lait animal est meilleur, car ce dernier est presque complet ce qui rend la boisson plus riche, et chaque type de lait animal donne un kéfir différent qui est dû à la diversité de leur composition.

2.1 Fabrication traditionnelle

La préparation du kéfir de lait à domicile est assez simple (**Figure 6**), en utilisant des outils qui sont toujours présents dans chaque maison notamment : des bocaux en verre, des cuillères en bois ou en plastiques, passoire... Par contre, il faut absolument éviter l'utilisation du matériel en métal. Les étapes de préparation du kéfir de lait sont comme suit :

- mettre 1 à 2 cuillères à soupes de grains de kéfir de lait dans un récipient ;
- ajoutez 04 tasses de lait frais entier (vache, chèvre, brebis) de préférence d'origine bio, le lait ne doit pas être chaud car la haute température tue le champignon ;
- laissez un espace de 02 à 03cm libre au-dessus du niveau du lait, car après la fermentation les grains de kéfir gonflent, se multiplient et la quantité de la boisson augmente visiblement ;
- recouvrir le récipient du filtre à café en papier et le fixer avec élastique, ou un simple couvercle pour protéger le mélange de la poussière ;
- laissez le mélange de 12 à 36 heures à une température ambiante de 22 à 25°C ;
- filtrez le mélange avec une passoire en plastique et laissez-le au réfrigérateur pendant 1 à 2 jours ;

→ le mélange obtenu est légèrement acide, carbonaté et peu alcoolisé (**Anonyme, 2022**).

Ce processus simple est pratiquement impossible pour la production industrielle de kéfir. En particulier, les matériaux de préservation des grains ne doivent pas contenir d'alliages métalliques (**Libudzisz et Piatkiewicz, 1990**).

2.2 Fabrication industrielle

La méthode industrielle la plus connue est la « méthode russe », elle permet la production du kéfir à plus grande échelle et utilise un processus de fermentation en continu. Le lait est inoculé avec des cultures pures et commerciales isolées à partir des grains de kéfir (**Rattray et O'Connell, 2011**).

Cette méthode russe consiste à ensemercer des grains revivifiés dans 40 à 50 fois leur poids de lait pasteurisé ou bouilli et refroidi à 16-20 °C. Le mélange mis à l'obscurité est remué toutes les 2 ou 3 heures (**Figure 6**).

Au bout de 24 heures, les grains remontent à la surface. Le produit filtré, donne un liquide crémeux, acide et à odeur levurée qui constitue le levain. Celui-ci est mis dans du lait pasteurisé 3 à 5 minutes à 85-90 °C, refroidi à 20-25 °C et placé en tank où la deuxième fermentation se fait à cette température pendant environ 10 à 12 heures (**FAO, 1995**).

Le coagulum mou est brassé lentement et refroidi dans le tank vers 12-15 °C, puis laissé au repos pendant 12 à 18 heures afin que s'opère la fermentation lactique. Après ce temps, le caillé est amené à la température de 5 °C, puis conditionné en bouteille de verre ou en carton (**FAO, 1995**).

Actuellement, la plupart des fabricants de kéfir utilisent une culture de démarrage lyophilisée, seules quelques laiteries multiplient encore les grains de kéfir pour les utiliser comme culture de démarrage (**Ramparany, 2008**).

A l'échelle industrielle, les ferments acceptés pour la préparation du kéfir sont les levures fermentant le lactose, les lactobacilles, les streptocoques lactiques et les grains de kéfir. Chaque groupe microbien, suivant ses propriétés physiologiques, prédomine pendant une phase différente de la préparation du kéfir.

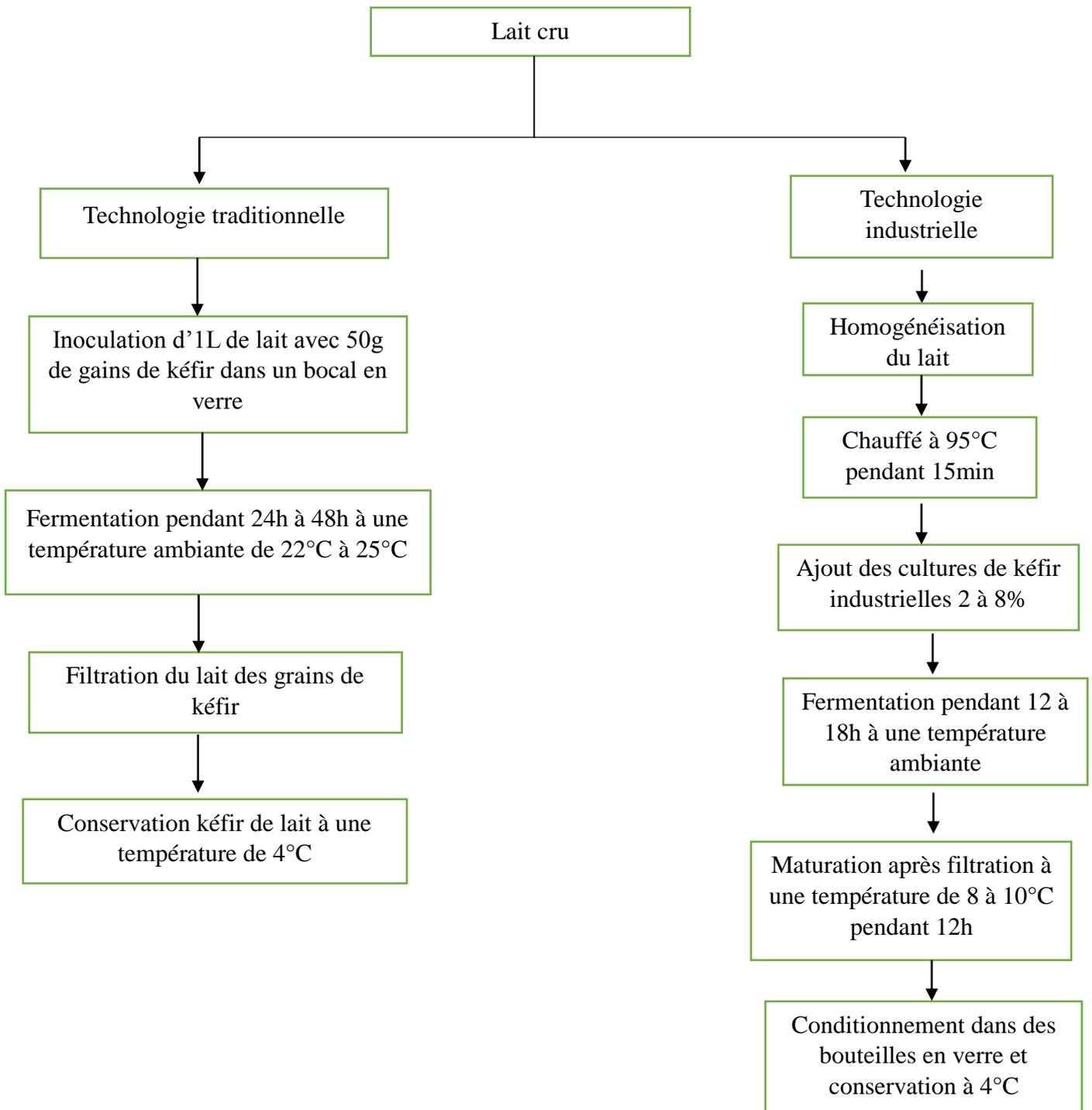


Figure 6 : Processus de production du kéfir de lait (Libudzisz et Piatkiewicz, 1990)

3. Les propriétés du kéfir de lait

3.1 Les propriétés physico-chimiques

3.1.1 Les propriétés physiques

Les bactéries lactiques se caractérisent par la propriété de produire de l'acide lactique à partir de sucre, disponible sous la forme de lactose dans le lait. Elles fermentent les sucres presque exclusivement en acide lactique. En fait, dans le lait et à température ambiante, les lactocoques se développent rapidement et produisent rapidement de l'acide lactique. Ainsi, dans ces conditions, ils abaissent le pH à environ 4,6 en 15 à 20 heures (**Arroum et al., 2022**). C'est pour cela que Kolovera (1988), leur attribue le rôle d'acidifiant dans la fermentation du kéfir. Le pH du kéfir est le résultat de l'accumulation des acides organiques (l'acide lactique principalement), produits du catabolisme du lactose par les bactéries lactiques du kéfir (**Suriasih et al., 2020**).

3.1.2 Les propriétés chimiques

La composition chimique du kéfir de lait dépend de l'origine et de la composition microbiologiques des grains du kéfir (**Tableau IV**), ainsi que le type de lait utilisés. Il y'a 04 variations qui changent : l'acidité, la matière grasse, l'alcool et le CO₂.

- ❖ **Le taux de matière grasse** : dépend de l'origine du lait utilisé (de vache, de brebis, de chèvre...) et du choix du fabricant (lait entier, écrémé ou partiellement écrémé). Du kéfir préparé à partir d'un lait à 3,5% de MG affiche un taux compris entre 3,0 % et 3,1 % (**Veronique, 2008**), elle diminue toutefois après la fermentation lactique.
- ❖ **Le taux d'acide lactique** : rapporté varie entre 0,6 et 0,9 % (**Jacquet et Thevenot, 1961**), par suite des différentes méthodes de préparation et de la microflore utilisées.
- ❖ **Le taux d'alcool et de CO₂** : dépend du procédé appliqué (**Farnworth, 2005**). Il est plus élevé dans le kéfir traditionnel que dans le kéfir industriel. Un lait acidifié à partir de grains a une teneur en éthanol comprise entre 0,1 % et 0,3 %. La teneur en alcool dans les kéfirs industriels atteint par contre au maximum 0,04 % (**Veronique, 2008**).

Pour le kéfir le plus acidifié, le taux de CO₂ est compris entre 0,08 % et 0,2 %. Il peut toutefois être beaucoup plus élevé : 3 % de CO₂ ont été mesurés dans un lait acidifié à partir de grains argentins (**Veronique, 2008**). L'éthanol et le dioxyde de carbone donnent au kéfir son effet stimulant et caractéristique effervescent (**Ismail et al., 2011**).

Tableau IV: les métabolites chimiques produits par certains des microorganismes des grains de kéfir de lait (Mohamed Farag *et al.*, 2020)

<i>Les microorganismes</i>	<i>Les métabolites produits</i>
<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i> <i>Lactobacillus brevis</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> (kéfir de Turquie) <i>Lactococcus cremoris</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Streptococcus durans</i>	Acide lactique
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> <i>Acetobacter pasteurianus</i> <i>Lactococcus cremoris</i>	Acide acétique
<i>Lactobacillus kefiri</i> <i>Lactobacillus harbinensis</i> <i>Saccharomyces turicensis</i> <i>Saccharomyces florentinus</i>	Ethanol
<i>Lactobacillus brevis</i> <i>Lactobacillus kefiri</i> <i>Saccharomyces turicensis</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	CO ₂
<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i> <i>Lactobacillus kefiri</i> (kéfir de Brésil)	Kéfirane
<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i>	n-acide dicanoïque, éthyle décanoate, éthyle hexanoate

En général, dans la composition chimique du kéfir, l'eau est le composant majeur d'environ 90% suivie des sucres (6%), matière grasse (3,5%), protéines (3%) et les cendres (0,7%) (Sarkar, 2008). (Tableau V) représente les normes de la composition chimique du kéfir de lait selon le CODEX ALIMENTAIRE proposé par la FAO et l'OMS.

Tableau V : La composition chimique du kéfir de lait selon le (CODEX ALIMENTAIRE STAN CXS 243-2003)

Composition	Valeurs
Protéine du lait (%m/m)	Min. 2,8%
Matière grasse du lait (%m/m)	< 10%
Acidité titrable exprimée en (%) d'acide lactique (%m /m)	Min. 0.6%
Somme des microorganismes spécifiques constituant la culture de départ (ufc / g)	Min. 10 ⁷
Levures (ufc/g)	Min. 10 ⁴

La valeur nutritionnelle du kéfir est due à sa richesse en minéraux, protéines, sucres, carbohydrates, peptides, vitamines et matières grasses. En outre, le processus de la fermentation enrichit plus la valeur nutritionnelle en produisant des ingrédients secondaires bioactifs tels que : l'acide salicylique, l'acide férulique, la catéchine et la vanilline ; qui sont identifiés dans le kéfir à base de lait des arachides (**Bensmira, M. ; Jiang B., 2015**).

Le kéfir est riche en vitamines B1, B2, B5, C, K, notamment la vitamine B12 est fournie par *Propionibacterium peterssoni* et *Propionibacterium pituitosum*, la production de la vitamine B et C a été incitée par les *Propionibacterium shermanii* (**Atul Bhojraj Jambhulkar, 2020**).

Il est riche aussi en acides aminés essentiels : thréonine, lysine, valine, isoleucine, méthionine, phénylalanine et tryptophane ; et non essentiels : sérine et alanine, qui jouent un rôle important sur le système nerveux central. Il contient des protéines partiellement digestibles comme les caséines qui aident le corps à les digérer et les absorber (**Grohmann et Bronte, 2010**).

En plus des macroéléments, le kéfir est riche en microéléments comme : le fer, le zinc, et le cuivre (**Tableau VI**), qui sont important pour le métabolisme cellulaire et la production du sang (**Bakircioglu et al., 2018**).

Tableau VI : Composition nutritionnelle détaillée du kéfir de lait (Otlés et Cagindi, 2003)

Composants	100g	Composants	100g
Energie	65kcal	Les minéraux	-
Matière grasse (%)	3.5	Calcium	0.12
Protéine (%)	3.3	Phosphore	0.10
Lactose (%)	4.0	Magnésium	0.12
L'eau (%)	87.5	Potassium	0.15
Acide lactique (g)	1	Sodium	0.05
Ethanol (g)	0.9	Chloride	0.10
Cholestérol (mg)	13	Eléments de traces	-
Phosphates (mg)	40	Fer (mg)	0.05
Les acides aminés essentiels (g)	-	Cuivre (mg)	12
Tryptophane	0.05	Molybdène (µg)	5.5
Phénylalanine+	0.35	Manganèse (µg)	5.0
Tyrosine			
Leucine	0.34	Zinc (mg)	0.36
Isoleucine	0.21	Eléments aromatiques	- -
Thréonine	0.17	Acétaldéhyde	
Méthionine-Cystéine	0.12	Diacétyle	
Lysine	0.27	Acétoïne	
Valine	0.22	-	-
Vitamines (mg)		-	-
A	0.06	B12	0.5
Carotène	0.02	Niacine	0.09
B1	0.04	C	1
B2	0.17	D	0.08
B6	0.06	E	0.11

3.2 Les propriétés microbiologiques

La composition microbienne du kéfir est considérée comme une communauté symbiotique et varie considérablement en fonction de la source de lait, de la teneur en matières grasses, de l'origine des grains de kéfir, des paramètres de fermentation et d'autres facteurs (**Farag et al., 2020**).

Pendant la fermentation, le pH du kéfir varie de 3,0 à 5,0 en raison de fortes concentrations d'acides organiques ; étant donné ce pH acide, il est clair que le kéfir fournit un environnement qui améliore la dominance des espèces résistantes aux acides (**Kim et al., 2019**).

Les consortiums de kéfir contiennent potentiellement des souches au statut probiotique largement accepté, et des gènes codant pour des fonctionnalités probiotiques ont également été détectés dans le microbiote de kéfir. (**Slattery et al., 2019**).

3.3 Les propriétés organoleptiques

Le kéfir doit avoir un arôme, une saveur et une bonne sensation dans la bouche pour que le consommateur l'accepte, qui dépendent des propriétés rhéologiques de cette boisson. Ces caractéristiques sont influencées par le type de lait utilisé et son effet sur le kéfir (**Farag et al., 2020**). Elles dépendent de la composition des grains et du processus de fermentation et de maturation (**Otles et Cagindi, 2003**). Le kéfir à base de lait camelin est plus amer, plus crémeux et a un arôme plus intense que celui du kéfir à base de lait de vache (**Kavas, 2015**). Contrairement aux autres laits fermentés, le kéfir se caractérise par sa saveur spécifique typique des levures, une consistance crémeuse et une sensation en bouche pétillante provenant de constituants tels que l'acide acétique, l'éthanol et le CO₂. De telles propriétés reposent sur des processus de fermentation menés par des levures, des bactéries lactiques et acides acétiques et d'autres microorganismes contenus dans les grains du kéfir (**Arslan, 2015**).

4. Les vertus thérapeutiques

Le kéfir possède plusieurs vertus thérapeutiques, recommandé pour plusieurs maladies notamment : les problèmes gastro-intestinaux, l'hypertension, les allergies et les problèmes du cœur (**Rattray et O'Connel, 2011**).

Les peptides bioactifs possèdent des activités : antimicrobiennes, antithrombotiques, antihypertenseurs, opioïdes, immunomodulatrices, liaison des minéraux et antioxydantes (**Fitzgerald et Murray, 2006**).

4.1 Effet antimicrobien

Le kéfirane, le polysaccharide du kéfir peut être utilisé comme un agent antimicrobien et un cicatrisant contre plusieurs souches pathogènes fortement résistantes. Les recherches récentes sur l'activité antimicrobienne du kéfirane sur *Staphylococcus aureus* et sur des rats Wistar présentant des lésions cutanées induites, ont révélé que les deux espèces présentaient une forte activité antimicrobienne, cicatrisante et anti-inflammatoire. Lors de cette étude, l'activité antimicrobienne la plus élevée était contre les *Streptococcus pyogènes* (**Rodrigues et al., 2005**).

Dans une autre étude menée par Nezha SEKKAL-TALEB, Fatima Zohra SENOUCI et Ghazelane MEDJAHDI (2021), ont démontré que le kéfirane n'a pas d'activité antimicrobienne sur les espèces suivantes *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella paratyphi*, *Enterococcus faecalis* et *E. coli*. Par contre, il possède une activité anti fongique contre le *Candida albicans* et une activité anti microbienne contre *Staphylococcus aureus*.

4.2 Effet anticancérigène

Les effets anticancéreux du kéfir et de l'extrait de kéfir ont été largement étudiés. Ahmed et al., (2013), ont rapporté des données encourageantes sur l'activité antitumorale du kéfir dans des modèles animaux, mais cette fois l'activité antitumorale peut être due à la présence de certains polysaccharides dans l'extrait de kéfir. Les souches isolées *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* et *Streptococcus nisinus* subsp. *Cremoris*, de kéfir ont la capacité de se lier au mutagène. La consommation de 2 g du produit par jour pendant 9 jours consécutifs était associée à une plus grande réduction du risque de tumeur que le yogourt. Le kéfirane est un glucogalactane hydrosoluble qui peut être isolé des grains de kéfir ou produit par la souche *L. kefirifaciens* isolée du kéfir, qui possède également une activité antitumorale (**Ahmed et al., 2013**).

4.2.1 Cancer d'estomac

Ghoneum et Felo (2015), ont démontré que *Lactobacillus kefir* (LK) diminue l'apoptose au niveau des cellules gastriques cancérigènes par moyen dose-dépendant.

L'apoptose est associée à la diminution de la polarisation de la membrane potentielle de mitochondrie (MMP) et la diminution de l'expression des protéines anti apoptique Bcl-2. Ce qui peut induire à la libération des molécules pro-apoptiques qui causent l'activation des caspases et éventuellement aboutit à une apoptose. Les cellules AGS traitées au LK ont manifesté un décollement de la membrane, une condensation nucléaire et une fragmentation ;

par conséquent, il pourrait avoir la capacité de traiter le cancer gastrique. La voie mitochondriale semble être la principale voie d'induction de l'apoptose des cellules cancéreuses gastriques par différents types de probiotiques, tels que *Lactobacillus paracasei* IMPC2.1 et *Lactobacillus rhamnosus* GG (L.GG) (**Amal Attia El-Morsy Ibrahim, 2017**).

4.2.2 Leucémie

Le virus T-lymphotropique humain 1 (HTLV-1) est l'agent causal de la leucémie des cellules T adultes, qui est une maladie fatale et n'a pas de traitement efficace (**Zimmerman *et al.*, 2010**).

L'activité antiproliférative du kéfir était dépendante de la dose et du temps. Dans les lignées cellulaires CEM et Jurkat, le kéfir a exercé son effet antiprolifératif en diminuant l'expression de l'ARNm du facteur de croissance transformant alpha (TGF- α) et en augmentant l'expression de l'ARNm du facteur de croissance transformant bêta1 (TGF- β 1).

Après traitement au kéfir, une augmentation marquée de la distribution du cycle cellulaire a été observée dans la phase pré G (1) des cellules CEM et Jurkat, ce qui indique l'effet proapoptotique du kéfir.

En conclusion, le kéfir est efficace pour inhiber la prolifération et induire l'apoptose des cellules CEM et Jurkat, qui sont des lymphocytes T malins HTLV-1-négatifs (**Maalouf *et al.*, 2011**).

4.2.3 Cancer du sein

De Moreno De LeBlanc, Matar, Farnworth, et Perdigon (2006), ont étudié les effets de la consommation du kéfir ou des cellules de kéfir free fraction (KF) pendant 2 à 7 jours sur les réponses immunitaires systémiques et locales dans les glandes mammaires en utilisant un modèle murin cancer de sein hormono-dépendant.

Des souris ont été injectées par voie sous-cutanée avec des cellules tumorales dans les glandes mammaires. Quatre jours après l'injection, elles ont reçu du kéfir ou du (KF) d'une manière cyclique. Les deux ont produit de l'interleukine 10 (IL-10) dans le sérum et ont déprimés les cellules d'IL-6 + qui ont été impliquées dans la production des estrogènes au niveau des glandes mammaires.

Deux jours d'administration de (KF) a fait augmenter les cellules d'ILK-10⁺ au niveau des glandes mammaires et de la tumeur et il a inhibé les cellules d'IL-6⁺ dans cette dernière.

De Moreno de LeBlanc, Matar, Farnworth, et Perdígón (2007), ont rapporté que lorsque les souris atteintes de la tumeur de sein ont été nourries de kéfir ou de (KF) pendant 2 ou 7 jours, présentaient des profils différents de cytokines. Les souris nourries de KF cycliquement pendant 2 jours ont montré des changements dans l'équilibre des cellules CD4⁺ et CD8⁺. Le nombre des CD4⁺ a augmenté alors que le nombre des CD8⁺ était constant avec augmentation du nombre des cellules apoptiques et une diminution du nombre des cellules Bcl-2 dans les glandes mammaires (**Amal Attia El-Morsy Ibrahim, 2017**).

4.3 Acticité anti inflammatoire

Selon Rosa *et al.*, (2017), les peptides bioactifs produits lors de la fermentation du lait par le microbiote présent dans les grains de kéfir, sont capables d'activer les macrophages, d'augmenter la phagocytose, de supprimer de la réponse immunitaire Th2, d'augmenter la production de NO et de cytokines et de stimuler de sécrétion de lymphocytes IgG et IgA dans la lumière intestinale.

Les vésicules extracellulaires produites à partir du kéfir peuvent atténuer l'inflammation induite par le TNF dans les cellules intestinales en inhibant la production des cytokines inflammatoires (**Seo *et al.*, 2018**).

Une autre étude scientifique sur l'effet du kéfir sur l'activité inflammatoire a démontré la diminution de l'expression des cytokines inflammatoires (IL-1 β) dans le tissu adipeux des rats spontanément hypertendus supplémentés par du kéfir pendant 10 semaines, l'augmentation des cytokines anti inflammatoires (IL-10) et la diminution des marqueurs d'oxydation du malondialdéhyde (MDA) et les hydroperoxydes (**Mohamed *et al.*, 2020**).

4.4 Activité anti oxydante

Au cours de la fermentation lactique, les EPS isolés à partir des grains de kéfir tibétain ont montré une activité anti oxydante dépendante de la concentration in vitro et une protection des protéines contre les dommages oxydatifs (**Chen *et al.*, 2015**).

D'après Yilmaz-Ersan, L. (2018), la capacité antioxydante du kéfir à base de lait de brebis est supérieure à celle du kéfir à base du lait de vache, posant le lait de brebis étant la meilleure source pour produire un kéfir utilisé comme antioxydant. Les effets biologiques du kéfir produit à partir de différents types de lait n'ont pas encore été entièrement identifiés en termes d'effets principaux.

Les échantillons du kéfir de lait fermenté par des grains ont démontré une forte capacité antioxydante pour le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) et le 2,2'-azino-di(3-éthylbenzthiazolin-sulfonate) (ABTS) que le kéfir du lait fermenté par les cultures starter. Cette expérience a indiqué que le kéfir du lait de brebis a exhibé un effet antioxydant dans le test ABTS (Mohamed *et al.*, 2020).

4.5 Activité anti-diabétique

L'administration de kéfir préparé à l'aide de lait de chèvre a montré un effet similaire à celui du glibenclamide comme agent antidiabétique (Nurliyani ; Sadewa, A.H. ; Sunarti, 2015).

De plus, l'alimentation de rats diabétique avec du kéfir préparé à partir de lait de chèvre a démontré une action antidiabétique, comme en témoigne une diminution du taux de glucose plasmatique, accompagnée d'une augmentation de l'activité de la glutathion peroxydase (GPx) et une meilleure libération de l'insuline (Harmayani, E. 2016).

Le kéfir a démontré des effets prometteurs dans la réduction de l'obésité et des dysfonctionnements métabolique associé (Bourrie, B.C.T. *et al.*, 2018).

L'étude des substances chimiques actives médiatrices de l'effet antidiabétique du kéfir n'a pas encore été menée (Mohamed *et al.*, 2020).

4.6 Cicatrisation des plaies

C'est rapporté que les propriétés anti inflammatoires des polysaccharides présents dans le kéfir peuvent induire la cicatrisation des plaies (Chena *et al.*, 2008).

Huseini *et al.*, (2012), ont observé que l'acide lactique, l'acide acétique, les polysaccharides et les autres composants chimiques du kéfir avaient une influence sur la cicatrisation des blessures. Ils ont démontré que le kéfir avait des propriétés de cicatrisantes plus que le traitement conventionnel avec du sulfadiazine argentique en ce qui concerne les blessures thermiques (Sonanki Mitra et Bikash C Ghosh, 2021).

Cette efficacité s'explique par la présence d'ingrédients bioactifs, à savoir l'acide acétique et l'acide lactique produits par les bactéries. Dans un modèle de rat, les plaies traitées avec *L. acidophilus* ont montré une meilleure progression de la cicatrisation des brûlures par rapport à la pommade Eucerin. Le kéfir augmente la prolifération et la migration des fibroblastes dermiques humains (HDF), réduit l'expression de l'IL-1 β et du facteur de croissance transformant- β 1 (TCF- β 1), ainsi que la stimulation du facteur de croissance basique des fibroblastes (bFCF) (Mohamed *et al.*, 2020).

4.7 Propriétés anti-allergiques

La consommation quotidienne de kéfir de lait et de produits à base de kéfir de soja limite les réponses IgE et IgG. Ainsi, la modification de la microflore intestinale peut être réalisée avec le kéfir pour inhiber les allergies alimentaires et améliorer la résistance des muqueuses en cas d'infections par des pathogènes gastro-intestinaux ((**Sonanki Mitra et Bikash C Ghosh, 2021**)).

Dans une autre étude, Lee *et al.*, (2007), ont découvert que la prévention de l'éosinophilie induite par l'ovalbumine dans le tissu pulmonaire et l'hypersécrétion de mucus peut être obtenue grâce au kéfir, ce qui en fait de lui un agent thérapeutique potentiel dans le traitement des maladies infectieuses comme la gestion de l'asthme bronchique allergique.

4.8 Effet d'hypocholestérolémie

Les bactéries lactiques (LAB) présentes dans le kéfir peuvent agir sur le cholestérol par l'intermédiaire de leurs produits métaboliques, ce qui permet de lier le cholestérol jusqu'à 30% (**Sonanki Mitra et Bikash C Ghosh, 2021**).

Vujicic *et al.*, (1992), ont rapporté que 28 à 65% d'assimilation du cholestérol se produit lorsque le lait est inoculé avec une culture de kéfir suivie d'une incubation à 24,8°C pendant 24h.

Liu *et al.* (2006a), ont déclaré que les propriétés de réduction du cholestérol total du kéfir de lait de soja étaient aussi efficaces que celles du kéfir de lait et qu'elles réduisaient également le triacylglycérol sérique et le cholestérol LDL. Toutes ces études révèlent que le kéfir et ses composants sont des substances hypocholestérolémiantes potentielles.

Dans une autre étude, Wang *et al.*, (2009), a observé une réduction significative du taux du cholestérol total, des lipoprotéines de basse densité (LDL) et les triglycérides dans le sérum, alors que y'avait aucun changement du taux des lipoprotéines de haute densité (HDL-C) dans des souris nourries d'un régime riche en cholestérol et enrichi avec du *Lactobacillus plantarum* MA2. De plus, le taux du cholestérol total et les triglycérides sont réduits dans le foie et augmentés significativement dans les fèces des animaux.

Des résultats d'une étude contradictoire ont été rapportés par St-Onge *et al.* (2002), où la consommation du kéfir n'a pas réduit le taux du cholestérol total, LDL-C, HDL-C et les triglycérides, mais il a augmenté le taux de l'acide isobutyrique, l'acide propionique et l'acide iso-valérique, ainsi que le taux des petites chaînes des acides gras dans les fèces.

En outre Chen *et al.*, (2015), ont démontré que le kéfir a atténué les profils lipidiques sériques induits par l'alimentation en réduisant les concentrations de triacylglycérol, de cholestérol total et de cholestérol LDL.

4.9 L'activité de la β -galactosidase

La β -galactosidase est une enzyme naturellement présente dans les grains de kéfir. Elle hydrolyse le lactose ce qui fait que le kéfir est adapté pour les personnes intolérantes au lactose (De Vrese *et al.*, 1992) de plus, il contient moins de lactose que le lait normal (Farnworth, 2005 ; Sarkar, 2007).

Hertzler et Clancy (2003), ont indiqué que les cultures starter qui comporte six bactéries sans *L. acidophilus* et le kéfir sont tout aussi efficace dans la diminution de l'haleine dans les cas de mal digestions du lactose chez l'adulte par rapport au yaourt. Il a été également établi que le kéfir possède une activité considérable de β -galactosidase, en convertissant le lactose en glucose et galactose digestible ce qui améliore la tolérance au lactose (Sonanki Mitra et Bikash C Ghosh, 2021).

4.10 Effet du kéfir sur le poids corporel

Jae-Woo Choi *et al.* (2015), a réalisé une étude sur l'effet du kéfir sur le poids corporel. Ils ont pris 04 groupes de souris qui sont nourries avec des régimes différents pendant 8 semaines : premier groupe avec un régime normal (ND), deuxième groupe avec un régime riche en graisses (HFD), troisième groupe avec un régime riche en graisses supplémenté en poudre de kéfir à 0,1 % (LK, wt/wt) et le quatrième avec un régime riche en graisses supplémenté en poudre de kéfir à 0,2 % (HK, wt/wt).

A la fin des 8 semaines, les souris nourries LK et au HK avaient un poids moins lourd respectivement de 10 et 24% par rapport aux souris nourries au HFD. Les HK ont prévenu le gain du poids causé par les HFD, les souris nourries au HK ont le même poids que les souris nourries au ND, sachant qu'il n'y avait pas de différence dans la quantité de nourriture consommée par les 4 groupes de régimes (Choi *et al.*, 2017).

Les souris nourries au HK ont présenté une réduction de 56% du poids de la demi-matière grasse de l'estomac par rapport aux souris nourries au HFD. La valeur était la même que celle mesurée chez les souris nourries à la ND. Le LK a réduit l'augmentation du poids du foie induit par le HFD, mais aucune réduction supplémentaire n'a été obtenue avec le HK (Choi *et al.*, 2017).

En conclusion, le kéfir a réduit de manière significative la prise de poids corporel et a inhibé l'accumulation de graisse dans la graisse épидидymaire et les tissus hépatiques en diminuant l'expression des gènes C/EBP α , PPAR γ , aP2, FAS et ACC dans la graisse épидидymaire, ce qui indique que l'adipogenèse et la lipogenèse ont été réduites. Le kéfir a augmenté l'expression des gènes PPAR α et CPT1 α , entraînant l'induction de la β -oxydation mitochondriale des acides gras, ce qui a finalement permis d'éviter la tétatose du foie.

4.11 Effet du kéfir sur le stress oxydatif et la maladie d'Alzheimer

Alyne Mendonça Marques Ton *et al.*, (2020), ont réalisé une étude sur l'effet du kéfir sur les fonctions cognitives, les biomarqueurs du stress oxydatif systémique et les cellules endommagées sur des patients âgés atteints d'Alzheimer avec une dose minimale de 2ml/kg pendant 90 jours.

Alors que c'est connu que les patients atteints d'Alzheimer sont susceptibles de multiplier les complications en relation avec les performances cognitives, les nouvelles stratégies thérapeutiques pour renverser cette progression sont encore insuffisantes. Intéressamment, les résultats avec la supplémentation en kéfir pendant 3mois ont amélioré tous les tests cognitifs appliqués lors de l'expérimentation (mémoire, fonction visuo-spatiale, les capacités d'abstraction, les fonctions exécutives et langagières, les capacités constructives et d'attention) (Alyne Mendonça Marques Ton *et al.*, 2020).

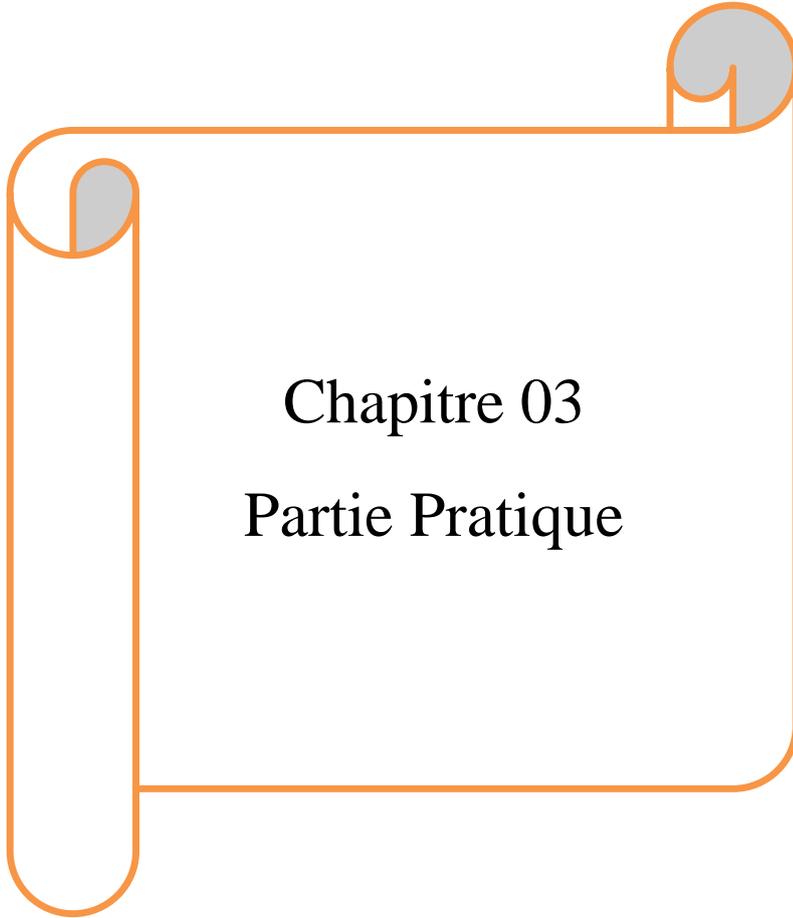
L'étude actuelle a démontré qu'une supplémentation symbiotique de 90 jours sur les patients âgés atteints d'Alzheimer, a eu des effets favorables sur la dysfonction cognitive (en améliorant la mémoire, le langage, les fonctions exécutives, les fonctions visuo-spatiales, conceptualisation et les capacités d'abstraction) l'inflammation systémique (en réduisant les cytokines pro inflammatoires), le stress oxydatif systémique (vérifié par la diminution de ROS et AOPP), et les dommages aux cellules sanguines (analysé par dommages/réparation de l'ADN et l'apoptose). Par conséquent, les données de la présente étude ouvrent une grande opportunité pour l'évaluation des bénéfices cliniques des probiotiques/synbiotiques dans des essais cliniques contrôlés randomisés de plus grande envergure, renforçant les précieuses conclusions actuelles (Alyne Mendonça Marques Ton *et al.*, 2020).

5. Facteurs influençant sur la qualité du kéfir

La qualité du kéfir devrait prendre en compte l'ensemble de ses propriétés, à savoir la composition chimique, la microflore (du point de vue quantitatif et qualitatif), les qualités rhéologiques et les caractères organoleptiques. Ainsi, est-elle liée à l'origine, à la composition

et à la qualité du lait et des grains, mais aussi aux conditions de production et à la technologie utilisée.

- **La microflore des grains :** la composition et les caractéristiques biochimiques du kéfir sont influencées par le temps d'incubation en présence des grains, la proportion entre les grains et le lait (dont la diminution favorise la plupart des microorganismes), l'utilisation simultanée des grains et du levain déjà prêt.
- **Le lavage répété des grains :** élimine une quantité importante des microorganismes acidifiants, ralentit l'acidification et réduit les taux d'acide lactique et d'acides volatils (**Koroleva et Bavina, 1970**).
- **Le temps et les conditions de conservation :** déterminent également la composition de la microflore du produit. Pendant la conservation à basse température (2-4 °C ou 6-8 °C) l'évolution de la microflore est lente. Après 7 jours de conservation, sa composition n'est pas très diversifiée. Par contre, une conservation à 18-20 °C entraîne des modifications prononcées (**Koroleva et al., 1978b**).
- **Les modifications chimiques :** influencent sur la qualité organoleptique du kéfir résultant de l'activité microbienne des grains et du levain ; elles dépendent donc du processus de fermentation et de maturation.
- **La fermentation :** comme la qualité du kéfir est liée aux taux d'acide lactique et d'alcool produits, les fermentations correspondantes doivent être en équilibre. Ceci est assuré par le choix d'une température d'incubation convenable. La fermentation lactique est favorisée à température élevée (26 °C-35°C), à la différence de la fermentation alcoolique qui est favorisée à basse température (5 °C-15°C). Par conséquent, les températures comprises entre 18°C et 20°C sont les meilleures pour l'équilibre recherché (**Horvath, 1968 ; Petricic et al., 1977**).
- **Le traitement du lait :** la texture dépend considérablement du traitement thermique du lait (**Berzhinskas et al., 1978**). L'homogénéisation du lait à 3,5% de matière grasse a donné un produit ayant une acidité augmentée de 10 à 20 %, un temps de conservation supérieur de 50 à 60 % et des qualités organoleptiques améliorées, Ceci est dû à une meilleure texture du caillé et à une synérèse réduite ; parallèlement, la montée de la crème est évitée. (**Szakaly et al., 1982**).



Chapitre 03
Partie Pratique

Partie 01 : Matériels et méthodes

L'objectif de notre travail est de mettre en évidence les propriétés physico-chimiques, nutritionnelles et sensorielle du kéfir de lait.

Ce présent travail a été réalisé au niveau du laboratoire commun 2 du département de biochimie et de microbiologie au niveau de la faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques Université de Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, du 26 mars 2023 jusqu'au 04 juillet 2023.

L'étude a été effectuée sur deux échantillons de lait de vache :

- Le premier a subi une fermentation pendant 24 H ;
- Le second une fermentation pendant 48H.

Des analyses physico-chimiques et sensorielles ont été effectuées sur le lait frais et le kéfir du lait fermenté pendant 24H et 48H.

1. Fermentation du lait par les grains de kéfir

1.1 Origine des grains de kéfir et du lait

Le lait de vache utilisé provient de la région de Bouzeguène-Centre (village de Houra). Une quantité de 10L a été utilisée tout au long de la période d'échantillonnage. Chaque fin début de semaine une mesure d'1L a été collecté en respectant les conditions hygiéniques (**Annexe 1**).

1.2 Fermentation

Les grains de kéfir ont été cultivés dans du lait et dans une étuve à 25°C. Après chaque deux jours, le lait doit être renouvelé et les grains sont rincés à l'eau distillée et égouttés pour une nouvelle fermentation (**Ninane, 2008**).

Ces grains vont permettre une double fermentation : lactique et alcoolique

➤ La fermentation lactique :



➤ La fermentation alcoolique en anaérobiose :



2. Matériels utilisés pour les analyses

Les analyses relatives à nos études sont : physico-chimiques et sensorielles. Le (Tableau VII), résume les matériels, appareillages et ustensiles utilisés pour ces analyses.

Tableau VII : Matériels des analyses

Analyses	Types	Appareillages	Ustensiles	Produits et réactifs utilisés
Physico-chimiques	pH/T	pH-mètre (inoLab)	Béchers ; électrode combinée ; agitateur et barreau magnétique.	Kéfir de lait
	Acidité		Burette de titration (25ml) ; béchers ; éprouvette	Solution NaOH de 0.1N ; Phénolphtaléine
	Dosage des protéines	Spectrophotomètre UV [BIOTECH ENGINEERING MANAGEMENT CO.LTD. (UK) UV_9200]	Pipette graduée (1ml) ; pipeteur ; tubes à essais ; porte tubes ; béchers ; seringue insuline (1ml) ; fiole jaugée ; éprouvette (100ml)	Folin-Ciocalteu ; Solution A, B et C ;
	Matière sèche	Dessiccateur (DENVER INSTRUMENT, IR 35)	Coupelle et cuillère.	Kéfir de lait ; lait frais.
Sensorielles	Analyses : <ul style="list-style-type: none"> • Hédoniques • Discriminatives • Descriptives 		Gobelets ; eau potable ; papier ;	Kéfir de lait

3. Analyses physico-chimiques

3.1 pH-métrie

Le principe de cette méthode repose sur la mesure du changement de potentiel de tension électronique lorsqu'il est immergé dans la solution testée en mesurant la concentration d'ions hydrogène libres chargés positivement (**Anonyme, 2022**).

Pour réaliser cette analyse, de différentes quantités de grains (5g, 6g, 7.5g et 10g) ont été utilisées pour la même quantité de lait qui est de 100ml. Cela nous permettra de déterminer l'influence de la quantité des grains sur le pH du kéfir du lait.

Mode opératoire est donné en (**Annexe 2**)

3.2 L'acidité titrable

L'acidité titrable du lait est exprimée en « degré Dornic » c'est-à-dire en décigramme d'acide lactique par litre de lait (**AFNOR, 1985**). Il s'agit du titrage de l'acidité par la soude Dornic (N/9) en présence de phénol phtaléine comme indicateur (**Mansour, 2015**).



Pour l'analyse, nous avons diversifié la quantité des grains de kéfir pour déterminer si oui ou non la quantité de ces derniers a une influence sur l'acidité du kéfir du lait. Le mode opératoire est donné en (**Annexe 3**)

→ **Expression des résultats :**

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$C_2 = \frac{C_1 \times V_1}{V_2}$$

→ **Calcul de la concentration massique :**

$$m = n \times M$$

$$\frac{m}{V} = \frac{n \times M}{V} \Leftrightarrow C_m = C_2 \times M$$

→ **Expression des résultats en degré Dornic (°D) :**

$$1^\circ\text{D} \rightarrow 0,1\text{g/l D'acide lactique}$$

- C_1 : Concentration molaire du NaOH (mol/l)
 C_2 : Concentration molaire du kéfir de lait (mol/l)
 V_1 : Volume titré de NaOH (ml)
 V_2 : Volume du kéfir de lait à titrer (ml)
 m : Masse (g)
 M : Masse molaire de l'acide lactique (90g/l)
 C_m : Concentration massique (g/l)

3.2.1 Dosage des protéines par spectrophotométrie

La spectrophotométrie est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée en solution. Plus cette espèce est concentrée plus elle absorbe la lumière dans les limites de proportionnalités énoncées par la loi de Beer Lan Bert (**Semmame, 2020**)

$$DO = \varepsilon \times l \times C$$

DO : Densité optique absorbance

ε : Coefficient d'absorption moléculaire de la substance ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$)

L : Longueur d'onde (cm ou m)

C : Concentration molaire de la solution (mol/l).

Dans le cadre de notre étude, une spectrophotométrie UV à 750nm par la méthode de Lowry est effectuée pour le dosage des protéines totales présentes dans le kéfir de lait, en réalisant une gamme d'étalonnage de 11 tubes à essais et une gamme d'échantillon de 03 tubes.

➤ Principe de la méthode de Lowry et *al* 1951

Le réactif de Folin-Ciocalteu (acide phospho-tungsto-molybdique) est plus ou moins réduit par les protéines (les groupements oxydés des acides aminés), notamment les groupements phénoliques du tryptophane et de la tyrosine et, dans une moindre mesure, ceux de la cystéine et l'histidine (la liaison peptidique est aussi impliquée).

Cette réaction donne naissance à un complexe coloré : le bleu de molybdène dont l'intensité peut être mesurée au spectrophotomètre à 750 nm.

La sensibilité du dosage est augmentée par un prétraitement préalable de la réaction par un réactif au cuivre en milieu basique.

Le mode opératoire est donné en (Annexe 4)

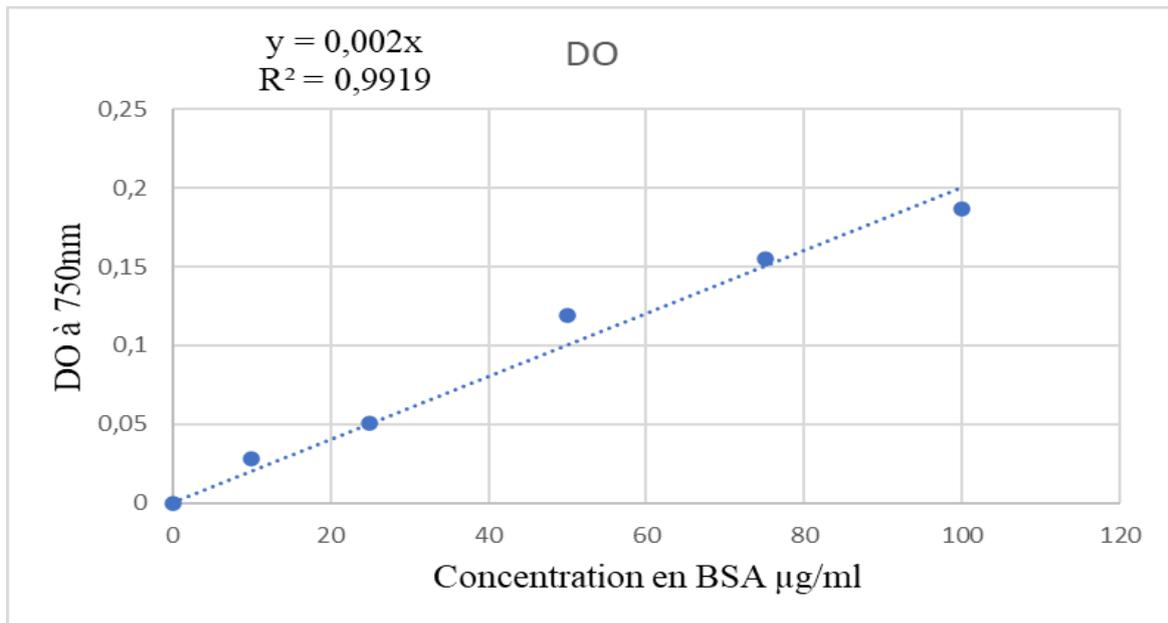


Figure 7 : Courbe étalon $DO = f[BSA]$ pour le dosage des protéines par la méthode de Lowry *et al.*, (1951)

3.3 Dosage de la Matière sèche

Il s'agit de mesurer la perte d'eau du lait après un séchage dans un dessiccateur muni d'un système électronique (infrarouge) permettant de calculer le taux de matière sèche restante (Akli, 2011).

- Prendre une coupelle et on la pèse à l'aide du dessiccateur réglé à une température de 120°C pendant 8min ;
- Ajouter 3g du lait et l'étaler sur la coupelle puis baisser le capot de l'appareil ; départ automatique de l'analyse ;
- La fin d'évaporation se manifeste lorsque les huit minutes sont écoulées. Le dessiccateur indique directement en pourcentage le taux d'humidité sur l'écran ;
- Calculer le taux de la matière sèche comme suit :

$$\text{Matière sèche} = 100\% - \text{Humidité}$$

4. Analyse sensorielle

L'analyse sensorielle ou organoleptique est une science multidisciplinaire qui fait appel à des dégustateurs et à leur sens de la vue, de l'odorat, du goût, du touché, et de l'ouïe pour mesurer les caractéristiques sensorielles et l'acceptabilité des produits alimentaires ainsi que de nombreux autres produits. Elle s'applique à toute une gamme de domaines comme le développement et l'amélioration des produits, le contrôle de la qualité l'entreposage et le développement des processus (Leksir, 2020).

Plusieurs types de tests ont été choisis. La nature ainsi que l'organisation des épreuves sont présentées comme suit :

4.1 L'épreuve hédonique

Les tests hédoniques portent sur les préférences des consommateurs et ont pour but de comparer l'appréciation hédonique globale de différents produits en se focalisant sur les ressentis individuels liés au plaisir ou déplaisir provoqué par l'aliment (Arnaud, 2016). Ce test exige un grand nombre de dégustateurs supérieur à (60 personnes) sujet naïf.

Parmi les méthodes hédoniques, il existe deux grandes familles : tests de notation et tests de préférences, que nous avons utilisé pour notre analyse.

➤ Test de préférence

Les tests de préférence regroupant l'épreuve de classement et l'épreuve par paire. Par simplification l'épreuve par paire peut être définie comme une épreuve simplifiée de classement avec uniquement deux échantillons (Arnaud, 2016)

Notre analyse est fondée sur la caractérisation du degré et le niveau d'appréciation de la flaveur, le goût, la consistance entre trois produits assez similaires comme le lait caillé, le kéfir du lait de 24H et le kéfir du lait de 48H. Selon nos moyens, nous avons fait appel à 10 jurys naïfs, en leur présentant trois échantillons codés en anonyme. Le dégustateur va répondre sur le bulletin de réponse (Figure 8) en mentionnant le code qui correspond à sa boisson préférée (271 : kéfir 24H, 498 : kéfir 48H, 567 : lait caillé).

Nom :	Date :		
Prénom :			
Deux échantillons-vous sont proposés, numérotés :			
271	489	567	<input type="text"/>
Ces deux échantillons sont différents. Indiquez celui que vous préférez			

Figure 8 : Bulletin de réponse de l'analyse hédonique

4.2 L'épreuve discriminative

Les épreuves discriminatives visent à détecter la présence ou l'absence de différences sensorielles entre deux produits au moins. Parmi les tests de cette épreuve citons : l'essai triangulaire, l'essai par paire, le test duo-trio, le test « A », non « A » (**Lefebvre et Bassereau, 2003**).

La réalisation du test triangulaire se fait comme suit (**Amélie Deglaire, 2022**) :

- Le sujet reçoit 3 échantillons (deux laits caillés et un seul kéfir), dans le but de mettre en évidence la présence d'une différence sensorielle entre eux ;
- Les présentations pour les deux produits A et B :
 - 6 présentations possibles : ABB, AAB, ABA, BAA, BBA, BAB ;
- Nombre de sujets recommandés : 24 - 30 ;
- Interprétation statistique, compter le nombre de réponses correctes et comparer à la valeur de la table qui dérive de la loi binomiale d'ISO 4120-2021 (**Tableau VIII**).

Tableau VIII : Nombre minimal de réponses correctes nécessaire pour conclure qu'il existe une différence perceptible, sur la base d'un essai triangulaire (ISO 4120 :2021)

n	α					n	α				
	0.20	0.10	0.05	0.01	0.001		0.20	0.10	0.05	0.01	0.001
6	4	5	5	6	-	27	12	13	14	16	18
7	4	5	5	6	7	28	12	14	15	16	18
8	5	5	6	7	8	29	13	14	15	17	19
9	5	6	6	7	8	30	13	14	15	17	19
10	6	6	7	8	9						
						31	14	15	16	18	20
11	6	7	7	8	10	32	14	15	16	18	20
12	6	7	8	9	10	33	14	15	17	18	21
13	7	8	8	9	11	34	15	16	17	19	21
14	7	8	9	10	11	35	15	16	17	19	22
15	8	8	9	10	12						
						36	15	17	18	20	22
16	8	9	9	11	12	42	18	19	20	22	25
17	8	9	10	11	13	48	20	21	22	25	27
18	9	10	10	12	13	54	22	23	25	27	30
19	9	10	11	12	14	60	24	26	27	30	33
20	9	10	11	13	14	66	26	28	29	32	35
21	10	11	12	13	15	72	28	30	32	34	38
22	10	11	12	14	15	78	30	32	34	37	40
23	11	12	12	14	16	84	33	35	36	39	43
24	11	12	13	15	16	90	35	37	38	42	45
25	11	12	13	15	17	96	37	39	41	44	48
26	12	13	14	15	17	102	39	41	43	46	50

Pour la réalisation du test triangulaire :

- Faire appel à 25 personnes pour déguster, 03 échantillons codés en anonyme :

→ Pour l'épreuve du lait fermenté pendant 24H :

❖ 165 : lait caillé, 235 : lait caillé, 498 : kéfir

→ Pour l'épreuve du lait fermenté pendant 48H :

❖ 165 : lait caillé, 235 : kéfir, 498 : lait caillé

Ces échantillons ont été présentés à chaque dégustateur, deux sont identiques et un seul est différent selon la norme (NF ISO 11035 – 2007).

- Le jury a pour rôle de distinguer celui qui est différent et porter sa réponse sur une fiche (**Figure 9**) lors de cette épreuve le dégustateur est obligé de donner une réponse même s'il n'est pas sûr ;
- Le nombre des réponses correctes est compté ainsi comparé à une valeur de la table de la loi binomiale. Si le nombre de bonnes réponses est significatif, procéder à l'épreuve descriptive, dans le cas contraire dire qu'il n'y a pas de différence entre le lait caillé et le kéfir de lait.

Nom :	Date :	
Prénom :		
Trois échantillons-vous sont proposés, numérotés :		
165	235	498
Parmi ces échantillons, deux proviennent d'un même produit et le troisième d'un autre produit.		
Indiquez celui que vous percevez comme différent <input type="text"/>		
Donnez une réponse même si vous n'êtes pas certain (e)		

Figure 9 : Bulletin de réponse de l'analyse discriminative

4.3 L'épreuve descriptive

Les méthodes descriptives sont utilisées dans le but de qualifier les différences entre les produits en établissant un « profil sensoriel » pour chacun d'eux. Le profil conventionnel est la méthode de référence recommandée par les normes AFNOR (NF ISO 13299 Mai 2010) (Arnaud, 2016).

Le profil conventionnel peut se résumer comme suit :

- Établir une liste de descripteurs la plus exhaustive possible dans le but de couvrir toutes les caractéristiques sensorielles des produits à évaluer (acidité, odeur, consistance, blancheur, ...). Il convient, à établir une liste d'environ 5 à 20 attributs sensoriels excluant les termes hédoniques. Il est possible de regrouper les descripteurs en catégories sensorielles (textures, arômes, arrière-goûts...);
- Mesurer l'intensité de la sensation perçue pour chacun des attributs sensoriels à partir d'une échelle (structurée ou non) définie en amont, puis établir le profil des produits via l'ensemble de ses caractéristiques sensorielles. Pour cela, différentes représentations sont possibles (histogramme, graphique polaire...);
- Comparer les profils des différents produits évalués. La superposition des graphiques obtenus précédemment (en particulier pour les graphiques polaires) permet une comparaison visuelle rapide des profils des différents produits, mais pas de tester leurs différences. Afin de tester statistiquement ces différences il convient d'appliquer un test spécifique par attribut en prenant en compte les caractéristiques de l'épreuve (Arnaud, 2016).

Pour réaliser cette épreuve nous avons fait appel au même nombre de jurys (10), qui ont pour objectif de noter le produit qu'ils ont déterminé comme différent lors de l'épreuve discriminative sur une fiche (Figure 10). Ils doivent établir un diagramme en se référant à une échelle de notation de 1 à 9 et comportant 06 attributs (acidité, couleur, saveur, odeur et consistance) décrivant les produits dégustés.

A la fin de l'épreuve, une moyenne va être attribuée pour chaque attribut pour pouvoir en final réaliser un spider graph pour les deux produits de kéfir et voir s'il y'a une différence d'appréciation entre eux. Ces épreuves ont été réalisées sur le kéfir fermenté pendant 24H ainsi que celui de 48H, pour déterminer le kéfir le plus apprécié par les dégustateurs.

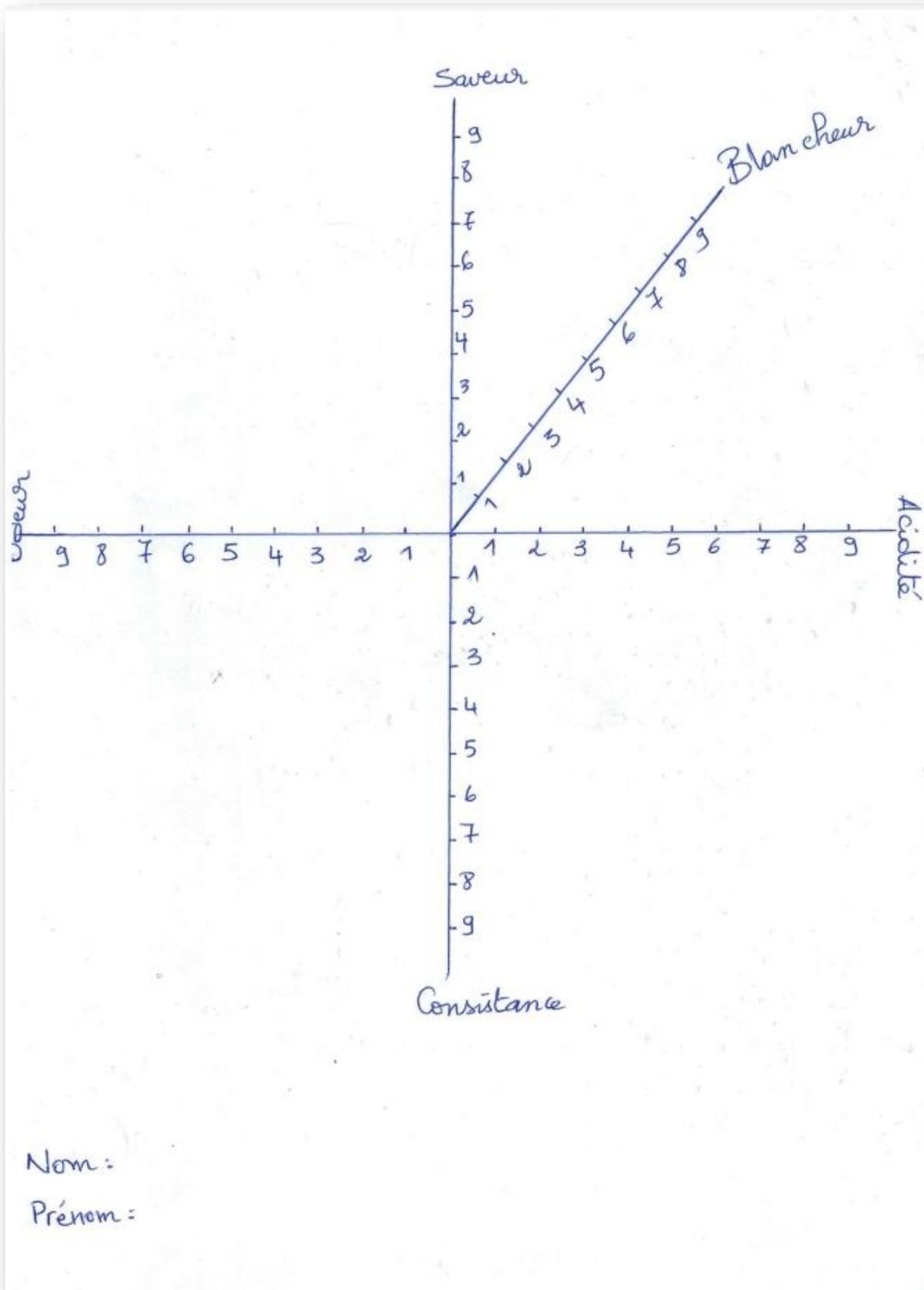


Figure 10 : Echelle de notation présentant les attributs du kéfir pour l'épreuve descriptive

Partie 02 : Résultats et discussion

1. Résultats des analyses physico-chimiques

Selon la FAO (2010), le pH et l'acidité dépendent de la composition du lait, essentiellement, teneur en caséine, en sel minéraux et en ions, de la flore microbienne totale et son activité métabolique, de l'environnement de la traite, de la manutention et le stockage du lait.

D'après Elaachi et Kelouche (2018), l'étude comparative des caractéristiques physico-chimiques du lait a montré que le lait de vache possède des caractères très attractifs par ses apports nutritionnels et organoleptiques, sa disponibilité en quantités suffisantes et ses caractéristiques physicochimiques.

Les résultats des paramètres physico-chimiques du lait de vache frais et fermenté enregistrés dans (**Annexe 5**).

1.1 pH

Le pH du lait utilisé comme matière première pour la fabrication de notre kéfir est de 6.6, ce qui est conforme à la norme élaborée par la FAO est qui est de 6.7 pour un bon lait frais.

La (**Figure 11**), représente les résultats du pH obtenus pour nos deux produits testés. Nous remarquons une diminution du pH entre le Kéfir obtenu après 24 h de fermentation et celui de 48 H et qui sont respectivement de 4.34 et 4.1 mais qui restent conformes aux normes préconisées par la FAO (4.2 à 4.5).

En effet plus le temps de fermentation est long plus il y'a production et accumulation des acides organiques tel que l'acide lactique produit par les différents types de bactéries lactiques. Selon (**Nuril Hafidzoh Yusriyah, 2014**), la conversion du lactose en acide lactique par des bactéries homofermentaires telles que streptococcus et certaines espèces de lactobacillus apparait grâce au processus de la glycolyse (voie Embden-Mayerhoff-Parnass) correspondant à la conversion du lactose en acide pyruvique puis décomposé en acide lactique.

Les bactéries homofermentaires produisent plus de 85% d'acide le lactique comme produit métabolite, ce qui augmente l'acidité du kéfir et de ce fait la baisse du pH.

Lors de la production du kéfir, le pH évolue librement vers un pH acide, et représente donc un facteur majeur de ralentissement du métabolisme bactérien (Catherine Béal, Sandra Helinck, 2019).

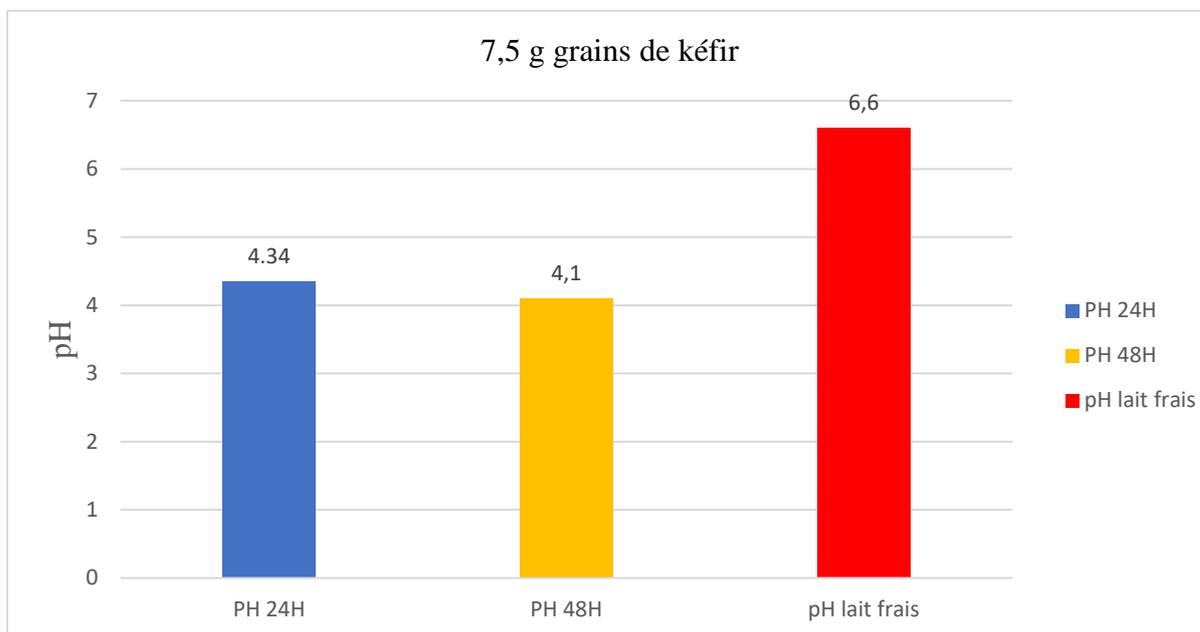


Figure 11 : Variation du pH en fonction du temps de fermentation et de la quantité des grains

1.2 Acidité

On rappelle que l'acidité titrable = acidité naturelle + acidité développée. D'après Abu Tarboush (1996), les constituants du lait qui contribuent à l'acidité naturelle sont les phosphates (0,09%), les caséines (0,05-0,08%), les autres protéines (0,01%), les citrates (0,01%) et le bioxyde de carbone (0,01%).

A cette acidité naturelle s'ajoute l'acidité développée qui est la résultante d'un développement des bactéries lactiques qui forment de l'acide lactique par fermentation du lactose.

Selon (Jeantet *et al.*, 2008), les caractéristiques physico chimiques du kéfir notamment son acidité, dépendent de la composition de la microflore, puisqu'elles résultent de son activité métabolique. Par conséquent, elles sont influencées par le temps d'incubation en présence des grains et la proportion entre les grains et le lait

Les résultats obtenus montrent que l'acidité est de 79,47°D pour le kéfir de 24H et 88,29°D pour le kéfir ayant subi une fermentation pendant 48H, ces valeurs sont conformes à la norme FAO qui fixe la fourchette (60°D à 90°D) pour le kéfir (Figure 12).

On déduit que, l'acidité dépend de l'activité microbienne qui transforme le lactose en acide lactique ainsi que les composants du lait tels que l'albumine, citrate et phosphate de caséines ; qui dépend du temps d'incubation : selon (**Bayu Triwibowo *et al.*, 2020**), la durée de la fermentation affecte l'activité microbienne, de ce fait, plus le temps augmente plus l'activité est forte plus le substrat est dégradé.

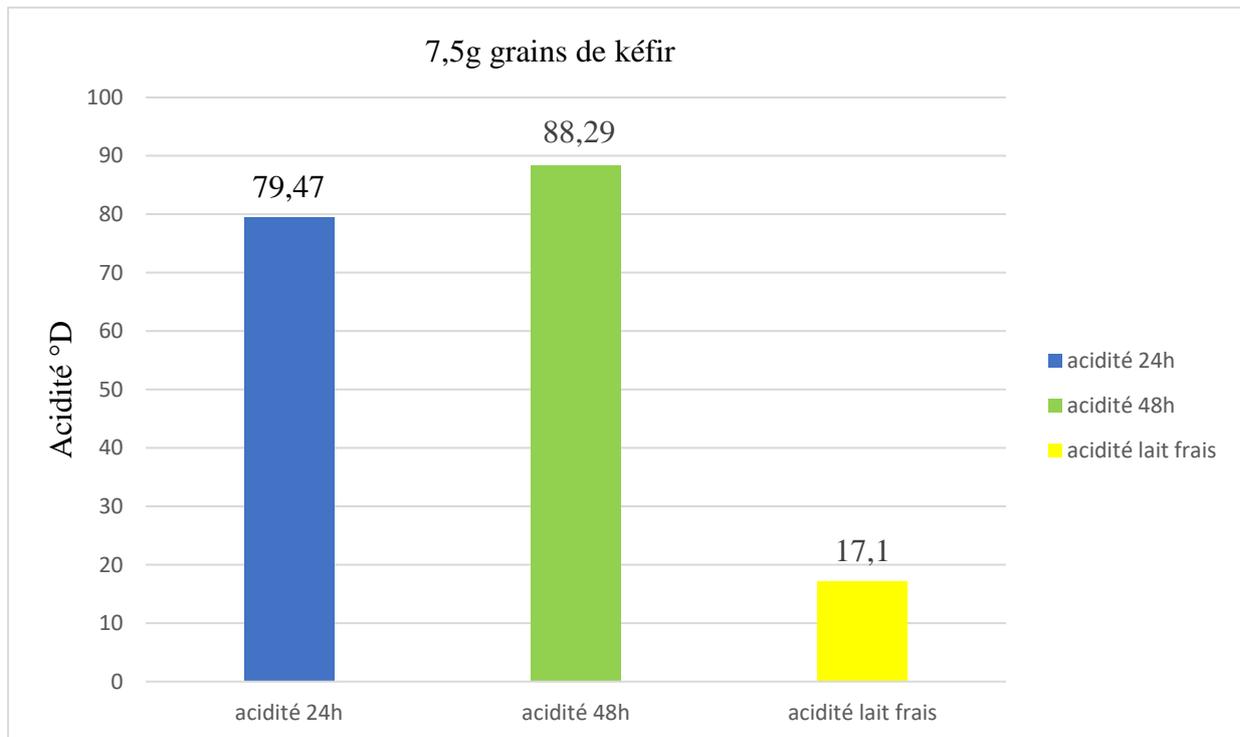


Figure 12 : Variation de l'acidité titrable en fonction du temps d'incubation et de la quantité des grains

2. Résultats des analyses biochimiques

Les résultats des analyses biochimiques sont présentés dans (**Annexe 6**)

2.1 Matière sèche et humidité

La teneur en matière sèche du lait désigne tous ses constituants autres que l'eau, elle varie en fonction de plusieurs paramètres notamment, l'alimentation de la femelle laitière, la saison et aussi le stade de lactation (**Bengoumi *et al.*, 1994**).

D'après nos résultats, nous remarquons une baisse en matière sèche des deux produits analysés par rapport à celle du lait frais utilisé comme matière première (**Annexe 6**).

Cette baisse est dû probablement à la dégradation des différents composants du lait lors de la fermentation (**Irigoyen *et al.*, 2004**). Nous constatons aussi que, plus le temps de fermentation

est long plus la teneur en matière sèche diminue et plus le taux d'humidité augmente (**Figure 13**).

Selon (**Irigoyen et al., 2004**), le taux de la matière sèche diminue de 2 à 4,2% durant la période de stockage qui est du meme concernant le taux de la matière grasse.

(**Ottogalli et al., 1973**), ont montré que la teneur en matière sèche est différente selon l'origine géographique des grains de kéfir.

En général, plus le temps de fermentation progresse, plus la croissance microbienne augmente et les solides solubles diminuent (**Randazzo et al., 2016**) ce qui contribue à la stabilité du produit (**Destro et al., 2019**).

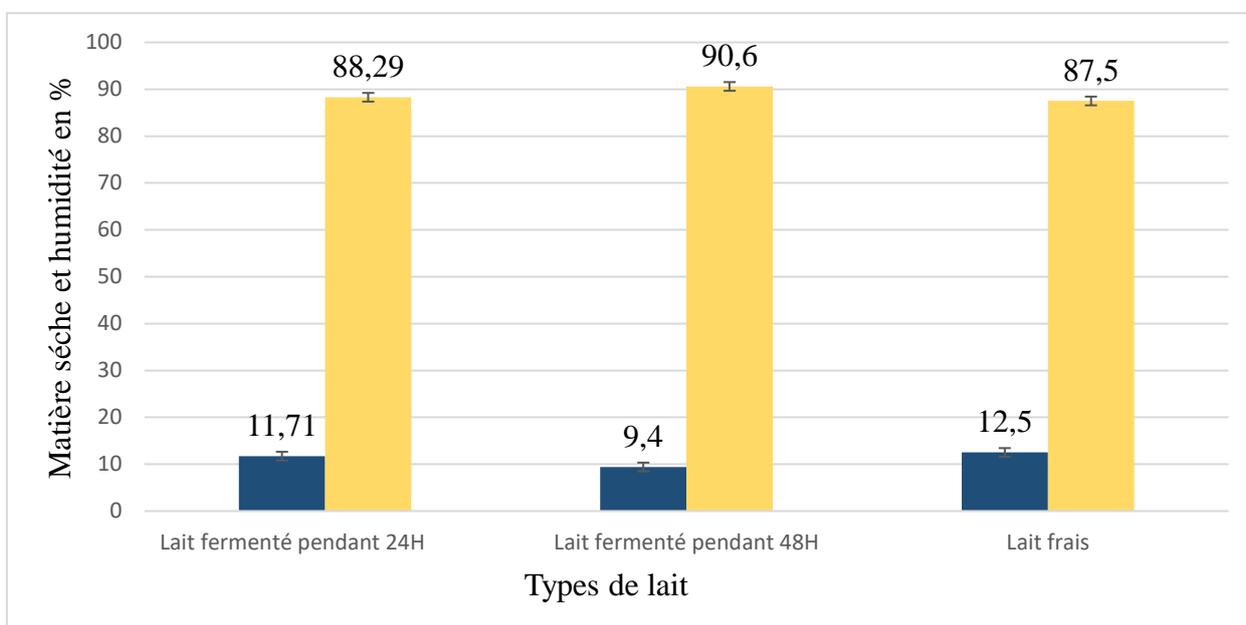


Figure 13 : Variation de la teneur en matière sèche et de l'humidité en fonction du temps de fermentation

2.2 La teneur en protéines

La teneur en protéine varie selon la race et la génétique de la vache et de son alimentation, la saison et le stade de lactation (**Amiot et al., 2002**).

La teneur en protéines du lait est une caractéristique essentielle de sa valeur marchande, technologique et biologique (**Lakhdara Nedjouda, 2022**).

Pendant la fermentation, les protéines deviennent facilement digestibles grâce à l'action de la coagulation acide et de la protéolyse qui a été largement étudiée grâce à leur mécanisme

d'hydrolyse des protéines complexes pour libérer les acides aminés (**Lim et al., 2019**) et d'après (**Catherine Béal, Sandra Helinck, 2019**), les acides aminés, les petits peptides et les caséines du lait sont utilisés par les bactéries lactiques, mais avec une efficacité variable selon l'espèce ou la souche considérée. Le kéfir présente un profil d'acides aminés plus important que celui du lait utilisé comme substrat de fermentation. Parmi les acides aminés libres, la thréonine, la proline et la lysine, présentent dans ce produit une augmentation très prononcée (**Catherine Béal et Sandra Helinck, 2022**).

Selon les résultats représentés dans (**Annexe 4**), la teneur en protéine du lait frais utilisé comme substrat est conforme à la norme donnée par l'AFNOR. Mais la teneur en protéines de nos deux produits est en baisse par rapport au lait frais initiale et par rapport à la durée de fermentation.

En effet, après la fermentation de 24H, nous avons enregistré un taux protéique de 28,75g/l, ce taux a baissé jusqu'à 18,16g/l après 48H de fermentation. Ces valeurs obtenues sont très proches de la norme donnée par le Codex alimentaire qui est de 28g/l pour les produits laitiers fermentés Par suite, le taux protéique a poursuivi sa diminution jusqu'à atteindre une valeur de 18,16g/l qui est inférieur à la norme.

Cette diminution peut être expliquée par la dégradation des protéines en peptides et en acides aminés suite à l'activité protéolytique des bactéries lactiques qui augmente avec le temps de et la durée de fermentation (**Figure 14**).

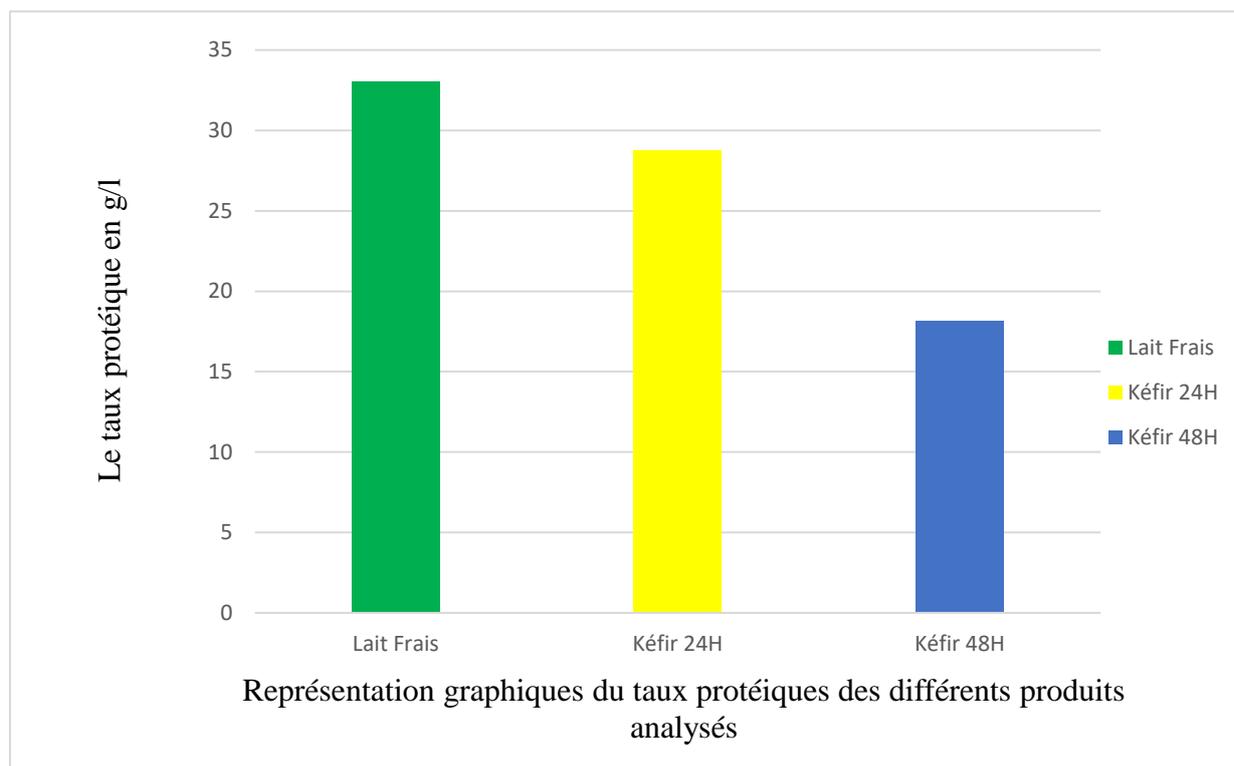


Figure 14 : La teneur protéique des différents types du lait

3. Résultats de l'analyse sensorielle

Le kéfir doit avoir un arôme, une flaveur et une bonne sensation à la bouche pour répondre aux attentes des consommateurs qui sont liées à ses propriétés rhéologiques. Ces caractéristiques sont influencées en premier lieu par le type du lait utilisé et son effet sur les propriétés du kéfir (texture, propriétés rhéologiques et organoleptiques) (Frag *et al.*, 2020).

Vierling (2003), rapporte que l'aspect, l'odeur, la saveur texture du kéfir de lait ne peuvent être précisés qu'en comparaison avec un lait frais.

3.1 L'épreuve hédonique

Cette épreuve, nous permettra d'évaluer et de voir le produit préféré des dégustateurs naïfs présents lors de l'épreuve.

Ce test consistait à choisir entre 03 produits codés ainsi : 271, 489, 567 ; selon la référence du dégustateur.

D'après les résultats obtenus, une grande partie des dégustateurs (27 personnes) a choisi le kéfir du lait fermenté pendant 24H, une autre partie (10 personnes) a choisi le lait caillé traditionnel et une minorité (03 personnes) a choisi le kéfir fermenté pendant 48H (Figure 15).

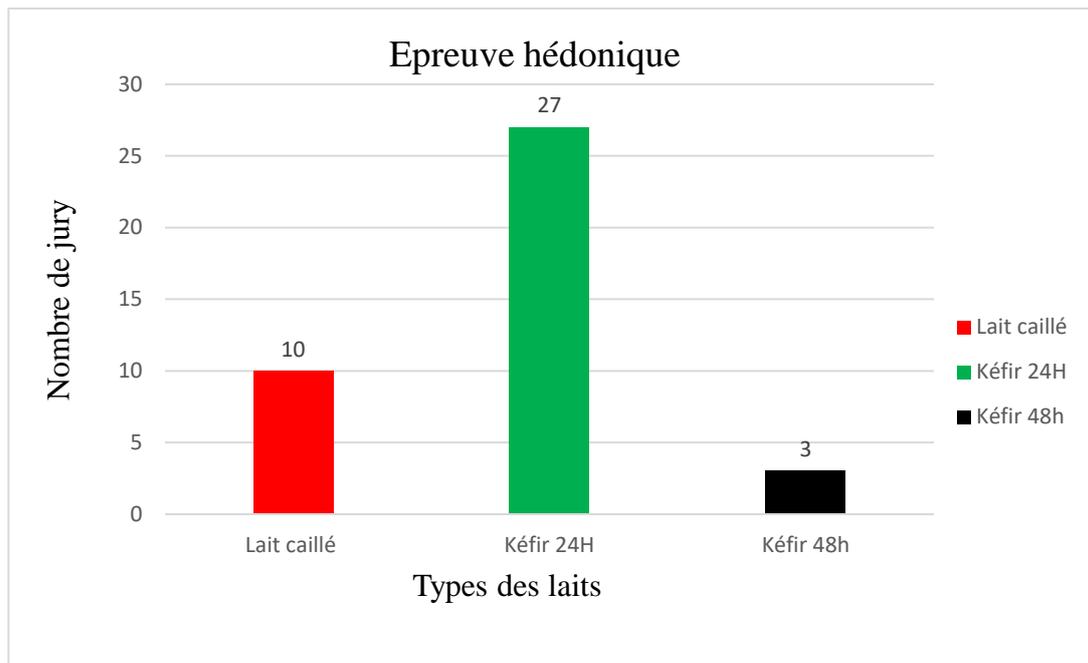


Figure 15 : Résultats de l'épreuve hédonique

Parmi les critères du choix du kéfir ayant subi une fermentation de 24h par les dégustateurs, citons :

- Une odeur agréable et douce ;
- Un goût aimable à la bouche ;
- Une acidité plausible ;
- Une consistance satisfaisante.

Par contre, le kéfir du lait de 48H n'a pas été assez choisi pour les raisons suivantes :

- Une odeur peu agréable ;
- Un goût piquant ;
- Une acidité très forte ;
- Une consistance compacte et homogène.

La non appréciation du kéfir de 48H par le jury de dégustation est dû à l'acidité excessive causé par l'accumulation des acides organiques, tels que : les acides lactiques produits par les bactéries lactiques et la quantité des grains utilisée.

3.2 L'épreuve discriminative

Cette épreuve repose sur 03 échantillons codés en anonyme comme suit :

→ Pour l'épreuve du lait fermenté pendant 24H :

❖ 165 : lait caillé, 235 : lait caillé, 498 : kéfir

→ Pour l'épreuve du lait fermenté pendant 48H :

❖ 165 : lait caillé, 235 : kéfir, 498 : lait caillé.

Pour le kéfir de 24H, 19 jurys ont eu la bonne réponse, 04 jurys ont apporté des réponses fausses et 02 jurys ont répondu au hasard (**Figure 16**).

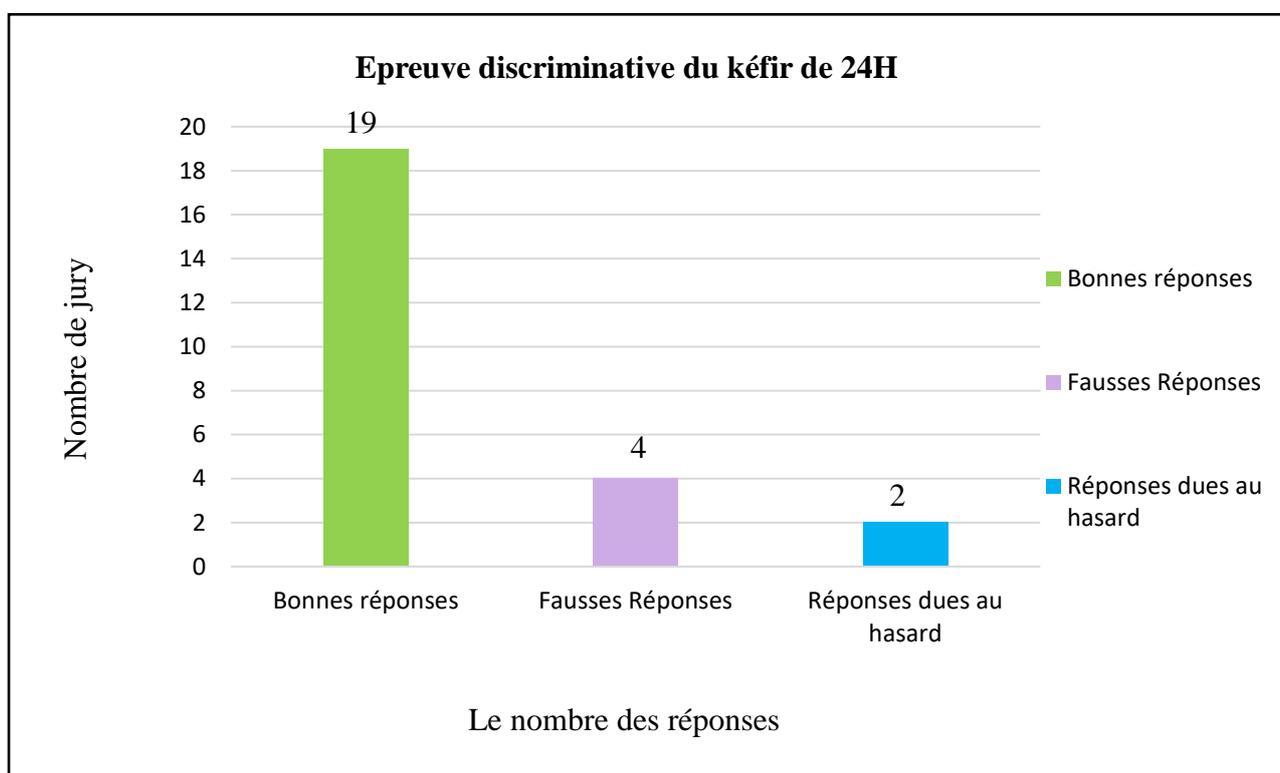


Figure 16 : Résultats de l'épreuve discriminative du kéfir de 24H

Tandis que, 23 personnes ont eu la bonne réponse lors de l'épreuve du kéfir de 48H et le reste des dégustateurs ont apportés des fausses réponses (**Figure 17**).

Les dégustateurs qui ont apportés des bonnes réponses dues au hasard ne seront pas inclus lors de l'épreuve descriptive. Seuls les sujets qui sont aptes à distinguer et décrire le produit à tester qui seront capable de passer l'épreuve descriptive.

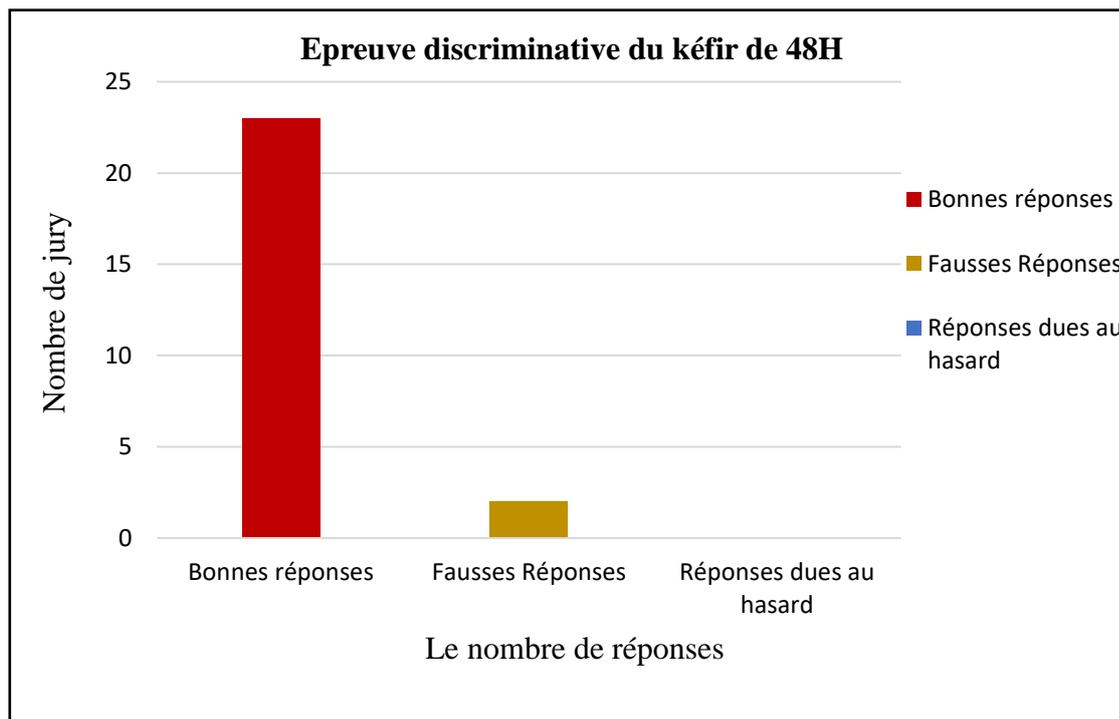


Figure 17 : Résultats de l'épreuve discriminative du kéfir de 48H

Selon la table binomiale d'ISO 4120-2021 (Figure 18), pour que la réponse soit significative en ayant 25 jurys, il faut entre 11 et 17 personnes aient la même réponse afin de rejeter l'hypothèse h_0 qui dit que tous les échantillons sont identiques.

Selon nos résultats, pour les deux épreuves les réponses sont significatives, donc, on rejette l'hypothèse h_0 et on accepte l'hypothèse h_1 qui dit que les échantillons sont différents ce qui nous permettra de faire l'épreuve descriptive.

						36	15	17	18	20	22
16	8	9	9	11	12	42	18	19	20	22	25
17	8	9	10	11	13	48	20	21	22	25	27
18	9	10	10	12	13	54	22	23	25	27	30
19	9	10	11	12	14	60	24	26	27	30	33
20	9	10	11	13	14	66	26	28	29	32	35
21	10	11	12	13	15	72	28	30	32	34	38
22	10	11	12	14	15	78	30	32	34	37	40
23	11	12	12	14	16	84	33	35	36	39	43
24	11	12	13	15	16	90	35	37	38	42	45
25	11	12	13	15	17	96	37	39	41	44	48
26	12	13	14	15	17	102	39	41	43	46	50

Figure 18 : Une partie de la table binomiale d'ISO 4120-2021

3.3 L'épreuve descriptive

Ce test reposait à noter sur une échelle graduée de 1 à 9 avec des attributs représentant l'échantillon trouvé comme différent lors de l'épreuve discriminative.

Une grande partie des dégustateurs ont interprété l'analyse descriptive du kéfir fermenté pendant 24H comme présenté dans (Annexe 7).

En calculant la moyenne des attributs, un spider graph est réalisé (Figure 19) afin de déterminer le niveau d'appréciation du kéfir de 24H.

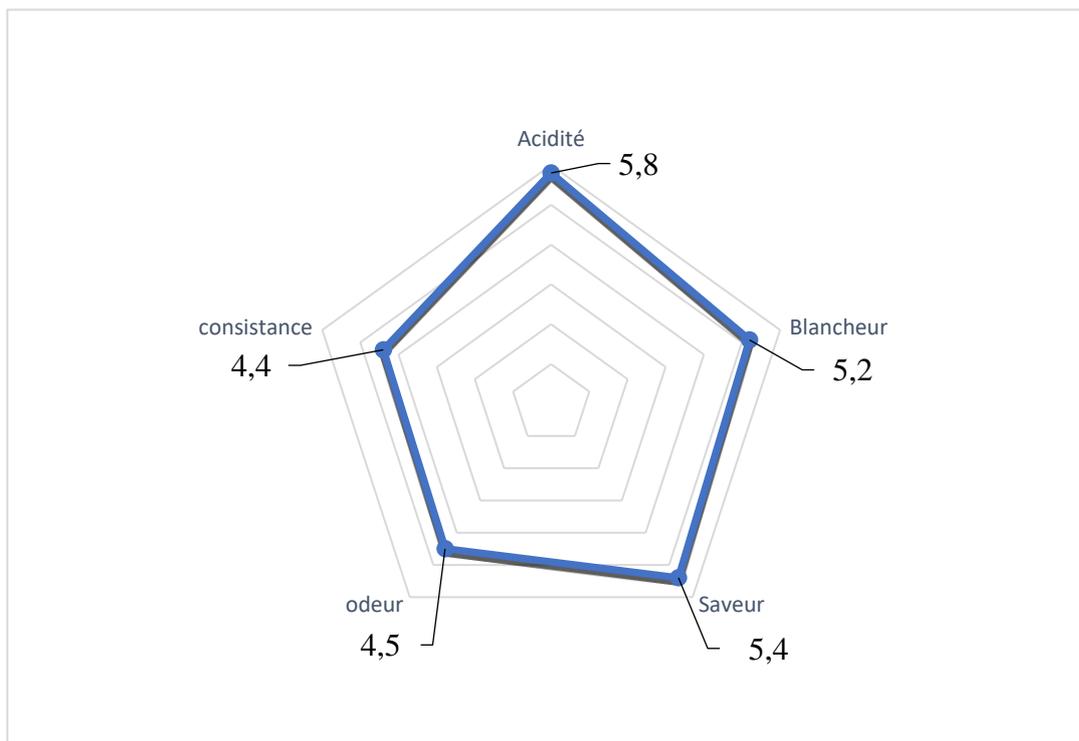


Figure 19 : Spider graph de l'épreuve descriptive du kéfir de 24H

A partir de la (Figure 19), nous constatons que la notation des dégustateurs est adaptée aux raisons données par eux lors de l'épreuve discriminative. Effectivement, ils ont attribué une note de (5,8/9) pour l'acidité, (5,4/9) pour un goût aimable, (4,5/9) pour une odeur agréable et douce, (4,4/9) pour la consistance et une moyenne de (5,2/9) pour la blancheur.

Par rapport à la fiche de réponse réalisée pour le kéfir de 48H (**Annexe 8**), des moyennes ont été effectuées pour établir un spider graph (**Figure 20**) pour déterminer le degré d'appréciation de ce produit

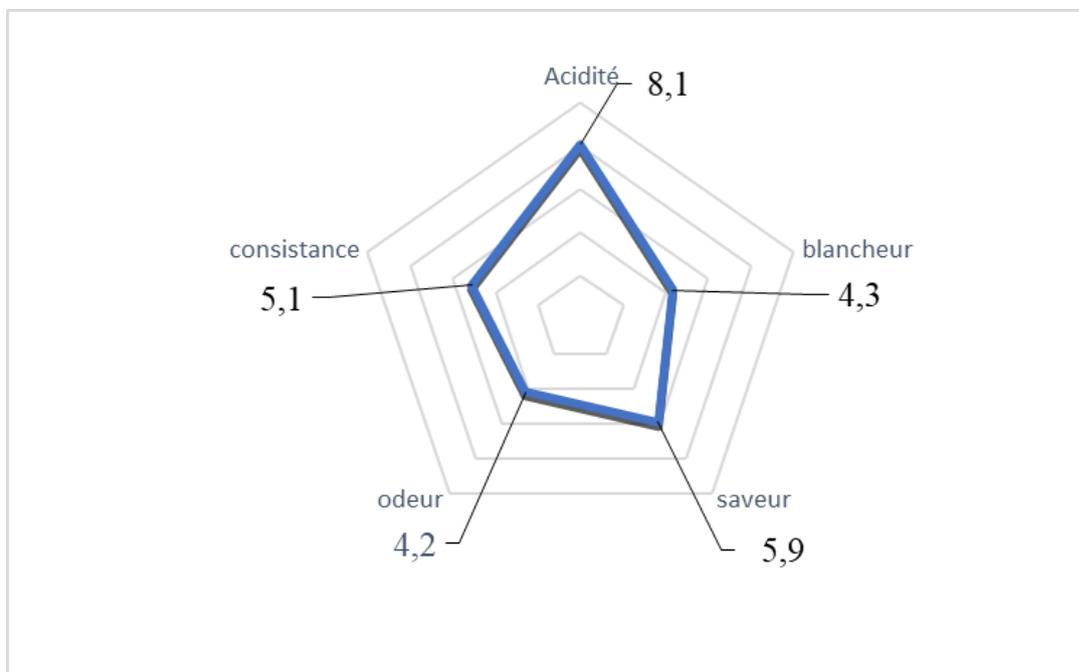


Figure 20 : Spider graph de l'épreuve descriptive du kéfir de 48H

Selon (**Figure 20**), les moyennes sont plus élevées que les moyennes du kéfir de 24H, spécifiquement l'acidité avec une valeur de (8,1/9), le goût avec une note de (5,9/9) et une consistance avec une moyenne de (5,1 /9). Contrairement à la valeur de la blancheur et l'odeur qui sont un peu faible par rapport à celle du kéfir de 24H, avec des moyennes de (4,3/9) et (4,2/9) respectivement.

En superposant les spider graph des deux épreuves (**Figure 21**), on peut distinguer le degré d'appréciation des deux kéfirs. D'après ces données, on constate que le kéfir de 24H est plus apprécié que celui de 48H notamment par rapport à l'acidité et la saveur, le kéfir fermenté pendant 24H est moins acide et plus savoureux contrairement au kéfir fermenté pendant 48H qui est plus acide et moins savoureux selon les résultats. Toutefois, il y'a des personnes qui apprécient l'acidité et la saveur du kéfir de 48H.

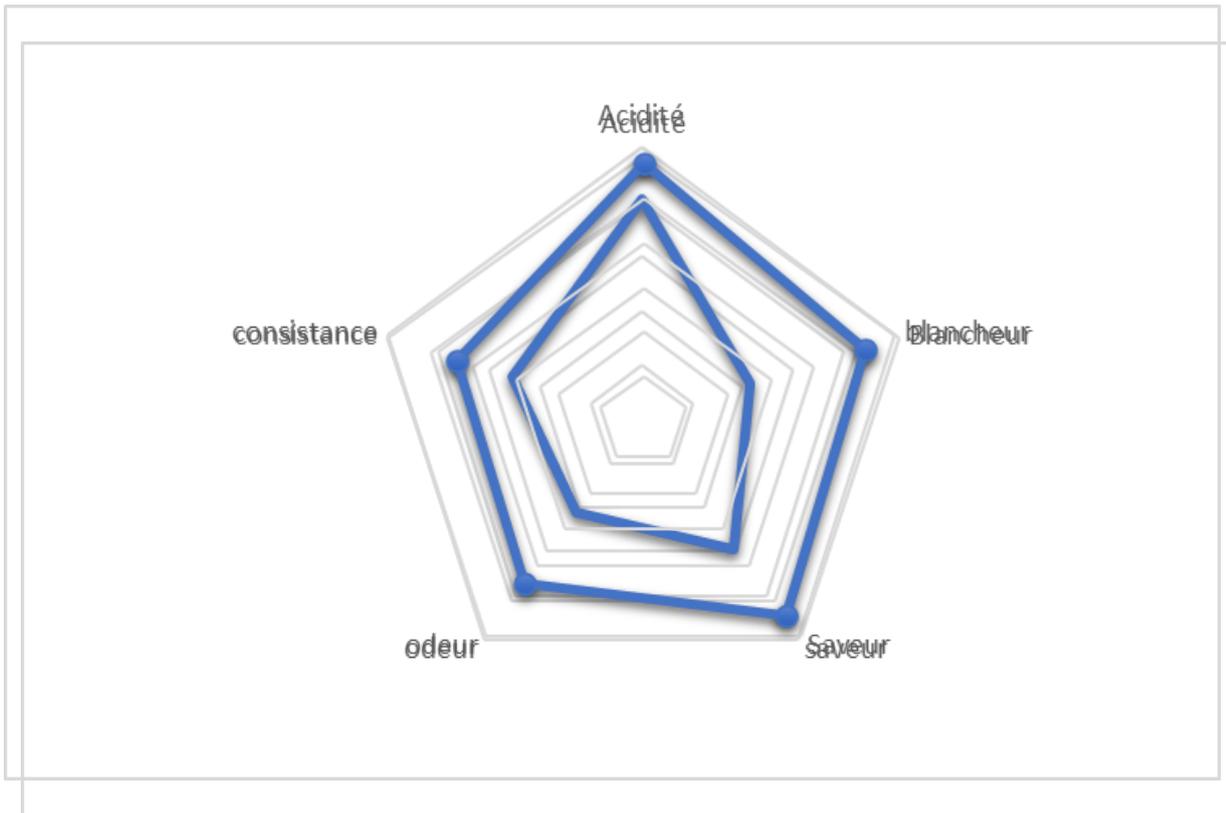
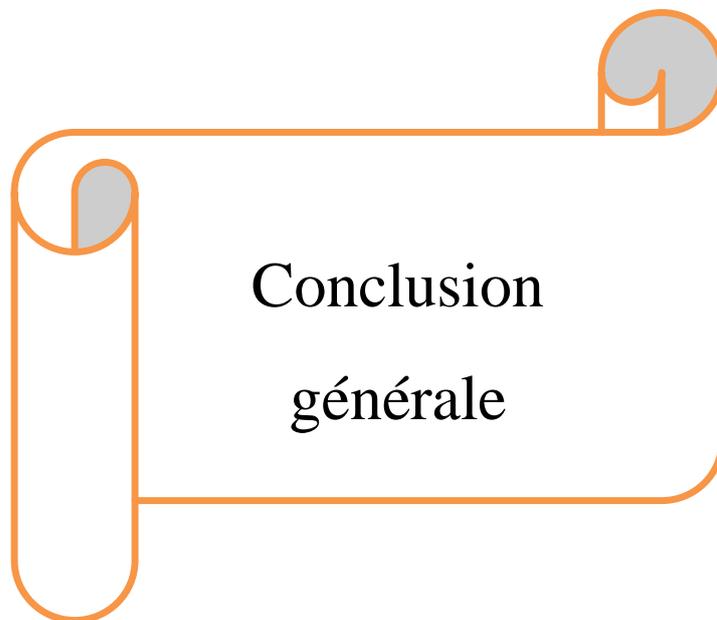


Figure 21 : Spider graph superposé



Conclusion
générale

Le lait est un aliment dont l'importance nutritionnelle n'est plus à démentir. En effet, il constitue le premier apport protéique de l'être humain et le premier aliment naturel presque complet. Il renferme les nutriments de base nécessaire au bon développement de l'organisme humain.

La production de laits fermentés (Kéfir de lait) représente une technologie complexe, qui fait intervenir différents paramètres citons des facteurs biologiques, associés à la mise en œuvre d'une matière première d'origine vivante : le lait, et à sa transformation par des microorganismes, les bactéries lactiques. Cette complexité permet des combinaisons très diverses, ce qui aboutit à l'élaboration de produits très variés. Les contraintes de la qualité, à la fois physico-chimiques, hygiénique, organoleptique et nutritionnelles, doivent, en outre, impérativement être prises en compte.

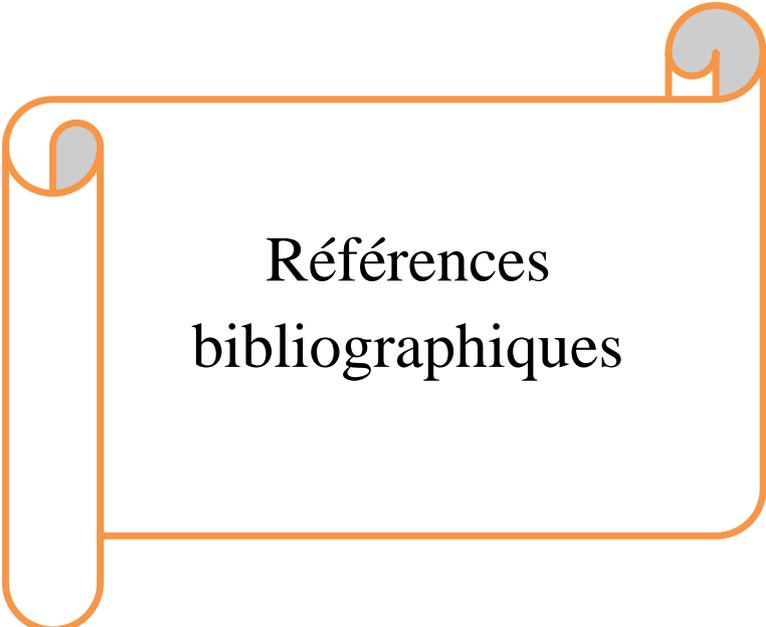
Dans ce travail, nous nous sommes intéressées à l'évaluation de la qualité physico-chimique et organoleptique du kéfir de lait en suivant deux temps d'incubation (24H et 48H). Les tests physico-chimiques ont montré une baisse de pH pour le kéfir de 24H, qui a continué de diminuer pour le kéfir de 48H avec 4.34 et 4.1 respectivement. Une augmentation d'acidité est enregistrée pour les deux produits avec 79,47°D pour le kéfir de 24H et 88,29°D pour le kéfir de 48H. Pour les résultats des analyses biochimiques, le taux protéique du lait fermenté pendant 24H a diminué par rapport au taux protéique du lait utilisé comme matière première, cette diminution a continué pour le kéfir de 48H avec 28,75g/l et 18,16g/l respectivement. Du même pour la teneur en matière sèche qui a diminué au fil du temps de fermentation.

N'empêche que ces résultats sont conformes aux normes préconisées par la FAO et à celles rapportées par le journal officiel de la république algérienne et le codex alimentaire.

En effet, les résultats des analyses physicochimiques et biochimiques du kéfir ont montré que la qualité de ce dernier dépend de la durée de fermentation, l'origine, le type de lait utilisé, les grains de kéfir et les conditions de fermentation (durée et température). Ces paramètres doivent être surveillés pendant la production, car leur modification peut affecter la composition chimique et microbiologique du kéfir.

Les résultats de l'évaluation de l'analyse sensorielle avaient montré que le kéfir de lait obtenu après un temps d'incubation de 24H, est le produit le plus apprécié par les dégustateurs pour ses caractéristiques convenables et satisfaisante

De l'ensemble des résultats, nous pouvons confirmer que le lait fermenté « Kéfir », garde sa qualité physico-chimique, si les conditions de stockage sont bien respectées.



Références
bibliographiques

A

Abraham AG. et De Antoni GL. (1999). Characterization of kefir grains grown in cows' milk and in soya milk. *Journal of Dairy Research*, **66**(2), 327-333.

Abu-Tarboush HM. (1996). Comparaison de la croissance associative et de l'activité protéolytique de yaourts dans du lait entier de chamelle et de vache. *Journal of Dairy Science*, **79** (3), 366-371.

AFNOR, (1980). Lait produit laitiers : méthodes d'analyse. Paris. 33-34p. une fausse référence par rapport à l'auteur

AFNOR, (1985). Quality control of dairy products - physical and chemical analyses, Ed AFNOR. Paris. 321p.

Ahmed Z., Wang Y., Ahmad A., Khan ST., Nisa M., Ahmad H. et Afreen A. (2013). Kefir and health : a contemporary perspective. *Critical reviews in food science and nutrition*, **53**(5), 422-434.

Akli B. (2011). Analyse physico chimique et microbiologique de lait UHT demi-écrémé, centre de formation professionnelle EL Hidhab Sétif Algérie. *BTS en contrôle de qualité dans les industries agros-alimentaires*.

Amiot J., Fournier S., Lebeuf Y., Paquin P., Simpson R et Turgeon H. (2002). Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait. *Science et technologie du lait – Transformation du lait*, École polytechnique de Montréal, ISBN P : 1-69 (600 pages).

Angulo L., Lopez E., et Lema C. (1993). Microflora present in kefir grains of the Galician region (North-West of Spain). *Journal of Dairy Research*, **60**(2), 263-267.

Arroum S., Sboui A., Fguiri I., Ayeb N., Hammadi M., Khorchani T. (2022). Kéfir Du Lait : Fabrication, Composition Et Vertus Thérapeutiques. *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology*, **86**(6),5002-5013.

B

Bakircioglu D., Topraksever N., Yurtsever S., Kizildere M. et Kurtulus YB. (2018). Enquête sur les concentrations d'éléments macro, micro et toxiques dans le lait et les produits laitiers fermentés à l'aide d'un spectromètre d'émission optique à plasma à couplage inductif, pour améliorer la sécurité alimentaire en Turquie. *Journal microchimique*, **136**, 133-138.

Barascu E. (2005). Influence de la matière sèche dans le lait sur la croissance et l'activité fermentative des bifidobactéries. *SCIENTIFIC STUDY & RESEARCH* Vol. VI (1) ISSN 1582-540X.

Béal C., et Helinck S. (2019). Fabrication des yaourts et des laits fermentés.

BENGOUMI M., FAYE B., TRESSOL J., (1994). Composition minérale du lait de chamelle du sud marocain. Actes du colloque : "dromadaires et chameaux animaux laitiers". Mauritanie.

Bensmira M., Nsabimana C., & Jiang B. (2010). Effects of fermentation conditions and homogenization pressure on the rheological properties of Kefir. *LWT-Food Science and Technology*, **43**(8), 1180-1184.

Berzhinskas G., Urbenes., Puidokasl, (1978). Influence of multiple-stage pasteurization of Milk on the consistency of kefir. *International Dairy Congr. Brief Comm* 840-841.

Bourrie, Colombie-Britannique, Cotter, PD et Willing BP (2018). Le kéfir traditionnel réduit la prise de poids et améliore les profils lipidiques plasmatiques et hépatiques avec plus de succès qu'un équivalent commercial dans un modèle murin d'obésité. *Journal des aliments fonctionnels*, **46**, 29-37.

Brihmette R. et Chaoua S. (2017). Kéfir : Production des grains et mise en évidence de l'activité antimicrobienne. Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master. Université des frères Mentouri Constantine Faculté des Sciences de la Nature et de Vie. 81p.

C

Çirpıcı BB et Çetin B. (2023). Détermination de la sécurité des grains de kéfir pour la santé publique. *Biosciences alimentaires*, **53**, 102648.

Chaitow L. et Trenev N. (2002). Probiotics. Natasha TrenevWebsite. Available

Chen HC., Wang SY. Et Chen MJ. (2008). Microbiological study of lactic acid bacteria in kefir grains by culture-dependent and culture-independent methods. *Food microbiology*, **25**(3), 492-501.

Chen Z., Shi J., Yang X., Nan B., Liu Y. et Wang Z. (2015). Caractéristiques chimiques et physiques et activités antioxydantes de l'exopolysaccharide produit par les grains de kéfir tibétain lors de la fermentation du lait. *Revue laitière internationale*, **43**, 15-21.

Chen Z., Shi J., Yang X., Nan B., Liu Y. et Wang Z. (2015). Caractéristiques chimiques et physiques et activités antioxydantes de l'exopolysaccharide produit par les grains de kéfir tibétain lors de la fermentation du lait. *Revue laitière internationale*, **43**, 15-21.

Choi JW., Kang HW., Lim, WC., Kim MK., Lee IY., et Cho HY. (2017). Kefir prevented excess fat accumulation in diet-induced obese mice. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, **81**(5), 958-965.

Codex Alimentarius (2003). NORME POUR LES LAITS FERMENTÉS CXS 243-2003 Adoptée en 2003. Révisée en 2008, 2010, 2018.

D

Deglaire Amélie (2022). Evaluation sensorielle des aliments. Maitre de conférences Institut Agro Rennes-Angers, France.

De LeBlanc, ADM, Matar C., Farnworth E. et Perdigon G. (2007). Etude des cellules immunitaires impliquées dans l'effet antitumoral du kéfir dans un modèle murin de cancer du sein. *Journal des sciences laitières*, **90** (4), 1920-1928.

De Vrese M., Keller B., et Barth CA. (1992). Enhancement of intestinal hydrolysis of lactose by microbial β -galactosidase (EC 3.2. 1.23) of kefir. *British Journal of Nutrition*, **67**(1), 67-75.

Destro, TM, Prates, DDF, Watanabe LS, Garcia S., Biz G. et Spinosa WA (2019). La cassonade biologique et la pulpe de jacobacaba influencent la fermentation du kéfir d'eau. *Ciência e Agrotecnologia*, **43**.

Duran, FE, Özdemir N., Güneşer O. et Kök-Taş T. (2022). Souches importantes de grains de kéfir dans la formation du profil de composés volatils dans le milieu laitier ; le rôle de *Lactobacillus kefirianofaciens* subsp. *Kefiranofaciens*, *Lentilactobacillus kefir* et *Lentilactobacillus parakefir*. *Recherche et technologie alimentaires européennes*, **248** (4), 975-989.

E

Elaachi M., et Kelouche H. (2018). Etude comparative des caractéristiques physicochimiques et microbiologiques des différents laits (chamelle, chèvre, brebis, vache), Mémoire de master, Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, 48p.

F

FAO/OMS. (2000). Codex Alimentarius : Lait et produit laitiers, 2e édition-Rome : FAO ; OMS- 136p.

Farag, MA, Jomaa, SA, Abd El-Wahed A. et El-Seedi RH. (2020). Les nombreux visages des produits laitiers fermentés au kéfir : caractéristiques de qualité, chimie des arômes, valeur nutritionnelle, bienfaits pour la santé et sécurité. *Nutriments*, **12** (2), 346.

Farnworth ER. (2005). Kefir-A Complex Probiotic Food Research and Development Centre.

Fathi Y., Faghih S., Zibaenezhad MJ et Tabatabaei SHR (2016). La boisson au kéfir entraîne une perte de poids similaire à celle du lait, dans un régime riche en produits laitiers et sans restriction énergétique chez les femmes préménopauses en surpoids ou obèses : un essai contrôlé randomisé. *Revue européenne de nutrition*, **55**, 295-304.

Fitzgerald RJ., et Murray BA. (2006). Bioactive peptides and lactic fermentations. *International Journal of Dairy Technology*, **59**(2), 118-125.

G

Galli A0, Fiori E., Franzetti L., Pagani M. et Ottogalli G. (1995). Composizione microbiologica e chimica dei granuli di Kefir « di frutta ». *Ann. Microbiol. Enzimol.* **45**, 85–95.

Garbers, IM, Britz TJ et Witthuhn RC (2004). Typification électrophorétique sur gel à gradient dénaturant basée sur la PCR et identification du consortium microbien présent dans les grains de kéfir. *Journal mondial de microbiologie et de biotechnologie*, **20**, 687-693.

Garrote GL., Abraham AG. et De Antoni G L. (2001). Chemical and microbial characterisation of kefir grains. *J. Dairy Res.* **68**, 639-652.

Ghoneum M. et Felo N. (2015). Selective induction of apoptosis in human gastric cancer cells by *Lactobacillus kefir* (PFT), a novel kefir product. *Oncology Reports*, **34**(4), 1659-1666.

Glatz-Hoppe J., Boldt A., Spiekers H., Mohr E. et Losand B. (2020). Relation entre les constituants du lait issus des analyses du lait et les données sur la santé, l'alimentation et le métabolisme des vaches laitières. *Journal des sciences laitières*, **103** (11), 10175-10194.

Grohmann U. et Bronte V. (2010). Control of immune response by amino acid metabolism. *Immunological reviews*, **236**(1), 243-264.

Guey-Horng Wang et Yu-Pei Chen (2022). Characterization of Tibetan kefir grain-fermented milk whey and its suppression of melanin synthesis. *Journal of Bioscience and Bioengineering* VOL. 133 No. 6.

H

Harmayani E. (2015). Potentiel antidiabétique de la combinaison de kéfir de lait de chèvre et de lait de soja chez le rat induit par la streptozotocine-nicotinamide. *Revue coréenne pour la science alimentaire des ressources animales*, **35** (6), 847.

Horvath GY. (1968). The kefir and its production. *Tejipar*, 17,84-88.

Huseini FH., Golnar R., Mohammad RF., Mitra M., Mitra S. (2012). Evaluation of wound healing activities of kefir products. *Burns* **38** : 719-723.

I

Ibrahim, AAEM (2017). LE MÉCANISME DE LUTTE DU KÉFIR CONTRE DIFFÉRENTS TYPES DE CANCER. *Journal du Nord pour les sciences fondamentales et appliquées Volume, 2* (2).

Irigoyen A., Arana I., Castiella M., Torre. P, Ibanez FC. (2004). Microbiological, Physicochemical, and Sensory Characteristics of Kefir During Storage. *Food Chemistry* (**90**) 613–620.

Ismail AA., Ghaly MF., El-Naggar AK. (2011). Some Physicochemical Analyses of Kefir Produced Under Different Fermentation Conditions. *NISCAIR-CSIR, India* (**70**) 05 t : 365-372.

ISO NF EN 13299 (2010). Analyse sensorielle - Méthodologie - Directives générales pour l'établissement d'un profil sensoriel. Normes nationales et documents normatifs nationaux 32 p.

ISO 4120 (2021). Analyse sensorielle — Méthodologie — Essai triangulaire. Edition (3) 17 p.

J

Jacquet J. et Thevenot R., (1961). Le lait et le froid, J.B. Baillière, Paris, 216-218.

Jambhulkar AB. et Ashfaq KM. (2021). Functional Properties of Probiotic Kefir : A Review. *International Journal of Advances in Engineering and Management*, **3**(5), 997-1006.

Jamotte P. (1974). Note technique sur le kéfir. Station laitière de l'Etat. Belgique.

Jeantet R., Croguennec T., Mahaut M., Schuck P., et Brulé G. (2007). *Les produits laitiers* (pp. 184-p). Editions Tec & Doc Lavoisier.

K

Kavas G. (2015). Kefir's Manufactured from Camel (*Camelus Dromedarius*) Milk and Cow Milk : Comparison of Some Chemical and Microbial Properties. *Ital. J. Food Sci.* **27** :357-366.

Kim DH., Jeong D., Kim H., et Seo KH. (2019). Modern perspectives on the health benefits of kefir in next generation sequencing era: Improvement of the host gut microbiota. *Critical reviews in food science and nutrition*, **59**(11), 1782-1793.

Koroleva NS. et Bavina NA. (1970). Effects of conditions of kefir fungus cultivation on the microflora and biochemical characteristics of kefir starters. XVIII Int.Dairy Congr., Vol. 1E, 413.

- Koroleva NS., Bavina NA. et Rozhkova IV. (1978b).** Changes of microflora of kefir during storage. XXInt, Dairy Congr., Brief Comm., Vol. E, 844.
- Koroleva NS. (1982).** Special products (kefir, koumys, etc.). *Proceedings XXI International Dairy Congress, Moscow 2* : 146-151.
- Koroleva NS. (1991).** Products prepared with lactic acid bacteria and yeasts. In : Robinson, R.K., editor. Therapeutic properties of fermented milks : 159-179. Elsevier Applied Sciences Publishers, London, UK.
- Kosikowski FV. (1982).** Cheese and Fermented Milk Foods. 2ndEd. F. V. Kosikowski and Associates, Brooktonale, New York.
- Kuo CY. et Lin CW. (1999).** Taiwanese kefir grains : their growth, microbial and chemical composition of fermented milk. *Aust. J. Dairy Technol.* **54**, 19-23.

L

- Lasa Uzcudun Í. (2006).** Vers l'identification des caractéristiques communes du développement du biofilm bactérien. *Microbiologie internationale*, 2006, **9** (1). Pages. 21-28 .
- Lee MY., Ahn KS., Kwon OK., Kim MJ., Kim MK., Lee IY. et Lee HK. (2007).** Effets anti-inflammatoires et anti-allergiques du kéfir dans un modèle d'asthme chez la souris. *Immunobiologie* , **212** (8), 647-654.
- Lefebvre A. et Bassereau JF. (2003).** L'analyse sensorielle, une méthode de mesure au service des acteurs de la conception: ses avantages, ses limites, ses voies d'amélioration. *Application aux emballages*, **10**, 3-11.
- Leite AMDO., Miguel MAL., Peixoto RS., Rosado AS., Silva JT. et Paschoalin VMF. (2013).** Microbiological, technological and therapeutic properties of kefir: a natural probiotic beverage. *Brazilian journal of microbiology*, **44**, 341-349.
- Leksir Mansour Ch. (2020).** Cours : Analyse sensorielle. Master 2 Biochimie de la Nutrition Université de Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou.
- Liu JR, Wang SY, Chen MJ, Chen H., Yueh PY, Lin CW (2006a).** Hypocholesterolaemic effects of milk-kefir and soya milk-kefir in cholesterol-fed hamsters. *British J Nutr* **95** : 939-946.
- Libudzisz Z. et Piatkiewicz A. (1990).** Kefir production in Poland. *Dairy Ind. Int.* **55**, 31-3.
- Lipatov NN. (1978).** Fermented milks other than yoghurt. A lecture. XX Int. Dairy Congr., Sessions Scientifiques et Techniques, ST 43, 15 pp.
- Lubin D. (1998).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO 1998: alimentation et Nutrition n 28, Rome, Italie.

Lynch, KM, Wilkinson S., Daenen L. et Arendt EK. (2021). Le point sur le kéfir d'eau: microbiologie, composition et production. *Journal international de microbiologie alimentaire*, **345**, 109128.

M

Maalouf K., Baydoun E. et Rizk S. (2011). Kefir induces cell-cycle arrest and apoptosis in HTLV-1-negative malignant T-lymphocytes, *Cancer Management and Research*, **3** : 39-47

Mansour LM. (2015). Etude de l'influence des pratiques d'élevage sur la qualité du lait : effet de l'alimentation. Thèse doctorat en Sciences, Université Ferhat Abbas Sétif 1.

Mariana Buranelo Egea, Daiane Costa dos Santos, Jordana Ferreira Neves et al., (2023). Physicochemical Characteristics and Rheological Properties of Soy milk Fermented with Kefir Volume 13, Issue 2.

Mathieu J. (1998). Initiation à la physicochimie du lait. Tec & Doc- Lavoisier, Paris.

Maxence B. (2022). Mémoire de deuxième année : Consommation de kéfir de fruit : un alicament domestique et marchand, L'ISTHIA de l'Université de Toulouse - Jean Jaurès, p18.

Melo A. et Silva M.A. (2014, October). Development of fermented and flavoured kefir milk. In *BMC Proceedings* (Vol. 8, No. 4, pp. 1-1). BioMed Central.

Meng-Yun Chen, Hong-Tan Wu, Fang-Fang Chen, Yan-Ting Wang, Ding-Li Chou,

Misbah Asmae (2014). Production du kéfir au sein de la Cooperative Laitière du Maroc Oriental. Rapport de stage du projet de fin d'études pour obtenir le diplôme d'ingénieur d'Etat. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah Faculté des Sciences et Techniques. 60 pp.

N

Nezha Sekkal-Taleb. (2016). Chemical and microbiological composition of Kefir and its natural benefits. *Mediterranean Journal of Biosciences*, **1(4)**, 174-183.

Ninane V. (2007). Caractérisation du consortium microbien d'un grain de kéfir. Thèse de doctorat. Faculté des sciences agronomiques. Universitaire de Gembloux.

Nuril Hafidzoh Yusriyah (2014). THE EFFECT OF FERMENTATION AND CONCENTRATION OF KEFIR GRAINS OF QUALITY OF COW'S MILK KEFIR. *UNESA Journal of Chemistry* Vol.3, No.2, 53-56.

Nurliyani, Sadewa AH. et Sunarti (2015). Kefir properties prepared with goat milk and black rice (*Oryza sativa* L.) extract and its influence on the improvement of pancreatic β -cells in diabetic rats. *Emirates Journal Food Agriculture.*, **27**, 727-735.

O

Oliveira RMSE, Silva FG, Santos DC, Feitosa MF, Cardoso SS. et Egea MB. (2019). A maior produção de _alcool utilizando biomassa de kefir acontece em condições de

anaerobiose [The largest alcohol production using kefir biomass occurs under anaerobic conditions]. Proceedings of the 8_ Congresso de Pesquisa e P_os-Graduação do Campus Rio Verde, 9_ Semin_ario de Avaliação dos Programas de P_os-Graduação do IF Goiano, Rio Verde, Brazil.

Otles S. et Cagindi O. (2003). Kefir : A probiotic dairy-composition, nutritional and therapeutic aspects. *Pakistan Journal of Nutrition* 2 :54–9.

Ottogalli G., Galli A., Resmini P. et Volonterio G. (1973) Composizione microbiologica, chimica ed ultrastruttura dei granuli di kefir. *Ann. Microbiol.* **23**, 109-121.

P

Pablo Rimada, Analía Abraham (2003). Comparative study of different methodologies to determine the exopolysaccharide produced by kefir grains in milk and whey. *Le Lait*, **83** (1)

Petricic A., Gruner M. et Jacopovic L., (1977). Effect of processing conditions on ethanol content and acidity of kefir. *Mljekarstvo*, 27, 181-185 (OSA 1978, n° 2878).

Pintado ME., Da Sylva LJA., Fernandes PB., Malcata X. et Hogg JA. (1996). Microbiological and rheological studies on Portuguese kefir grains. *Int. J. Food Sci. Technol.* **31**, 15-26.

Pogačić T., Šinko S., Zamberlin Š., Samaržija D. (2013). Microbiota of kefir grains. *Mljekarstvo*, **63**(1), 3-14.

Prado MR., Blandón LM., Vandenberghe LP., Rodrigues C., Castro GR., Thomaz-Soccol V., et Soccol CR. (2015). Milk kefir: composition, microbial cultures, biological activities, and related products. *Frontiers in microbiology*, **6**, 1177.

R

Randazzo W., Corona O., Guarcello R., Francesca N., Germana MA., Erten H., Moschetti G. et Settanni L. (2016). Development of new non-dairy beverages from Mediterranean fruit juices fermented with water kefir microorganisms. *Food Microbiol.* **54**, 40– 51.

Ratray FP, O’Connell MJ. (2011). Fermented milk – kefir. In : *Encyclopedia of Dairy Science. Elsevier Ltd.*, pp. 518–524.

Rea MC., Lennartsson T., Dillon P., Drinan FD., Reville WJ., Heapes M. et Cogan TM. (1996). Irish kefir-like grains : their structure, microbial composition and fermentation kinetics. *J. Appl. Bact.* **81**, 83-94.

Rodrigues KL., Caputo LR., Carvalho JC., Evangelista J., Schneedorf JM. (2005). Antimicrobial and healing activity of kefir and kefir extract. *International Journal of Antimicrobial Agents*, **25**(5), 404-408.

Rollan S. (1988). Les boissons de lait fermenté : rôles des bactéries et des levures – diététique et thérapeutique. Thèse docteur en sciences pharmaceutiques. Toulouse, 250 p.

Rosa DD., Dias MMS., Grzeskowiak LM., Reis SA., Conceição LL., Carmo G. et Peluzio M. (2017). Milk Kefir : nutritional, microbiological and health benefits. *Nutrition Research Reviews*, **30**, 82–96.

S

Satir G. et Guzel-Seydim ZB. (2023). The effect of kefir fermentation on the protein profile and the monoterpenic bioactive compounds in goat milk. *International Dairy Journal*, **137**, 105532.

Schroevens A. et Britz T. (2003). Influence of different culturing conditions on kefir grain increase. *Int. J. Dairy Technol.* **56**, 183-187.

Seher Arslan (2015). A review : chemical, microbiological and nutritional characteristics of kefir, *CyTA - Journal of Food*, **13** : **3**, 340-345.

Semmame O. (2020). La spectrophotométrie. L3 génétique moléculaire Techniques d'analyse de laboratoire Université des Frères Mentouri Constantine 1 p 1-6.

Seo MK., Park EJ., Ko SY. Choi EW et Kim S. (2018) Therapeutic effects of kefir grain *Lactobacillus* derived extracellular vesicles in mice with 2, 4, 6trinitrobenzene sulfonic acid-induced inflammatory bowel disease. *J. Dairy Sci.* **101**, 8662–8671.

Seo MK., Park EJ., Ko SY., Choi EW. et Kim S. (2018). Therapeutic effects of kefir grain *Lactobacillus* derived extracellular vesicles in mice with 2, 4, 6trinitrobenzene sulfonic acid-induced inflammatory bowel disease. *J. Dairy Sci.* **101**, 8662–8671.

Sharifi M., Moridnia A., Mortazavi D., Salehi M., Bagheri M. et Sheikhi A. (2017). Kefir: a powerful probiotics with anticancer properties. *Medical Oncology*, **34**, 1-7.

Simova E., Beshkova D., Angelov A., Hristozova TS, Frengova G. et Spasov Z. (2002) Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **28**, 1-6.

Slattery C., Cotter PD et O'Toole PW. (2019). Analyse des bienfaits pour la santé conférés par les espèces de *Lactobacillus* du kéfir. *Nutriments* , **11** (6), 1252.

Sonanki Mitra et Bikash C Ghosh (2021). Kefir – a fermented milk product beneficial for gastrointestinal health *Indian J Dairy Sci* **74**(6) : 469-478.

Stephen Moses John et Sirirat Deeseenthum (2015). Properties and benefits of kefir -A review. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* **37** (3), 275-282.

Sunarti S., Nurliyani N., Tyas ASA., Kristian SD. Et Prasetyastuti P. (2015). The influence of goat milk and soybean milk kefir on IL-6 and crp levels in diabetic rats. *Romanian Journal of Diabetes Nutrition and Metabolic Diseases*, **22**(3), 261-267.

Szakaly S., Obert G., AL-Khafajik M. (1982). Effect of homogenization on the keeping quality of Sour milk products, XXI Int, Dairy Congr., Vol. 1, Book 1,291.

T

Thomas A. (2016). *Analyse sensorielle temporelle descriptive et hédonique* (Doctoral dissertation, Université de Bourgogne).

Thompson JK., Johnston DE., Murphy R J., et Collins MA. (1990). Characteristics of a Milk Fermentation from Rural Northern Ireland Which Resembles Kefir. *Irish Journal of Food Science and Technology*, **14**(1), 35–49.

Ton AMM., Campagnaro BP, Alves GA, Aires R., Côco LZ., Arpini CM. et Vasquez EC. (2020). Stress oxydatif et démence chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer : effets de la supplémentation symbiotique. *Médecine oxydative et longévité cellulaire*, 2020.

Triana Setyawardani, Juni Sumarmono et Kusuma Widayaka (2020). Physical and Microstructural Characteristics of Kefir Made of Milk and Colostrum *Buletin Peternakan* **44** (1) : 43-49.

Triwibowo B., Wicaksono R., Antika Y., Erm S., Jarmiati, A., Setiadi AA., et Syahriar R. (2020). The effect of kefir grain concentration and fermentation duration on characteristics of cow milk-based kefir. In *Journal of Physics: Conference Series*.

V

Véronique Ninane, Radegonde Mukandayambaje et Gilbert Berben (2009). Probiotiques, aliments fonctionnels et kéfir : le point sur la situation règlementaire en Belgique et sur les avancées scientifiques en matière d'évaluation des effets santé du kéfir *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2009 **13**(3), 459-466.

Veronique L. (2008). Caractérisation du consortium microbien d'un grain de kéfir. Dissertation originale présentée en vue de l'obtention du grade de docteur en sciences agronomiques et ingénierie biologique. Belgique.14-34p.

Vinderola CG., Perdigon G., Duarte J., Farnworth E. et Matar C. (2006). Effects of kefir fractions on innate immunity. *Immunobiology* **211** :149–156.

Vujièiæ IF., Vuliaæ M. et Könyves T. (1992). Assimilation of cholesterol in milk by kefir cultures. *Biotechnol Letters* 14 : 847-850.

W

Wang T., Lu Y., Yan H., Li X., Wang X., Shan Y. et Lü X. (2020). Fermentation optimization and kinetic model for high cell density culture of a probiotic microorganism : *Lactobacillus rhamnosus* LS-8. *Bioprocess and biosystems engineering*, **43**, 515-528.

Wang X., Xiao J., Jia Y., Pan Y. et Wang Y. (2018). *Lactobacillus kefiranofaciens*, the sole dominant and stable bacterial species, exhibits distinct morphotypes upon colonization in Tibetan kefir grains. *Heliyon*, **4**(6).

Wang Y., Xu N., Xi A., Ahme Z., Zhang B., Bai X. (2009). Effects of *Lactobacillus plantarum* MA2 isolated from Tibet kefir on lipid metabolism and intestinal microflora of rats fed on high-cholesterol diet. *Appl Microbiol Biotechnol* **84** : 341-347.

Witthuhn RC., Schoeman T. et Britz T. (2004). Isolation and characterization of the microbial population of different South African kefir grains. *International Journal Dairy of Technology*, **57**, 33-37.

Witthuhn RC, Cilliers A. et Britz TJ. (2005). Evaluation of different preservation techniques on the storage potential of kefir grains. *J Dairy Res* **72**, 125-128.

Z

Zahra Moradia, Nastaran Kalanpourb (2019). Kefiran, a branched polysaccharide : Preparation, properties and applications : A review *Carbohydrate Polymers* 223 (2019) 115100.

Zeynep B. Guzel-Seydim, Çağlar Gökirmaklı, Annel K. Greene (2021). A comparison of milk kefir and water kefir : Physical, chemical, microbiological and functional properties *Trends in Food Science & Technology* **113** 42–53.

Zimmerman B., Niewiesk S. et Lairmore MD. (2010). Mouse Models of Human T Lymphotropic Virus Type-1–Associated Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma. *Sage Journals* Vol (47), Issue (4).

Zolfi M., Khodaiyan,F., Mousavi M. et Hashemi M. (2015). Caractérisation des nouveaux films nanocomposites biodégradables WPI/argile à base d'exopolysaccharide de kéfirane. *Journal des sciences et technologies alimentaires*, **52**, 3485-3493.

Zourari A., et Anifantakis E. M. (1988). Le kéfir. Caractères physico-chimiques, microbiologiques et nutritionnels. Technologie de production. Une revue. *Le Lait*, **68**(4), 373-392.

Références webographiques

Anonyme (2023). Le kéfir est une boisson facile à réaliser à la maison.

<https://www.lavieclaire.com/conseils/les-vertus-du-kefir/>

Anonyme (2023). Le Kéfir De Lait : Avantages, Dangers Et Comment Le Préparer.

<https://www.econo-ecolo.org/pourquoi-comment-boire-kefir-lait/#Comment-consommer-votre-kefir-de-lait>

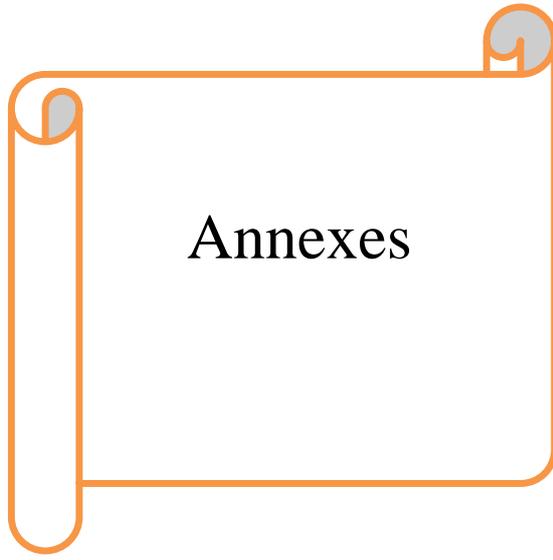
Anonyme (2023). pH-mètre : Principe, Composants et Comment Calibrer.

<https://microbiologie-clinique.com/ph-metre.html>

Claire Deschamps (2022). Comment faire du kéfir maison ? – Recette, astuces et conseils pour réaliser la boisson. <https://designmag.fr/recettes/faire-kefir-maison-recette-497385.html>

Equipe passeport santé (2019). Comment faire et consommer du kéfir.

<https://www.passeportsante.net/fr/Actualites/Dossiers/DossierComplexe.aspx?doc=fabriquer-consommer-kefir>



Annexe 1

Les conditions d'hygiène respectées lors de la traite :

- Assurer la bonne santé de la vache laitière ;
- L'environnement des vaches est bien propre ;
- Désinfection des mains du trayeur avant la traite ;
- Nettoyage des trayons avant et après la traite ;
- Changement des lavettes après chaque traite ;
- Elimination des premiers jets de lait ;
- Utilisation d'un récipient stérilisé ;
- Conservation immédiate du lait après la traite.

Annexe 2

pH-métrie

Mode opératoire

- Après fermentation, verser 10ml de kéfir de lait dans un bécher ;
- Après rinçage et essuyage de l'électrode, le tremper dans le bécher ;
- Lecture du résultat après la stabilisation du pH

Annexe 3

Acidité titrable

Mode opératoire

- Dans 03 béchers de 100ml, verser à l'aide d'une éprouvette 10ml de kéfir et 03 gouttes d'indicateur de couleur phénolphtaléine ;
- Ensuite, remplir une burette de 25ml avec la solution de soude NaOH de 0.1N ;
- Enfin, verser un volume fixe de 5 à 10ml de NaOH jusqu'au virage de la couleur blanche à la couleur rose vif.

Annexe 4

Dosage des protéines

Mode opératoire

Préparation des solutions

- Solution A : Na_2CO_3 anhydre 2 % dans NaOH, 0,1 M ;
- Solution B : 2 ml de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0,5% + 2 ml de tartrate de Na et K, 1 % ;
- Solution C : 50 ml A + 1ml B.

✚ Gamme étalon (solution témoin)

Concentration en BSA ($\mu\text{g} / \text{ml}$)	0	10	25	50	75	100
Solution mère de BSA (μl)	0	100	250	500	750	1000
Eau distillée (μl)	1000	900	750	500	250	0

➤ Réaction et mesure de l'absorption

A 0,5 ml de la solution d'échantillon contenant entre 25 et 100 μg de protéines :

- Ajouter 2,5 ml de la solution C et mélanger ;
- Laisser 5 à 10 min à température ambiante ;
- Ajouter 0,25 ml de réactif de Folin –Ciocalteu ;
- Homogénéiser rapidement et mettre les tubes 30 min à l'obscurité ;
- Après 30 min, homogénéiser les solutions rapidement et lire la DO à 750 nm.

Annexe 5

Tableau : Caractérisation physico-chimiques des échantillons de lait de vache

Lait de vache fermenté	Quantité des grains				Norme (FAO, 1995)	
	7.5g				4,2 ~ 4,5	
	pH					
24h	4.34					
48h	4.10					
	Acidité titrable				0.6 ~ 0.9 % (60 ~ 90°D)	
24h	65.7°D	74.25	79.47	93.87°D		
48h	83.97°D	86.30°D	88.29°D	140.04°D		
Lait de vache frais	pH		Acidité		6,6 ~ 6,8	15 ~ 18
	6.6		17.1°D			

Annexe 6

Tableau : Résultats des analyses biochimiques

Echantillon	Matières sèches %	Humidité %	Taux protéique (g/l)
Lait frais	12,3	87,7	33g/l
Kéfir du lait de vache 24H	11.71	88.29	28,75g/l
Kéfir du lait de vache 48H	9,40	90,60	18.16g/l
Kéfir du lait selon la norme Codex alimentaire	10,6	89,4	28g/l
Lait de vache frais selon les normes d'AFNOR	12,5	87,5	34 ~ 36g/l

Annexe 7

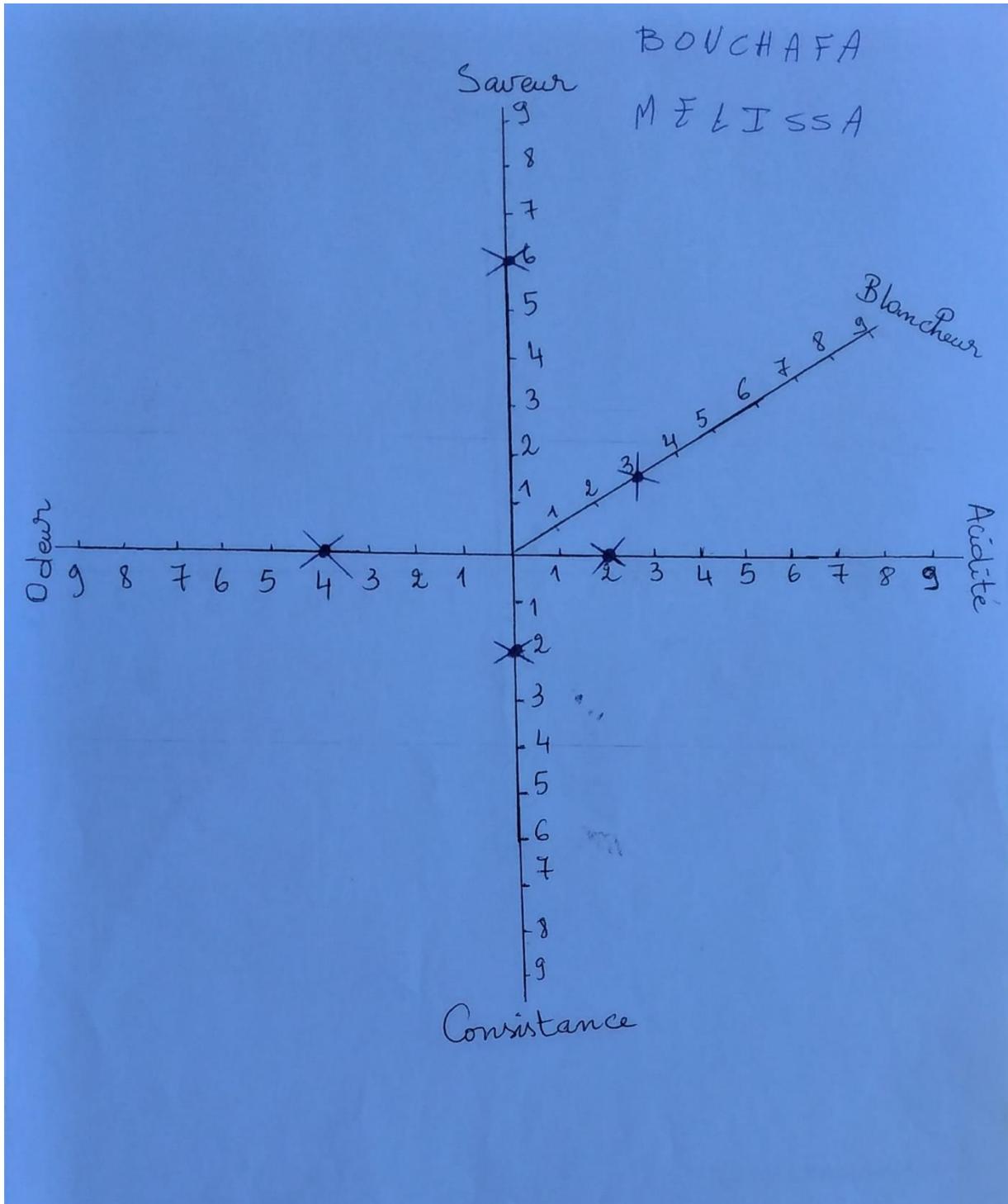


Figure : Réponse d'un jury lors l'épreuve descriptive du kéfir de lait de 24H

Annexe 8

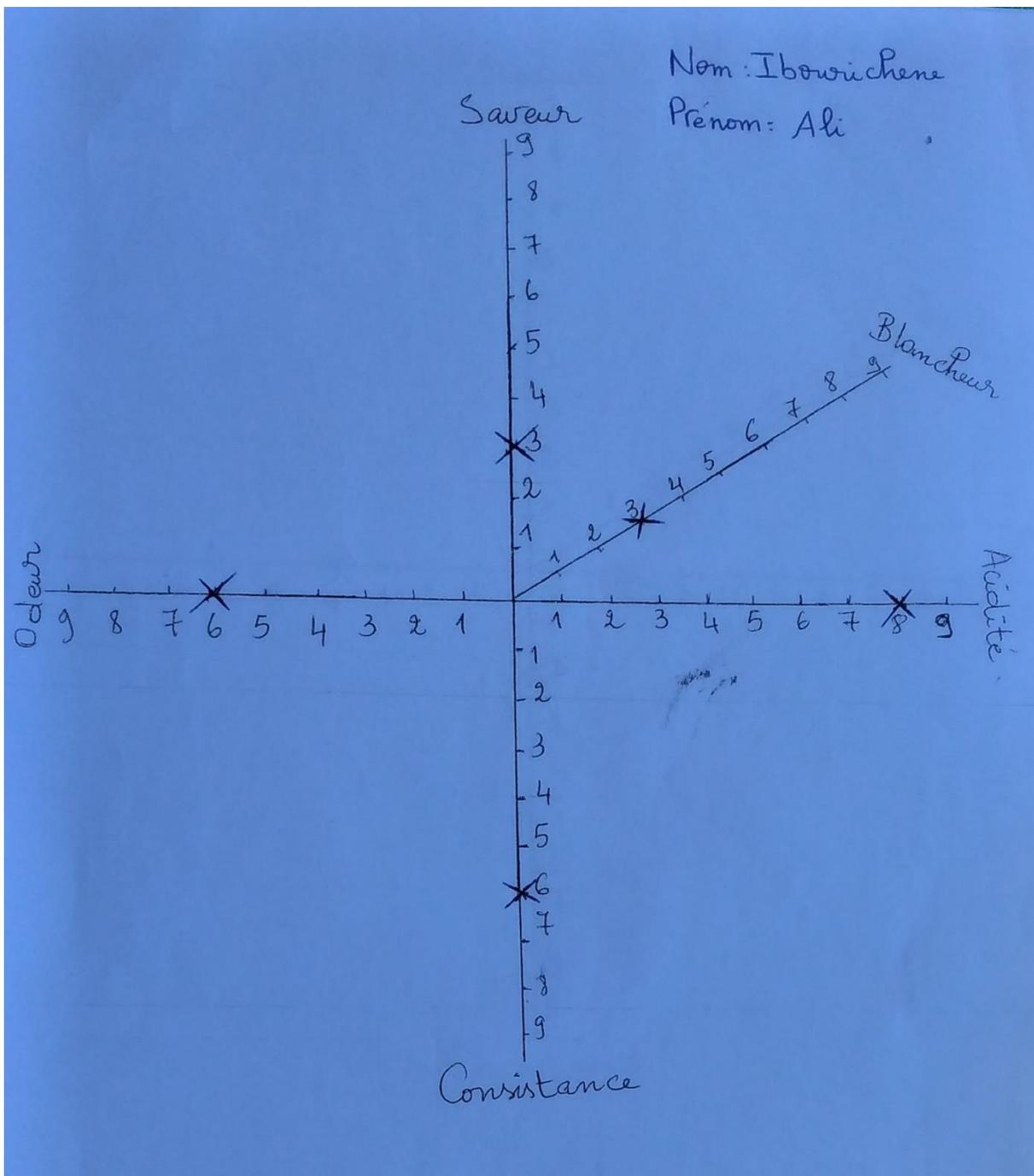


Figure : Réponse d'un dégustateur lors de l'épreuve descriptive du kéfir de 48H

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو استكشاف الخصائص الفيزيائية والكيميائية (الأس الهيدروجيني، الحموضة)، والكيميائية الحيوية (المادة الجافة، محتوى البروتين) والحسية (اختبار المتعة، التمييزي، الوصفي) للكفير المحضر في المختبر

تم إجراء تخمير الكفير في وقتي الحضانه؛ عملية تخمير واحدة استمرت 24 ساعة والأخرى 48 ساعة. تم تخزين المادة الخام (حليب البقر) والكفير الناتج في الثلاجة

أظهرت النتائج الفيزيائية والكيميائية انخفاضاً في درجة الحموضة للكفير التي تم الحصول عليها بعد 24 ساعة و48 ساعة من التخمر، وهي على التوالي 4.34 و4.1، مع زيادة الحموضة: 79.47 درجة دورنيك لمدة 24 ساعة و88 كفير، 29 درجة دورنيك الكفير بعد أن خضع للتخمير لمدة 48 ساعة

بالنسبة للتحليلات البيوكيميائية، سجلنا مستوى بروتين قدره 28.75 جم/لتر للكفير لمدة 24 ساعة، وانخفض هذا المعدل إلى 18.16 جم/لتر بعد 48 ساعة من التخمر. وكذلك انخفاض المادة الجافة للمنتجين اللذين تم تحليلهما مقارنة بتلك الموجودة في الحليب الطازج المستخدم

اختار جزء كبير من المتذوقين الكفير من الحليب المخمر لمدة 24 ساعة ولم يستمتعوا بالكفير 48 ساعة وذلك بسبب الحموضة الزائدة الناتجة عن تراكم الأحماض العضوية، مثل: أحماض اللاكتيك التي تنتجها بكتيريا حمض اللاكتيك ومع ذلك، فإن النتائج التي تم الحصول عليها تتوافق مع المعايير التي أوصت بها منظمة الأغذية والزراعة وتلك التي نشرتها الجريدة الرسمية للجمهورية الجزائرية وهيئة الدستور الغذائي

الكلمات المفتاحية: الكفير الحليبي، البر وبيوتيك، التخمر، الخواص الفيزيائية والكيميائية، الخصائص البيو كيميائية، الخصائص الحسية

Abstract

The aim of this study was to explore the physicochemical (pH, acidity), biochemical (dry matter, protein content) and sensory (hedonic, discriminative, descriptive) characteristics of a kefir prepared in the laboratory.

Kefir fermentation was carried out at two incubation times, one lasting 24 hours and the other 48 hours. The raw material (cow's milk) and the resulting kefir were stored in a refrigerator.

The physic-chemical results showed a decrease in the pH of the kefir obtained after 24H fermentation and that after 48H, to 4.34 and 4.1 respectively, with an increase in acidity: 79.47°D for the 24H kefir and 88.29°D for the kefir fermented for 48H.

For biochemical analysis, we recorded a protein level of 28.75g/l for the 24H kefir, dropping to 18.16g/l after 48H fermentation. The dry matter content of both products was also lower than that of the fresh milk used.

A large proportion of the tasters chose the kefir made from milk fermented for 24H, while not appreciating the 48H kefir due to the excessive acidity caused by the accumulation of organic acids, such as lactic acids produced by lactic bacteria.

Nevertheless, the results obtained are in line with the standards recommended by the FAO and those reported by the Official Journal of the Algerian Republic and the Food Codex.

Key words: Milk kefir, probiotics, fermentation, physicochemical properties, biochemical properties, sensory properties.

Résumé

L'objectif de cette étude est d'explorer, les caractéristiques physico-chimiques (pH, acidité), biochimiques (matière sèche, le taux protéique) et sensoriels (teste hédonique, discriminative, descriptive) d'un kéfir préparé au laboratoire.

La fermentation du kéfir a été réalisée à deux temps d'incubation ; une fermentation qui a duré 24H et l'autre 48H. La matière première (lait de vache) et le kéfir obtenu ont été stocké au réfrigérateur.

Les résultats physico-chimiques ont montré une diminution de pH du Kéfir obtenu après 24H et 48H de fermentation, qui sont respectivement de 4.34 et 4.1, avec une augmentation de l'acidité : 79,47°D pour le kéfir de 24H et 88,29°D pour le kéfir ayant subi une fermentation pendant 48H.

Pour les analyses biochimiques, nous avons enregistré un taux protéique de 28,75g/l pour le kéfir de de 24H, ce taux a baissé jusqu'à 18,16g/l après 48H de fermentation. Ainsi qu'une baisse en matière sèche des deux produits analysés par rapport à celle du lait frais utilisé.

Une grande partie des dégustateurs a choisi le kéfir du lait fermenté pendant 24H et la non appréciation du kéfir de 48H qui est dû à l'acidité excessive causé par l'accumulation des acides organiques, tels que : les acides lactiques produits par les bactéries lactiques.

Néanmoins, les résultats obtenus sont en conformité avec les normes préconisées par la FAO et à celles rapportées par le journal officiel de la république algérienne et le codex alimentaire.

Mots clés : Kéfir de lait, probiotiques, fermentation, propriétés physico-chimiques, propriétés biochimiques, propriétés sensorielles.