REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
ⵜⴰⵙⴷⴰⵡⵉⵜ ⵎⵓⵃⵎⵓⴷ ⵎⵎⴻⵔⵉ ⴷ ⵜⵣⵔⵡⵣⵓ

UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI OUZOU

FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES

Mémoire en vue d'obtention du diplôme

de master académique en sciences alimentaires

Spécialité : Agroalimentaire et contrôle de qualité

Thème

Technologie de fabrication du kéfir

Mémoire bibliographique

Présenté par :

- BEGHEDADI Madjid
- BOUZRARA Meriem

Soutenu le 25/09/2022

Devant le jury :

- Président :	BENGANA Mohamed	Maitre de conférences	UMMTO
- Examinatrice :	Mme REMANE Yakout	Maitre assistante chargée de cours	UMMTO
- Encadreur :	AMROUCHE Tahar	Professeur	UMMTO

Année universitaire 2021 / 2022

Remerciements

Nous commençant tout d'abord par rendre grâce à ALLAH, le tout puissant de nous avoir illuminé et ouvert les portes de savoir et nous avoir donné la volonté et le courage d'élaborer ce travail.

Ce travail n'aurait pu être effectué sans l'accord, le soutien et l'aide de plusieurs personnes.

Nos premiers remerciements iront à notre promoteur Amrouche tahar,

Professeur à l'université MOULOUD MAMMERI TIZI OUZOU «UMMTO»., pour sa compétence, disponibilité, patience et gentillesse, pour son soutien, ses conseilles et son aide dans notre travail, nous vous adressons nos remerciements les plus chaleureux.

Nous adressons nos remerciement les plus respectueux aux membres du jury pour le grand honneur qu'il nous fond en acceptant d'examiner ce mémoire : BENGANA Mohamed et Mme REMANE Yakout.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à tous ceux qui ont apporté une aide de prés ou de loin pour la réalisation de ce travail.

Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à tous nos proches et amis, qui nous ont toujours soutenu et encouragé au cours de la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

Aux être les plus chers à mon cœur ceux qui m'ont encouragé d'amour et d'affection, qui m'ont protégé, qui m'ont donnés force, courage et confiance.

A ma chère mère «Ouardia» la personne la plus proche de mon cœur, je veux te dire maman que tu es une mère exemplaire, par tes conseil, ta tendresse, ta confiance et ton amour.

A mon cher père «Mouloud» qui m'a toujours encouragé, ta confiance m'a permis de surmonter les difficultés et m'a donné l'espoir pour les projets d'avenir. Que Dieu les récompense pour tous leurs bienfaits.

Ainsi à ma chère sœur «Djidjiga» et à mes chers frères «Salime et Nassime».

Â mon binôme « Meriem » qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail.

A toutes ma famille spécialement et mes amies.

A tout les collègues de la promo agroalimentaire contrôle de qualité.

Madjid

Dédicace

Je dédie mon travail à celle qui m'a donné la vie, la source de la tendresse ma chère mère « Fatima » qui m'a apporté son appui durant toute mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'a donné l'amour, le courage et la sécurité.

A mon cher père « Arezki» qui m'a entouré de tous ses encouragements et son aide durant toute la période de mes études.

A mes chères frères « Billal, Abdarrehman »

A ma chère sœur « Melissa ».

A tout personne qui m'ont encouragé ou aidé au long de mes études.

Sans oublier mes amis et mes camarades

Â mon binôme « Madjid » qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail.

A tout les collègues de la promo agroalimentaire et contrôle de qualité.

Meriem

Sommaire

Sommaire

Liste des abréviations

Résumés

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction générale ……...……..…01

Chapitre I : Kéfir

1- Origine et consommation du kéfir ……....……03

2-Types de kéfir ……..……...04

3- Grains de kéfir ……...…..….....05

3-1- Structure des grains ……..……06

3-2- Microflore des grains de kéfir ……..……...08

3-3- Matrice des grains de kéfir ……..…...…15

3-4- Formation des grains de kéfir …….....18

Chapitre II : Fabrication du kéfir

1- Fabrication du kéfir de lait ..…….....19

1-1- Lait : substrat de fermentation ..…….…….....19

1-1-1- Définition …..…….....19

1-1-2- Composition du lait …….....19

1-1-3- Fermentation ……..…….....21

2- Méthodes de production du kéfir de lait ……...…….…….....22

2-1- Production traditionnelle …….....22

2-2- Fabrication industrielle …….…….....…25

2-3- Caractéristiques du kéfir de lait……..…….....33

3- Fabrication de kéfir de fruit ……..……....…34

3-1- Fruits utilisés ……....34

3-2- Inoculum de grains de kéfir d'eau et préfermentations ……...…….....34

3-3- Fermentation ……..…….....34

3-4- Caractéristiques du kéfir de l'eau ……..…....83

3-5- Mise à l'échelle industrielle de la production de kéfir d'eau ……..…....41

4- Conservation des grains de kéfir ……..……..…….....41

4-1- Conservation des grains de lait ……...……...…42

4-2- Conservation des grains de l'eau ……..…….....45

Chapitre III : Kéfir et santé

1- Kéfir et probiotiques ……..…..…..46

2- Composition nutritionnelle ……..…….....46

2-1- Contenu en vitamines ……..…..…….....47

2-2- Contenu protéique ……...…..…….....48

2-3- Teneur en sucre ……..…….....48

2-4- Contenu minéral ……..……...…..49

3- Effets bénéfiques du kéfir de lait sur la santé……..…...…….....49

3-1- Effet anticarcinogène ……..……..50

3-2- Prolifération gastro-intestinale……...……...……..51

3-3-Activités anti-inflammatoires et antioxydantes ...…….……51

3-4- Effet sur le système immunitaire.....52

3-5- Propriétés antimicrobiennes ……..……..…….....53

3-6- Activité antidiabétique ……..…..53

3-7- Propriétés antiallergiques ……..……54

3-8- Cicatrisation des plaies…….....54

3-9- Effet du kéfir sur l'intolérance au lactose ……....…....55

3-10- Propriétés anti-inflammatoires ……...55

3-11- Protection contre l'apoptose ……..……56

4- Effets bénéfiques du kéfir de l'eau sur la santé ……..……..…...……..56

Chapitre IV : Etudes scientifiques récentes

1- Innovation des technologies de fabrication du kéfir ……..……..…….....58

1-1- Kéfir chamelle/chèvre/chèvre ……..…..58

1-2- Kéfir végétalien ……...……..59

1-3- Probiotiques dans le fromage ……..…..…..59

1-3-1- Roue fermière ……...……...……...59

1-3-2- Fromage blanc ……..…..60

1-4- Production des glaces avec le kéfir comestible..……..……..61

1-5- Sucettes glacées ……..…….……..63

1-6- Gélatine ……..……..63

2- Limites et sécurité du kéfir de lait ou de l'eau ……..……..63

Conclusion 65

Références bibliographiques ...……..…….……....66

Liste des abréviations :

ABTS : 2,2’azino-di (3-éthylbenzthiazalin-Sulfonate).

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AGCC : Acide gras à chaine court.

ARNm : Acide ribonucléique messager.

ATT : Acidité totale titrable.

BSH : Bile salt hydrolase.

EPS : Exopolisacharides.

LA : Lait d’amande.

LDL : Lipoprotéines à basse densité.

LS : Lait de soja.

NO : Oxyde nitrique.

pH : Potentiel d’hydrogéne.

ROS : Reactive oxygen species.

TGA : Analyse thermogravimétrique.

TNF : Facteur de nécrose tumorale.

UHT : Ultra haute température.

URSS : Union des républiques socialistes soviétiques.

Résumé :

Le kéfir, dont la dénomination d'origine turque " keyif ", est un produit fermenté, fabriqué à partir des différentes particules contenant des probiotiques, connues sous le nom de grain du kéfir de lait et de l'eau. Les grains de kéfir sont de petites masses ridées, à consistance gélatineuse, de grosseur variable, blanchâtres, jaunâtres ou transparentes, ou encore des petites masses élastiqueés en formes de chou-fleur. L'observation au microscope électronique des grains de kéfir révèle la présence des bactéries et des levures dans leur masse.

La production du kéfir de lait à l'échelle artisanale et industrielle par l'utilisation des grains de kéfir de lait s'effectue par traitement des grains et incubation avec du lait (lait de chèvre, bufflonne, mouton, chameau ou vache), la maturation et la conservation qui sont d'une grande importance et influençent la qualité du produit. Par contre la production du kéfir d'eau nécessite l'utilisation des grains de kéfir de l'eau, qui doit être incubé dans un milieu à base de sucrose et différents substrats.

L'optimisation de la production industrielle nécessite le remplacement des grains par des cultures de démarrages et l'utilisation des levains prêts à l'emploi, des arômes, des colorants, des fruits et d'autre substrats pour améliorer les caractéristiques microbiologiques, physico-chimiques et sensorielles du produit fini. Plusieurs produits métaboliques sont générés pendant la production du kéfir, et sont à l'origine de sa saveur et de son arôme distincts : acide lactique, éthanol, gaz carbonique et des composants aromatiques.

Le kéfir continent un large spectre de micro-organismes probiotiques, ce qui peut contribuer à améliorer l'état de santé, grâce aux propriétés suivantes : anticarcinogène, anti-prolifération gastro-intestinale, anti-inflammatoires, antioxydantes, immunomodulatrices, antimicrobiennes, antidiabétique, antiallergiques, cicatrisation des plaies, effet sur l'intolérance au lactose, protection contre l'apoptose. Mais, certaines limites d'utilisation du kéfir doivent être reconnues due à leur acidité et la teneur en alcool, parce que sa consommation pourrait provoquer une intolérance chez certaines personnes.

D'autres études récentes dont l'innovation de la production des produits à base de kéfir, visent à prolonger le temps de conservation du produit et à appliquer des traitements qui répondent à des demandes diverses.

Mots clés : produit fermenté, grains du kéfir, production de kéfir, probiotique, micro-organismes.

Abstract :

Kefir, whose original Turkish name is "keyif", is a fermented product made from various particles containing probiotics, known as milk kefir grains, and water. Kefir grains are small, wrinkled, gelatinous masses of varying size, whitish, yellowish or transparent, or small elastic masses in the shape of cauliflower. Electron microscopic observation of the kefir grains reveals the presence of bacteria and yeast in their mass.

The production of milk kefir on a small and industrial scale using milk kefir grains is carried out by processing the grains and incubating them with milk (goat, buffalo, sheep, camel or cow milk), the maturation and preservation of which are of great importance and influence the quality of the product. On the other hand, the production of water kefir requires the use of water kefir grains, which must be incubated in a medium based on sucrose and different substrates.

The optimization of the industrial production requires the replacement of the grains by starter cultures and the use of ready-made leavens, flavors, colorants, fruits and other substrates to improve the microbiological, physico-chemical and sensory characteristics of the finished product. Several metabolic products are generated during the production of kefir, and are responsible for its distinct flavor and aroma: lactic acid, ethanol, carbon dioxide and aromatic components.

Kefir contains a wide spectrum of probiotic microorganisms, which can help to improve health status, thanks to the following properties: anticarcinogenic, anti-gastrointestinal proliferation, anti-inflammatory, antioxidant, immunomodulatory, antimicrobial, anti-diabetic, anti-allergic, wound healing, effect on lactose intolerance, protection against apoptosis. But, some limitations of use of kefir must be recognized due to their acidity and alcohol content, because its consumption could cause intolerance in some people.

Other recent studies, including innovation in the production of kefir-based products, aim to extend the shelf life of the product and apply treatments that meet various demands.

Key words : fermented product, kefir grains, kefir production, probiotic, microorganisms.

Agzul :

Lkeffir, isem-is yekka-d seg zaṛ n ṭurkkit " keyif ", netta d yiwen n ufaris irrekmen yettwaxdam s kerra n tezelɣa yesɛan iɛeqaren n tujia, yettwasnen s yiɛqayen n lkeffir uyefki d wamman. Tiɛqayin n lkeffir dtimecṭah arnu kremcent, deg tiddi mgaradent, dtimellalin dtiwṛaɣin neɣ dtifrawin, yezmer ad illinet arnu dtiɛqayen ttiwalwaḍin n talɣa n cciflu̱r. Annay n umicroskup n talikteṛunit yesbegen-d d akken tella tebaktiret ig iɣes ɣer daxel n teɛqayin-agi nuyefki.

Afares n lkeffir n uyefki ɣef sellum anḍan aked umguran susexdem n teɛqayin n lkeffir uyefki deg tazwara ilaq-as uɣan itɛeqayin-agi aked uyefki (ayefki n taɣaṭ, tixessi, alɣem, tefunast), tibbiwin akked unjemuɛ seɛant azal damqran deg uzarir n ufaris ufrin. Seg tamma niḍen, afaris n lkeffir n wammen susexdem n teɛqayin n wamman ilaqa umkan yes3an skeṛ akked kerra n isufar wiyeḍ.

Iwaken ansiwed ɣer ufaṛis amguran ilaq anvedel tiɛeqayin-aki sechewiḍ ufaris n tazwara ig kerra yuɣen iwejeden, inyen, rwayeh akked yigumma arruy-as ayen nniḍen, iwakken ad nsili tulmisin n ufaris n tagara. Aṭas n wayen id yetteken seg ufaris-aki, ad nefk amedya n tesemmem, lgaz akked wayen id yettaken ariḥa yelhan.

Lkeffir yesɛa aṭas n limicru-urganizm yesɛan lfayda i tujya n tefka n umdan. Deg waya nezmer ad nadar: anti-karcinogen anti-proliferation gastrointistinal anti-inflammatwar, anti-uxydant, immunu-mudulatris, anti-dyabitik, anti-allergik, lentulirans ɣef lactuz arnu ɣef waya lapuptuz akked ḥlu n lejarḥa. Maca, llant kra tillas n useqdec n lkeffir ilaq ad tent-yessen umedan garassent iɣisem akked temeɣust acku tučč̌it-is yezmer ad tawi lemḍara i kerra n yemdanen.

Kerra imenadiyen snulfan-d amaynut deg ufaris s teɣayemt n lkeffir, iwaken ad simeɣren akud unejmuɛ, iwaken ad sawḍen ger levghi n umsider.

Awalen icuden: Afaris irrekmen, Tiɛqayin n lkeffir, Afares n lkeffir, tujya.

تلخيص :

الكفير، اسمه من أصل تركي "كييف"، هو منتج مخمر، مصنوع من جزيئات مختلفة تحتوي على البروبيوتيك، والمعروفة باسم حليب الكفير والماء. حبيبات الكفير عبارة عن كتل صغيرة مجعدة، ذات قوام هلامي، متغيرة الحجم، بيضاء، صفراء أو شفافة ، أو حتى كتل صغيرة مرنة على شكل قرنبيط. تكشف مراقبة حبوب الكفير تحت المجهر الإلكتروني عن وجود البكتيريا والخمائر في كتلتها.

يتم إنتاج حليب الكفير على نطاق حرفي وصناعي باستخدام حبوب حليب الكفير من خلال معالجة الحبوب واحتضانها بالحليب (حليب الماعز والجاموس والأغنام والإبل أو البقر)، والنضج والحفظ التي لها أهمية كبيرة وتؤثر على جودة المنتج. من ناحية أخرى، يتطلب إنتاج ماء الكفير استخدام حبات الكفير المائية، والتي يجب تحضينها في وسط يعتمد على السكروز وركائز مختلفة.

يتطلب تحسين الإنتاج الصناعي استبدال الحبوب بالمزارع البادئة والعجين المخمر الجاهز للاستخدام والمنكهات والملونات والفواكه وغيرها من الركائز لتحسين الخصائص الميكروبيولوجية والفيزيائية والجوانب الكيميائية والحسية للمنتج النهائي. يتم إنتاج العديد من المنتجات الأيضية أثناء إنتاج الكفير، وهي مسؤولة عن نكهته ورائحته المميزة: حمض اللاكتيك والإيثانول وثاني أكسيد الكربون والمكونات العطرية.

يحتوي الكفير على مجموعة واسعة من الكائنات الحية الدقيقة بروبيوتيك، والتي يمكن أن تسهم في تحسين الحالة الصحية، وذلك بفضل الخصائص التالية: مضاد للسرطان، مضاد للجهاز الهضمي، مضاد للالتهابات، مضاد للأكسدة، مناعي، مضاد للميكروبات، مضاد لمرض السكر، مضاد للحساسية، التئام الجروح، تأثير على عدم تحمل اللاكتوز، الحماية من موت الخلايا المبرمجة. ولكن، يجب التعرف على قيود معينة لاستخدام الكفير بسبب محتواه من الحموضة والكحول، لأن استهلاكه قد يسبب عدم تحمل بعض الناس.

تهدف الدراسات الحديثة الأخرى، بما في ذلك ابتكار منتجات قائمة على الكفير، إلى إطالة العمر الافتراضي للمنتج وتطبيق العلاجات التي تلبي المتطلبات المختلفة.

الكلمات المفتاحية: المنتج المخمر، حبوب الكفير، إنتاج الكفير، البروبيوتيك، الكائنات الحية الدقيقة.

Liste des tableaux :

Tableau I : Comparaison entre le kéfir de lait et le kéfir de fruit (Elke *et al*., 2021)…….…05

Tableau II : Composition microbienne de grains du kéfir de lait. Les différentes espèces sont mentionnées sous leur appellation actuelle(Veronique, 2008)…...……...……09

Tableau III : Composition microbienne du kéfir d'eau (Elke *et al*., 2021).....…….12

Tableau IV : Composition moyenne du lait entier (Fredot, 2006) ……..…….…20

Tableau V : Différence entre poudre lyophilisée et grains du kéfir de lait (De Roissart H. et Luquet F.M., 1994) ...……26

Tableau VI : Conditions de fermentation évaluées pour chaque substrat fermenté et les Conditions optimisées (Ailton *et al.,* 2020).…..……....….37

Tableau VII : Propriétés technologiques développées dans les aliments non laitiers par le processus fermentaire utilisant les grains du kéfir (Ailton *et al.,* 2020)…….…..…40

Tableau VIII : La composition chimique et les valeurs nutritionnelles du kéfir (Semih et Ozlem, 2003) ……...…….47

Tableau IX : Ingrédients utilisés dans la préparation de la crème glacée au kéfir comestible avec l'ajout de pulpe de jabuticaba et de fraise (Gislaine Hermanns *et al*., 2019) ……..….61

Liste des figures :

Figure 1 : Les grains du kéfir de lait (Misbah, 2014). ……04

Figure 2 : Les grains du kéfir d'eau (Misbah, 2014). ……04

Figure 3 : Illustration de grains de kéfir (Marshall et Cole, 1984) ; a : grain en forme de "feuille" ; b : grain en forme de "feuille enroulée" ; c et d : grain de forme non définie ; e et f : grain en forme de "chou-fleur"……..06

Figure 4 : Illustration d'un grain du kéfir en grossissement de 7000 X (Guzel-Seydim *et al.*, 2005) ……07

Figure 5 : Prédominance des bactéries a la partie périphérique de grain du kéfir (x3040) (Bottazzi et Bianchi, 1980)……07

Figure 6 : Prédominance des levures au centre des grains du kéfir ; elles sont placées surune matrice lamellaire fortifiée par des cordons (x3040) (Bottazzi et Bianchi, 1980)……08

Figure 7 : Contenu microbien d'une grain du kéfir (Guzel-Seydim *et al.*, 2005)……14

Figure 8 : Illustration de l'unité de six sucres, du D-glucose (D-G) ou du D-galactose (D-Gal), répétée dans la structure du kéfiran (Véronique, 2008)……16

Figure 9 : Techniques de conservation et de transformation du lait (Ramparany, 2008)……21

Figure 10 : Diagramme de fabrication du kéfir traditionnelle (Tamime *et al.*, 2001)……24

Figure 11 : Diagramme de la production industrielle du kéfir en utilisant le fermentât du kéfir comme culture de départ (Tamime *et al.*, 2006)……28

Figure 12 : Diagramme de la production du kéfir à l'aide de cultures commerciales (Singh et Shah, 2017)……29

Figure 13: Production du kéfir à l'aide de différentes méthodes pour une seconde fermentation (Marshall et Cole, 1985)……32

Figure 14 : Diagramme de fabrication du kéfir d'eau (Elke *et al*., 2021)……35

Figure 15: Modifications des caractéristiques technologiques des aliments après fermentation à l'aide de grains du kéfir (Ailton *et al.*, 2020)……38

Figure 16 : Diagramme de séchage des grains du kéfir (Ramparany, 2008)……..42

Figure 17 : Processus de revivification des grains du kéfir (Ramparany, 2008)……44

Figure 18 : Propriétés biologiques, valeur nutritionnelle et composition en macro-et micro-nutriments du kéfir (Mohamed *et al*., 2020)...……..……..….49

Figure 19 : Illustration représentant la production du kéfir avec différents types de lait (Mohamed *et al*., 2020) .……..……..……58

Figure 20 : Production de fromage blanc (A : Egouttage et élimination de la phase sérique, B ; Echantillon égoutté) (Akal, TürkmeN, Özturkoglu-Budak, 2020)…….……60

Figure 21 : Diagramme de la production des glaces au kéfir comestible avec de la pulpe jabuticaba et de la fraise (Gislaine Hermanns *et al.*, 2019) ……..…….……..…...62

Introduction

Introduction générale :

La fermentation est une méthode de préservation des aliments et de diversification de la diète, aussi ancestrale que le salage et le séchage. Elle résulte de l'action spontanée ou dirigée de communautés microbiennes endogènes ou ajoutées sur des matières premières extrêmement diverses, d'origine animale ou végétale. Les aliments résultants de ce procédé de fermentation sont profondément modifiés sur le plan biochimique et contiennent généralement une biomasse microbienne élevée, le plus souvent vivante. A ce titre, les aliments fermentés représentent une famille d'aliments tout à fait particulière. Citons par exemple les yaourts, les fromages, le kéfir, les olives, la bière, le vin, le kombucha…, qui ont encore aujourd'hui une place très importante dans notre alimentation, sur le plan culturel, gastronomique, économique ou nutritionnel. (Francois *et al.,* 2020).

Le kéfir est une boisson de lait ou de fruit fermentée 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 enduite dans une matrice de polysaccharides produite naturellement par la symbiose (Rollan, 1988).

Le kéfir d'eau (fruits) est une boisson fermentée pétillante, légèrement acide, généralement produite par la fermentation d'une solution de saccharose à laquelle sont ajoutés des fruits frais ou secs (parfois avec une tranche de citron), avec des "grains" du kéfir d'eau. Cette boisson est similaire mais distincte du kéfir de lait ou kéfir laitier qui est produit typiquement avec du lait bovin en utilisant des grains du kéfir de lait (Elke *et al.,* 2021). Ces produits sont originaires d'Asie centrale, entre les montagnes du Caucase et la Mongolie, et sont très populaires dans de nombreux pays (par exemple, l'ex-URSS, la Pologne, la République tchèque, la Slovaquie, la Hongrie, la Bulgarie et certains pays scandinaves) (Tamime *et al.,* 2006).

Une grande attention a été accordée aux produits fermentés à l'aide du kéfir, car il est possible de développer un grand nombre de produits présentant des caractéristiques sensorielles telles qu'un arôme et une saveur attrayants dans le produit fini. Les aliments produits peuvent contenir des micro-organismes qui, lorsqu'ils sont isolés, démontrent des effets bénéfiques dans le corps humain (Ailton *et al.,* 2020).

Les produits fermentés ont été traditionnellement fabriqués et consommés dans différentes cultures du monde au fil des ans (Claire *et al.,* 2021). De nos jours ils 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.

Très tôt, le docteur Jones professeur en diététique et nutrition à l'Université Mc Gill de Montréal (Canada), cite le kéfir comme exemple d'aliment fonctionnel de type probiotique (Brihmette et Chaoua, 2017). Les aliments fonctionnels influencent positivement une ou plusieurs fonctions biologiques du corps humain, améliorant ainsi l'état de santé et le bien-être, et réduisant le risque de développer des maladies. Cette catégorie d'aliments comprend tous les

produits contenant des micro-organismes probiotiques définis comme "des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, confèrent un effet bénéfique sur la santé" (Hüseyin *et al.*, 2016).

Les recherches récentes, se sont focalisées sur l'interaction hôte-microbe, les modes d'action et les mécanismes de détoxification qui pouvant influencer le système immunitaire chez l'homme et l'animal. Les consommateurs ont également montré leur préférence pour de tels aliments qui sont des alternatives aux thérapies conventionnelles pendant le traitement de diverses maladies chroniques (Asif *et al.*, 2013).

Dans cette optique, nous avons initié ce travail visant à passer en revue la technologie de fabrication du kéfir. Pour cela, ce mémoire sera développé selon le plan suivant :

- Connaissances sur le kéfir et les grains.
- Procédés de fabrication du kéfir.
- Caractéristiques physicochimiques et l'aspect microbiologique.
- Effets des produits fermentés sur la santé.
- Nouvelles technologies de produits fermentés.

Chapitre I
Kéfir

Chapitre I : Kéfir

1- Origine et consommation du kéfir :

Le kéfir est l'une des plus anciennes boissons lactées fermentées, et la technologie de production et l'utilisation d'une culture de départ spécifique se sont développées au fil des âges. Le kéfir trouve son origine dans les montagnes du Caucase, l'ancienne Union soviétique et Asie centrale où a été consommé plus de 2000 ans avant Jésus-Christ. La première publication concernant cette boisson, faite par un médecin russe, G. DZHOGIN, en 1867, dans les Travaux de la Société Médicale du Caucase, a été suivie par des dizaines d'autres (Lipatov, 1978). Un article publié dans la Presse Médicale, 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).

Le mot kéfir serait issu du mot turc " Keyif " qui signifie "bonne sensation", en raison du sentiment général de santé et de bien-être (Tamime *et al.*, 2006). Cette boisson est également fabriquée sous différents noms tels que kephir, kiaphur, kefer, knapon, kepi et kippi, et kippi (Koroleva 1988), avec une production artisanale du kéfir dans des pays aussi répandus que l'Argentin, Taiwan, le Portugal, la Turquie et la France (Angulo *et al.*, 1993).

Le kéfir a été produit selon une méthode traditionnelle dans des sacs fabriqués à partir de peaux d'animaux, ou dans des tonneaux en chêne ou des pots en terre cuite. Comme ces récipients étaient utilisés en permanence (c'est-à-dire qu'après avoir consommé du kéfir, on ajoutait un nouveau lot de lait frais), les micro-organismes avaient tendance à former une fine couche puis des amas sur les surfaces des récipients. Ce processus de formation de film microbien a été favorisé par les conditions chaudes du Caucase (Tamime *et al.*, 2006).

De nos jours, l'augmentation de la production du kéfir devrait répondre à une hausse de la demande pouvant devenir considérable au moyen d'une promotion convenable (Athéna et Anifantakis, 1988).

2- Types de kéfir :

Il existe deux sortes du kéfir, le kéfir de lait et kéfir d'eau ou des fruits.

a- Kéfir de lait : 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 (comme les vaches, les chèvres et les moutons), par des grains sous forme de petites boulettes blanches, semblables aux minuscules de choux-fleurs (Figure 1) (Misbah, 2014).

Figure 1 : Les grains du kéfir de lait (Misbah, 2014).

b- 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 2). 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 2 : Les grains du kéfir d'eau (Misbah, 2014).

Comme le montre le Tableau I, les deux types de kéfir sont issus des grains du kéfir différents (Elke *et al.*, 2021):

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

Kéfir de 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'exopolysaccharide de grain est principalement composé de kéfiran	L'exopolysaccharide 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 *Saccharomyces* sont des composantes mineures	Les espèces de levure *Saccharomyces* sont dominantes
Les espèces bactériennes *Lactococcus* sont plus dominantes	Les espèces bactériennes *Lactococcus* sont rarement présentes
Espèce de levure *Candida* plus susceptible d'être présentes	Espèce de levure *Candida* rarement présente

3- Grains de kéfir :

Les grains de kéfir sont des ferments lactiques composés de communautés microbiennes complexes et diverses. La caractérisation des grains de kéfir sélectionnés pour leurs qualités organoleptiques et technologiques au regard de leur composition microbienne qualitative et quantitative.

3-1- Structure des grains :

Les grains de kéfir sont décrits comme « des petites masses ridées de consistance gélatineuse de grosseur variable, de taille d'une noix et de couleur blanchâtres, jaunâtres (Otes et Caginde, 2003) ou transparentes (Waldherr *et al.*, 2010), selon le substrat où ils ont été cultivés » ou « des petites masses blanches élastiques en forme de chou-fleur » (Hamza et Alloui, 2017). Marshall et Cole (1984) illustrent diverses formes de grains (Figure 3) et les décrivent comme « pouvant être déroulés à une sorte de feuille ».

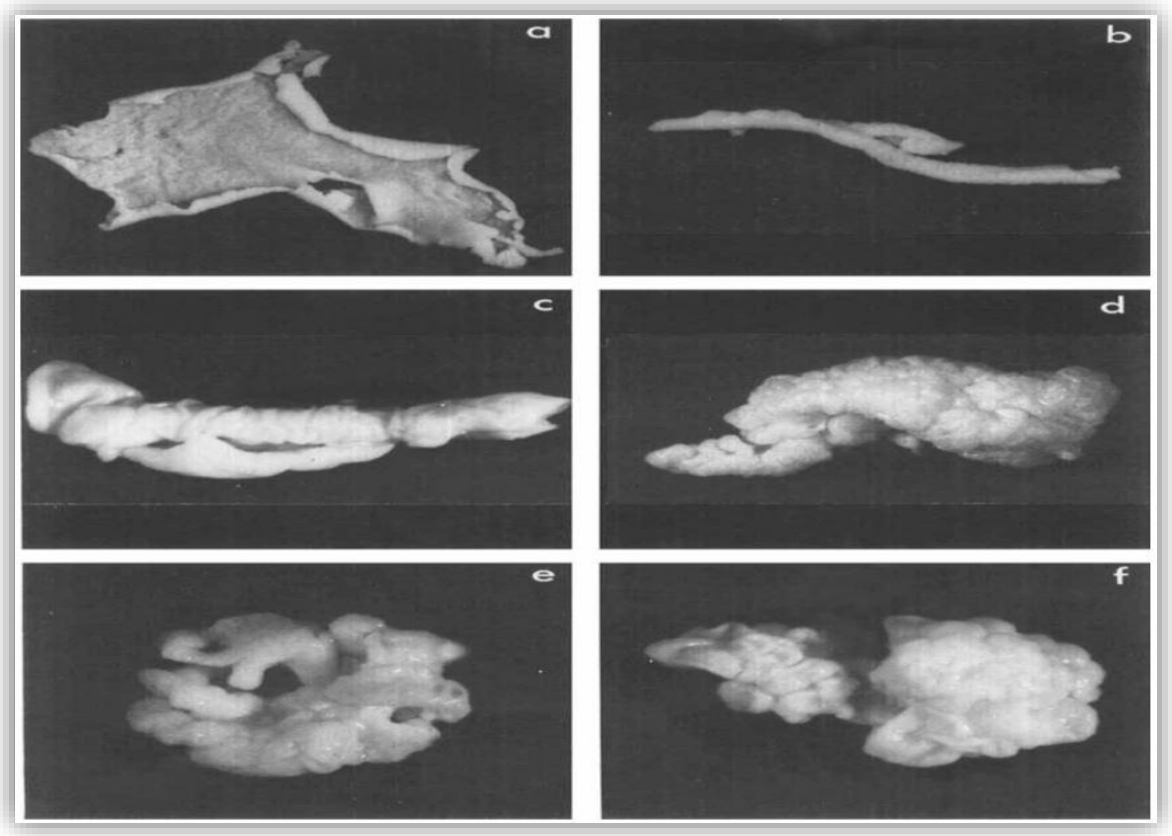

Figure 3 : Illustration de grains du kéfir (Marshall et Cole, 1984) ; a : grain en forme de "feuille" ; b : grain en forme de "feuille enroulée" ; c et d : grain de forme non définie ; e et f : grain en forme de "chou-fleur".

Les particules de kéfir sont de taille variable, homogène ou hétérogène au sein d'un lot, selon qu'elles sont petites ou grandes. Les diamètres de grains de Bottazzi et Bianchi (1980) variaient de 2 à 3 mm, tandis que ceux d'Abraham et De Antoni (1999) variaient de 1 à 40 mm, et ceux de Waldherr *et al* (2010) ont un diamètre de 5 à 20 mm.

Vues au microscope électronique (Molska *et al.*, 1980 ; Marshall et Cole, 1984), les particules de kéfir révèlent la présence de bactéries et de levures étroitement associées à la matrice spongieuse (Figure 4). Tous les grains examinés par ces auteurs contenaient des bactéries sous forme de bacillus et bactéries ressemblant à des coquilles.

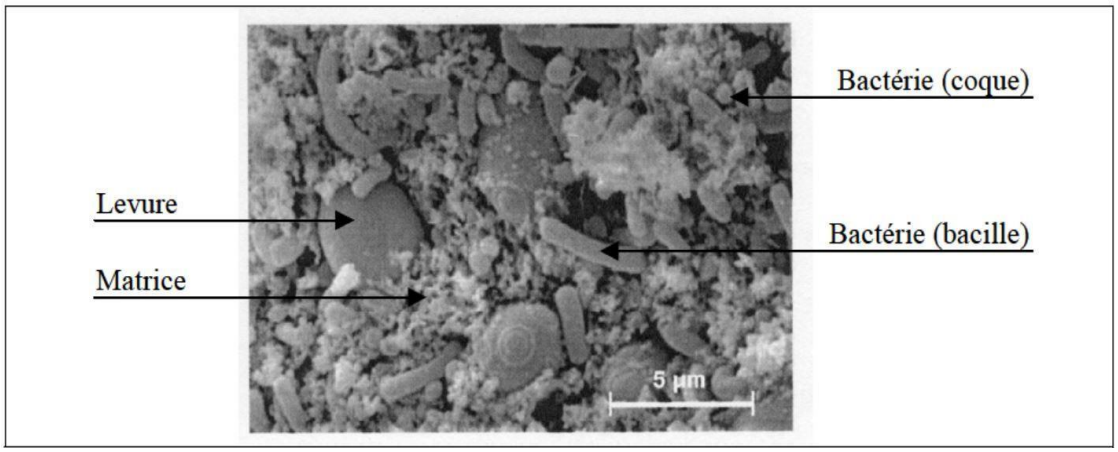

Figure 4 : Illustration d'un grain de kéfir en grossissement de 7000 X (Guzel-Seydim *et al.*, 2005)

Molska et al. (1980) Ces observations microscopiques indiquent qu'il n'y a pas d'arrangement structuré entre les bactéries et les levures. Tout le monde s'accorde à dire que les bactéries et les levures sont inégalement réparties dans les grains. Cependant, certains observent des niveaux élevés de levure à la surface du grain et des niveaux élevés de bactéries à l'intérieur du grain (Marshall et Cole, 1985), tandis que d'autres observent le contraire (Bottazzi et Bianchi, 1980). Réa *et al.* (1996) confirment cette différence de distribution entre les grains et précisent qu'elle est également présente au sein d'un même grain. La répartition de ces micro-organismes, que ce soit à la surface du grain au dans le cœur, dépend de la section étudiée (Figure 5 et 6). Cependant, lorsqu'elles étaient observables, les bactéries ressemblant à des coquilles étaient toujours localisées à la surface du grain.

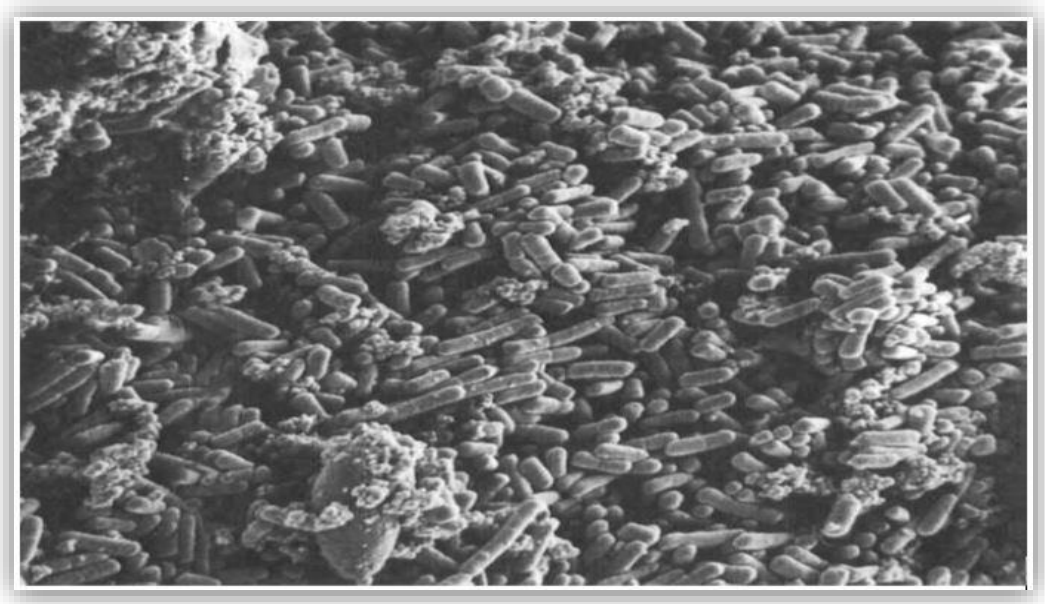

Figure 5 : Prédominance des bactéries a la partie périphérique du grain de kéfir (x3040), (Bottazzi et Bianchi, 1980).

Figure 6 : Prédominance des levures au centre des grains du kéfir ; elles sont placées sur une matrice lamellaire fortifiée par des cordons (x3040), (Bottazzi et Bianchi, 1980).

3-2- Microflore des grains de kéfir :

Les grains se développent dans certaines conditions physiques et chimiques qui empêchent le développement de la plupart des microorganismes pathogènes, ce qui suggère que seule une petite partie de leur composition microbienne est spécifique mais non constante. Ces différences de composition microbienne peuvent s'expliquer par les techniques employées pendant le traitement et/ou les différentes sources des grains du kéfir. Les études publiées sur la composition microbienne des grains du kéfir mettent en lumière une microflore complexe, souvent composée de plusieurs espèces de bactéries 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, associées dans les grains du kéfir en diverses combinaisons **(**Garbers *et al.*, 2004). (Tableau II) Parmi les bactéries lactiques recensées, la majorité des espèces appartient :

-Au genre *Lactobacillus*, qui inclut des espèces homofermentaires *: Lb. acidophilus, Lb. crispatus, Lb. delbrueckii, Lb. gallinarum, Lb. gasseri, Lb. helveticus, Lb. Kefiranofaciens*.

-Au genre *Lactobacillus*, des espèces hétérofermentaires facultatives ou obligatoires : *Lb. brevis, Lb. curvatus, Lb. fermentum, Lb. kefiri, Lb. paracasei, Lb. parakefiri, Lb. plantarum et Lb. rhamnosus*.

Les autres bactéries lactiques, représentées dans une moindre diversité d'espèces que les *Lactobacilles*, appartiennent aux genres homofermentaires *Lactococcus (L. lactis), Pediococcus et Streptococcus (St. thermophilus)* ainsi qu'aux genres hétérofermentaires *Leuconostoc (Ln. mesenteroides* et *Ln. lactis)* et *Weissella (W. viridescens)* (Brihmette et Chaoua, 2017).

Les levures isolées à partir des grains comprennent de nombreuses espèces incapables de fermenter le lactose : *Candida friedrichii, Candida inconspicua, Candida maris, Candida*

tenuis, Kazachstania exigua, Pichia fermentans, Saccharomyces cerevisiae, Saccharomyces unisporus, Torasporula delbrueckii, Yarrowia lipolytica, Zygosaccharomyces sp. Et seulement deux espèces capables de fermenter le lactose : *Kluyveromyces lactis* et *Kluyveromyces marxianus* (Brihmette et Chaoua, 2017).

Les autres 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	Grain (*)	Bactéries lactiques	Levures	Autres groupes microbiens
Ottogalli *et al.*, 1973	I	*Lactobacillus acidophilus* *Lactobacillus brevis* *Lactococcus lactis subsp. lactis* *Leuconostoc kephir*	*Kluyveromyces lactis*	Pas de bactéries acétiques
Angulo *et al.*, 1993	I	*Lactobacillus kefiri* *Lactobacillus paracasei subsp. Tolerans* *subsp. paracasei* *Lactococcus lactis subsp. lactis*	*Kluyveromyces lactis* *Torulaspora delbrueckii*	*Acetobacter sp.* *Escherichia coli*
Witthuhn *et al.*, 2004	I	*Lactobacillus delbrueckii subsp. delbrueckii*	*Zygosaccharomyces sp.*	Pas devbactéries acétiques ou propioniques
Simova *et al.*, 2002	IV	*Lactobacillus brevis* *Lactobacillus helveticus* *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* *Lactococcus lactis subsp. lactis* *Streptococcus thermophilus*	*Candida inconspicua* *Candida maris* *Kluyveromyces marxianus* *Saccharomyces cerevisiae*	Pas recherchées
Garrote *et al.*, 2001	IV	*Lactobacillus kefiri* *Lactobacillus plantarum* *Lactococcus lactis subsp. lactis*	*Saccharomyces sp.*	*Acetobacter sp.*

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

Suite Tableau II :

Références	Grain (*)	Bactéries lactiques	Levures	Autres groupes microbiens
Mainville *et al.*, 2006	VIII	*Lactobacillus kefiranofaciens* *Lactobacillus kefiri* *Lactococcus lactis* *subsp. lactis* *subsp. cremoris* *Leuconostoc mesenteroides* *subsp. cremoris*	Pas recherchées	Pas recherchés
Wang *et al.*, 2006	VIII	*Lactobacillus sp.*	Pas recherchées	*Acinetobacter sp.* *Enterobacter sp.* *Sphingobacterium sp.*
Chen *et al.*, 2008	VIII Hsinchu	*Lactobacillus kefiranofaciens* *Lactobacillus kefiri* *Lactococcus lactis* *Leuconostoc mesenteroides*	Pas recherchées	*Pseudomonas sp.*
Lin *et al.*, 1999	VIII	*Lactobacillus helveticus* *Leuconostoc mesenteroides*	*Kluyveromyces marxianus* *Pichia fermentans*	Pas recherchés
Pintado *et al.*, 1996	VIII	*Lactobacillus kefiri* *Lactococcus lactis subsp. lactis*	*Saccharomyces unisporus*	Pas de bactéries acétiques
Takizawa *et al.*, 1998	VIII	*Lactobacillus kefiranofaciens* *subsp. kefiranofaciens* *subsp. kefirgranum* *Lactobacillus kefiri* *Lactobacillus parakefiri* (**)	Pas recherchées	Pas recherchées

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

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

Comme le kéfir de lait, aujourd'hui, plusieurs études ont été publiées sur le kéfir d'eau et leurs différents groupes de levures et de bactéries (Tableau III).

Parmi les bactéries lactiques recensées, la majorité des espèces appartient :

-Au genre *Lactobacillus* : *Lactobacillus brevis, Lactobacillus hilgardii, Lactobacillus casei subsp. Casei, Lactobacillus casei subsp. Rhamnosus, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus casei subsp. Pseudoplantarum., Lactobacillus buchneri, Lactobacillus fructiovorans, Lactobacillus collinoides* (Waldherr, 2010).

-Au genre *Lactococcus : Lactococcus lactis subsp. Lactis, Lactococcus lactis subsp. Cremoris., Leuconostoc mesenteroides subsp. Dextranicum, Leuconostoc mesenteroides subsp. mesenteroides* (Waldherr, 2010).

Les autres bactéries, représentées dans une moindre diversité d'espèces que les *Lactobacilles* et les *Lactococcus : Enterobacter hormachei, Gluconobacter frateuri* (Waldherr, 2010).

Les levures isolées à partir des grains du kéfir d'eau sont : *Saccharomyces bayanus, Saccharomyces cerevisiae, Saccharomyces florentinus, Saccharomyces pretoriensis, Zygosaccharomyces florentinus, Hanseniaspora valbyensis, Hanseniaspora vinae, Kloeckera apiculata, Candida lambica, Candida valida, Hanseniaspora yalbensis* (Waldherr, 2010).

Tableau III : Composition microbienne du kéfir d'eau (Elke *et al.*, 2021).

Espèces de bactéries lactiques	Espèces de bactéries d'acide acétique	Autres espèces bactérienns	Espèces de levures	Références
Lb. casei, Lb. hilgardii, Leuconostoc (Leuc.) mesenteroides ssp. dextranicum, Lb. casei ssp. rhamnosus, Lb. plantarum, St. lactis, St. cremoris	n.d.	n.d.	*Zygosaccharomyces (Zy.) florentinus, Torulaspora pretoriensis, Kloeckra (Hanseniaspora) apiculate, Candida (C.) lambica, C. valida*	Pidoux, 1989
Lb. casei/paracasei, Lb. hilgardii, Lb. harbinensis, Lb. nagelii, Lb. hordei/mali, B. psychraerophilum/c rudilactis	*A. lovaniensis/ fabarum*	n.d.	*S. cerevisiae, D. bruxellensis*	Laureys et De Vuyst, 2014
Lb. casei, Lactococcus lactis, Lb. perolens, Lb. parafarraginis, Lb. diolivorans, Oenococcus (O.) oeni, Lb. kefiranofaciens, Lb. hilgardii, Lb.satsumensis, Lb. nagelii, O. kitaharae	n.d.	*Klebsiella pneumoniae, Enterobacter ludwigi*	Non étudié	Zanirati *et al.*, 2015
Lactobacillus, Leuconostoc, Bifidobacterium	*Gluconacet obacter, Acetobacte*	*Zymomnas*	*Dekkera anomala, Dekkera (D.) bruxcellensis, S. cerevisea, H. valbyensis, H. vineae, La. fermentati, Torulaspora, Zy. lentus, Meyerozyma caribbica*	Marsh *et al.*, 2013

n.d. : non-détecté.

Suite Tableau III:

Espèces de bactéries lactiques	Espèces de bactéries d'acide acétique	Autres espèces bactériennes	Espèces de levures	Références
Lb. perolens, *Lb. rhamnosus*	*Gluconobacter japonicus*	*Bacillus cereus*	*S. cerevisiae*, *C. ethanolica*, *D. bruxellensis*	Sarikkma *et al.*, 2015
Lb. hilgardii, *Lb. nagelii*, *Lb.satsumensis*, *Lb.harbinensis*, *L.paracasei*, *Lb.mali/hordei*, *Lb hordei*, *Lb.harbinensis*, *Oenococcus* spp., *B. aquikefir*	n.d	n.d	*S. cerevisiae*, *Z. florentina*, *D. bruxellensis*	Laureys et De Vuyst, 2017
Lb. ghanensis, *Lb. casei/paracasei*, *Lb. hilgardii*	*A. orientalis* *A. tropicalis* *A. okinawensis*	*Pseudarthrobacter chlorophenolicus*	*S. cerevisiae*, *C. californica* *P. membranifaciens*	Martinez-Torres *et al.*, 2018
Lb.paracasei, *Lb. hilgardii*, *Lb. nagelii*, *Lb. harbinensis*, *B. aquikefiri*	*G. roseus/oxydans*, *A.indonesiensis* *A.fabarum*	n.d.	*S. cerevisiae*, *D. bruxellensis*	Laureys *et al.*, 2018
Lb.hilgardii, *Lb.nagelii*, *Lb. paracasei*, *Leuc. pseudomesenteroides*, *Lb. harbinensis*, *Lb.mali/hordei*, *B. aquikefiri*	n.d.	n.d.	*S. cerevisiae*, *D. bruxellensis*	Laureys *et al.*, 2019

n.d. : non-détecté.

Du point de vue quantitatif, les grains du kéfir renferment un nombre variable de bactéries lactiques et de levures. Selon Guzel-Seydim *et al.* (2005) le dénombrement microbien des bactéries lactiques, *Lactobacilles* et *Lactocoques* des grains du kéfir étaient très similaires, avec des numérations moyennes de 9,19 - 9,05 et 8,87 log10 cfu/mL, respectivement (Figure 7). La teneur en levures des grains du kéfir 6,55 log cfu/mL était plus faible que la teneur en bactéries lactiques. Le rapport entre les bactéries lactiques par rapport à les levures était de 10^9 : 10^6.

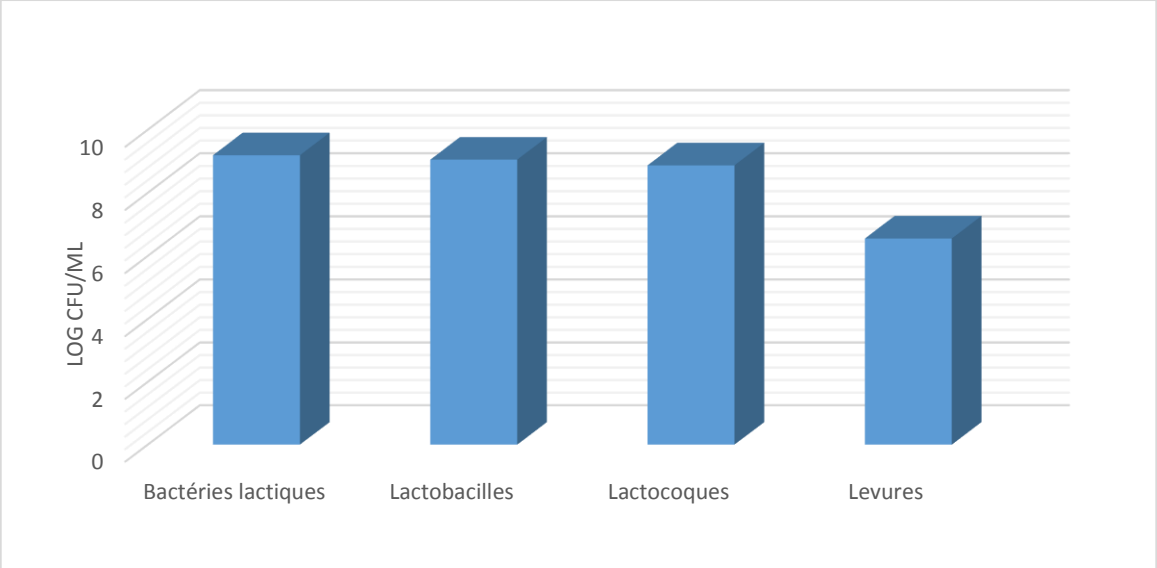

Figure 7 : Contenu microbien d'une grain du kéfir (Guzel-Seydim *et al.*, 2005).

Le microbiote des grains de kéfir se révèle a être dominante par rapport aux levures. Comparer les données publiées de différentes quantités des groupes microbiens ont montre que la population de bactérries lactiques était, en fait, prédominante, ou présent au moins en quantités égales avec les levures, dans la plupart des grains de kéfir (Veronique, 2008). La représentativité de cette population est alors variable : comprise entre 83 % et 90 % de la flore totale des grains bulgares (Simova *et al.*, 2002), la population des bactéries lactiques est 1000 fois plus élevée que celle des levures dans les grains turque (Veronique, 2008).

La flore bactérienne des grains de kéfir est le plus souvent dominé par les *Lactobacilles* (Molska *et al.*, 1980), mais peut être dominé par les coques lactiques. Dans ce cas, les coques lactiques représentent jusqu'à 65 % de la flore totale de la grain (Simova *et al.*, 2002).

La composition microbienne des grains de kéfir n'inclut pas nécessairement les espèces appartenant à chaque fermenteur de *Lactobacilles* ; certaines comprennent exclusivement des *Lactobacilles* hétérofermentaires et d'autres, un unique *Lactobacille* homofermentaire. Cependant, lorsque des spécimens de chaque type fermenteur de *Lactobacilles* à été quantifié

dans les grains, les homofermentaires sont plus abondants que les hétérofermentaires (Veronique, 2008).

Les bactéries non lactiques des grains de kéfir, considérée comme contaminants, sont rarement fait l'objet d'une approche quantitative (Angulo *et al.*, 1993), toutes espèces confondues, représentente 6,6 % à 33,3 % de la flore des grains. Parmi les bactéries non lactiques identifiées dans les grains de kéfir, figurent des bactéries acétiques, Garrote et al. (2001) ont caractérisées distinctement : leur nombre est de $2{,}5.\ 10^{5}$ - $3{,}6.\ 10^{5}$ ufc.g^{-1} de grains.

3-3- Matrice des grains de kéfir :

Le grain de kéfir est une association symbiotique entre les levures et les bactéries lactiques qui provoque une fermentation acido-alcoolique. D'une parte cette microflore des grains du kéfir de lait est intégrée dans une matrice des polysaccharides appelée kéfiran, composée par des chaînes ramifiées de glucose et de galactose, résultat du métabolisme microbien du lactose de lait (Figure 8) (Marshall *et al.*, 1984).

La matrice insoluble du grain est composée de polysaccharides ramifiés, probablement produit par les *Lactobacilles* du centre de grain. La population microbienne centrale, morphologiquement différente de celle de surface, pose des difficultés pour l'isolement des souches. Ces organismes sont étroitement liés avec le polysaccharide par leurs parois cellulaires. L'insolubilité des polysaccharides limite la diffusion des nutriments et des métabolites microbiens (Marshall et Cole, 1984).

Les microorganismes impliqués dans la synthèse du kéfiran, l'exopolysaccharide bactérien identifié dans les grains du kéfir, sont des *Lactobacilles.* Lorsqu'ils sont observés au microscope dans des extraits de grain de kéfir, les microorganismes recouverts de mucus ont une morphologie caractéristique. Parallèlement, tous les isolats de grains de kéfir pouvant produire du kéfiran en culture pure sont des *Lactobacillus*. Ceux isolés par les équipes de la Rivière et de Toba ont fait l'objet d'une identification plus précise et ont été assignés à deux taxons : *Lactobacillus brevis* et *Lb. Kefiranofaciens subsp. Kefiranofaciens* respectivement (Brihmette et Chaoua, 2017).

Sellon Ottogalliétal. (1973) cette caractéristique est attribuée à *Lb. acidophilus* soit dérivé après examen de la morphologie des cellules microbiennes identifiées dans les grains de kéfir étudiés, la production de kéfiran par ces bactéries isolées en culture pure n'a pas été démontrée. Les résultats de ces études indiquent que les *Lactobacillus* est à l'origine de la synthèse du kéfiran et que la levure stimule sa production.

L'hydrolyse des polysaccharides ne produit que du D-glucose et du D-galactose, ce polysaccharide a été trouvé uniquement dans le kéfir qui est nommé kéfiran. Le kéfiran est un polysaccharide hydrosoluble caractérisé par une gélification en présence d'alcool (Nezha, 2016).

Bien que les EPS produits par les bactéries lactiques peut affecter les propriétés rhéologiques du produit, telles que l'amélioration de la texture et de la sensation en bouche, ils peuvent également présenter des propriétés biologiques avantageuses (Oda *et al.,* 1983).

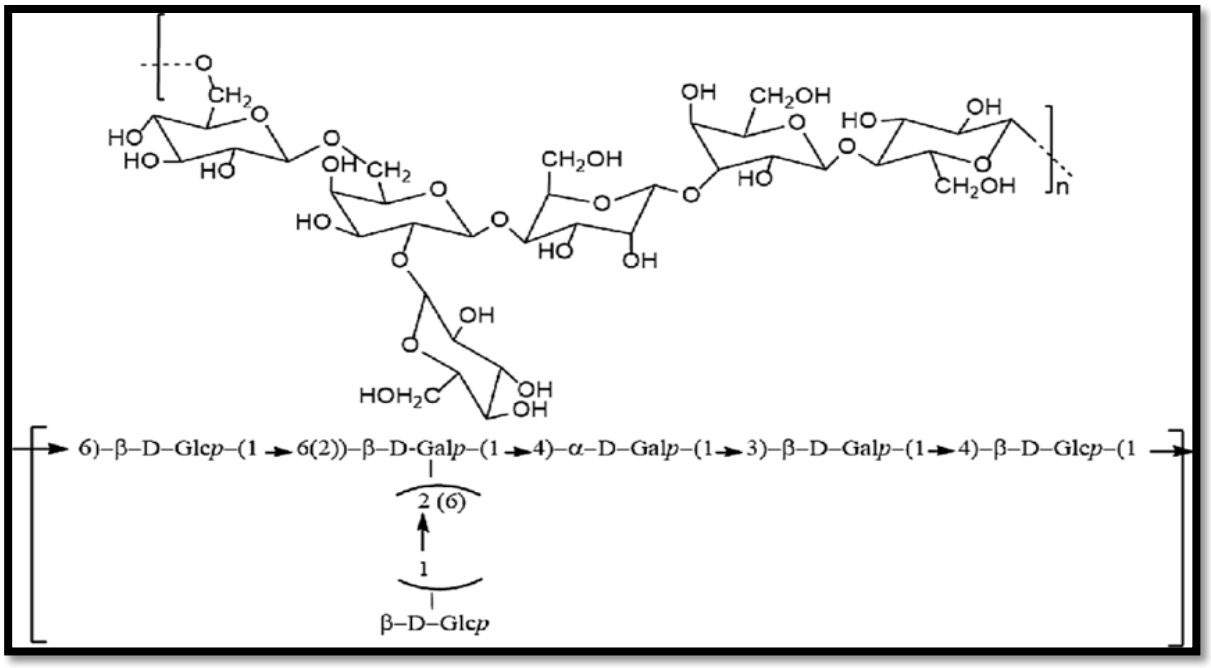

Figure 8 : Illustration de l'unité de six sucres, du D-glucose (D-G) ou du D-galactose (D-Gal), répétée dans la structure du kéfiran (Véronique, 2008).

D'autre parte, les grains de kéfir d'eau sont décrits comme étant constitués de dextran, un polymère de glucose lié en α-(1 → 6) (Galli *et al.,* 1995), contrairement aux grains de kéfir de lait qui sont constitués d'hétéropolysaccharides plus complexes, à savoir le kéfiran (Farnworth, 2005). Le dextran est produit par de nombreuses espèces des bactéries lactiques communément associées aux grains de kéfir d'eau, la majorité (environ 81%) des membres des espèces *Lb. hilgardii, Lb. nagelii, Lb. hordei, Leuc. mesenteroides* et *Leuc. citreum* produisant de l'EPS (Waldherr *et al.,* 2010).

L'EPS est produit de maniére extracellulaire à partir du saccharose par l'action d'une enzyme sécrétoire appelée glycanesucrase (Lynch *et al.,* 2018). Ces glycanesucrases peuvent être libérées librement dans l'environnement (ex. glucanesucrasse soluble) ou rester liées à la cellule (glucanesucrase liée) (Coté *et al.,* 2013). La production de dextran peut être une adaptation de niche à l'environnement riche en saccharose caractéristique du kéfir d'eau. Xu *et al.* (2019) ont montré qu'un isolat de *L. hordei* de kéfir d'eau code pour un système de phosphotransférase et une glycosyltransférase extracellulaire (dextranase) spécifique du saccharose. Les bactéries lactiques sont connus pour produire différents types de glucanes,

variant en ce qui concerne des caractéristiques telles que la conformation de la liaison glycosidique, le pourcentage des différentes liaisons présentes (par exemple α-(1 → 6), α-(1 → 3)) et la présence ou l'absence et l'emplacement dépendent de la branche (Van Hijum *et al.*, 2006).

Dans le contexte du kéfir d'eau, la solubilité du dextran dans l'eau est importante et il va de soi que le dextran insoluble est le principal composant formant la structure sur laquelle réside le biofilm des levures et des bactéries. *Lb. hilgardii* est généralement considéré comme le principal producteur des polysaccharides granulaires (insolubles) dans les grains de kéfir d'eau, certains isolates produisant plus d'une enzyme glucansrase (Coté *et al.,* 2013) et d'autres produisant plus d'un type de dextran (Pidoux *et al.,* 1988).

Des polysaccharides non gélifiés (solubles) et gélifiés (insolubles) ont été isolés à partir des souches *Lb. hilgardii* (classées à l'origine comme *Lb. brevis*) avec différentes caractéristiques structurelles. Il a été constaté que les polysaccharides non gélifiés ont un rapport élevé de liaisons α-(1 → 6); les polysaccharides gélifiants sont plus similaires aux polysaccharides présents dans les grains de kéfir isolés. Il a été suggéré que les conditions de culture et les composants du milieu ou le micro-environnement des grains de kéfir peuvent affecter l'activité de la dextransucrase et donc les propriétés du glucane produit. De tels effets de niche ne sont pas présents en culture pure des souches peuvent avoir des effets différents sur l'activité de la dextransucrase et les propriétés ou les proportions de glucanes formés (le rapport des solubles aux insolubles) (Pidoux *et al.,* 1988).

Selon Coté *et al.* (2013) ont décrit une souche de *L. satsumensis* produisant deux α-glucane à partir du saccharose. L'un était un dextran hydrosoluble, constitué principalement par des unités de glucose α-(1 → 6) liées, et l'autre un glucane insoluble dans l'eau contenant à la fois des unités α-(1 → 6) liées et α-(1 → 3) liées. Le milieu de culture contenait au moins deux enzymes glucansrases différentes variant en poids moléculaire.

Ces divers dextrans ont probablement des fonctions différentes. De manière quelque peu contre-intuitive, il a été démontré que c'est le dextran soluble, plutôt que le polymére insoluble, qui médie l'agrégation des levures est tout aussi important dans la formation des biofilms, ont constaté que l'agrégation de la levure *S. cerevisiae* est affectée par le dextran soluble produit par *L. hordei,* mais pas par le dextran insoluble produit par *Lb. hilgardii*; ceci malgré le fait que cette derniére espéce soit considérée comme un producteur primaire de polysaccharide granulaire (insoluble) dans le grain du kéfir (Pidoux *et al.,* 1988 ; Waldherr *et al.,* 2010).

En effet, des espèces de bactéries lactiques hétérofermentées ont été trouvées dans le kéfir d'eau pouvant produire du mannitol (Laureys et De Vuyst, 2014). Le mannitol à un goût sucré, ce qui pourrait être souhaitable dans le kéfir d'eau, cependant sa formation s'accompagne d'une production d'acétate qui peuvent masquer tout bénéfice sucré (Vrancken *et al.,* 2010). Le mannitol peut également être produit par *S. cerevisiae* et peut agir comme une source de carbone supplémentaire dans le grain du kéfir, il a été démontré que *Lb. hordei* à la capacité d'utiliser le mannitol et le gluconate comme seules sources de carbone, le levan, un polymére du fructose,

a également été détecté dans les boissons ou kéfir d'eau, bien que à des faibles niveaux (Xu *et al.*, 2019).

Certaines bactéries lactiques producteurs d'EPS ont la capacité de produire des fructans à partir du saccharose via un mécanisme similaire à la production de dextran, mais il n'existe aucune description antérieure des bactéries lactiques productrices des fructanes dans le contexte du kéfir d'eau. Néanmoins, la production de fructanes par des membres plus petits du consortium (comprenant éventuellement d'autres espèces des bactéries lactiques) ne peut être exclue. En effet, il a été démontré que certaines bactéries acétiques, telles que les isolats de *Gluconobacter frateruri*i du kéfir d'eau, produisent de grandes quantités de fructanes (Jakob *et al.*, 2013).

3-4- Formation des grains de kéfir :

Le mécanisme de formation des grains de kéfir est encore inconnu. Les grains n'ont jamais été constitués in vitro à partir de cultures microbiennes. Jusqu'à présent, le grain a été reproduit par fragmentation (Koroleva, 1988). Naturellement ou mécaniquement, un fragment d'un granulé existant se décompose et redevient un granulé plus petit.

Dans la nature, il est courant que des bactéries se développent sur des films qui flottent à la surface d'un liquide ou adhèrent à une interface solide. Dans ces structures, les bactéries sont assemblées en matrice à partir des polymères qu'elles synthétisent. La matrice des biofilms est composée d'éléments communs, dont notamment des exopolysaccharides. Ces EPS bactériens ne sont généralement pas utilisées comme source d'énergie par les microorganismes qui les produisent. La plupart d'entre eux sont incapables de cataboliser les polymères qu'ils synthétisent. Au contraire, l'EPS aura la fonction écologique des facteurs de stress environnementaux et de protection du biofilm, ils jouent un rôle majeur dans la fixation des bactéries à la surface qui forme des colonies (Lasa, 2006).

Chapitre II
Fabrication du Kéfir

Chapitre II : Fabrication du kéfir

1- Fabrication du kéfir de lait :

1-1- Lait : substrat de fermentation

1-1-1- Définition :

Le lait était défini en 1908 au cours du congrès international de la répression des fraudes à Genève comme était « Le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Le lait doit être collecté proprement et ne doit pas contenir du colostrum » (Alais, 1975).

Le lait est une sécrétion mammaire normale d'animaux, obtenue à partir d'une ou de plusieurs traites, destinées à la consommation comme un lait liquide ou après avoir subir une transformation ultérieure (FAO/OMS, 2000). C'est un liquide blanc et opaque, d'une saveur douce, constituant un aliment complet et équilibré, d'une réaction ionique (pH) voisin de la neutralité (Alais, 1984).

1-1-2- Composition du lait :

La composition générale du lait dépend de nombreux facteurs : la race, l'alimentation, la période de lactation et l'état de santé de l'animal (Jaouen, 1986). Le lait est très riche en eau, riche en lactose, en protéines, en matière grasse, et en élément minéraux et d'autres substances, présentes dans le lait à faibles concentration. La composition du lait est mentionnée sur le Tableau IV.

- **Eau :**

C'est le composé le plus abondant, il se trouve sous deux états :

- L'eau extra micellaire représente environ 90% de l'eau totale.
- L'eau intra micellaire représente environ 10 % de l'eau totale (Luquet, 1986).

- **Matière grasse :**

La matière grasse dont la quantité varie en fonction des conditions d'élevage, est présentés dans le lait sous forme de globules gras, de 1 à 8µm de diamètre, émulsionnés dans la phase aqueuse. Le taux en matière grasse est variable en fonction de l'origine de lait (environ 10 milliards de globules par millilitre de lait) (Brule, 1987), et essentiellement constitué de triglycéride 98% (Ramparany, 2008).

- **Matière azotée :**

Les substances azotées du lait comprennent deux groupes : les protéines et les substances non protéiques qui constituent respectivement 95 % et 5 % du lactate d'azote (Brule, 1987), Les protéines sont constituées de caséines rassemblées en micelles (80%) et des albumines et globulines solubles (protéines sérique) (Ramparany, 2008).

Tableau IV : Composition moyenne du lait entier (Fredot, 2006).

Composants	**Teneurs (g/100g)**
Eau	**89.5**
Dérivés azotés	**3.44**
Protéines	3.27
Caséine	2.71
Protéines solubles	0.56
Azote non protéique	0.17
Matières grasses	**3.5**
Lipides neutres	3.4
Lipides complexes	<0.05
Composés liposolubles	<0.05
Glucides	**4.8**
Lactose	4.7
Gaz dissous	**5٪ du volume du lait**
Extrait sec totale	**12.8**

- **Vitamines :**

Ce sont des molécules complexes de taille plus faible que les protéines, de structure très variées ayant un rapport étroit avec les enzymes, car elles jouent un rôle de coenzyme associée à une apoenzyme protéique. Les vitamines se divisent en deux grandes catégories principales :
-Les vitamines hydrosolubles issus de la phase aqueuse du lait (vitamines du groupe B et vitamine C).
-Les vitamines liposolubles (vitamines A, D et K) associées à la matière grasse, certaines sont au centre du globule gras et d'autres à sa périphérie (Ramparany, 2008).

- **Minéraux :**

Le lait contient une quantité importante de divers minéraux. Les minéraux les plus importants sont le calcium, le magnésium, le sodium et le potassium pour les cations et les phosphates, les chlorures et les citrates pour les anions. Ils représentent des quantités qui varient entre 0,6 % et 0,9 % (Ramparany, 2008).

- **Lactose :**

Le lait contient des glucides essentiellement représentés par le lactose. Sa molécule $C_{12}H_{22}O_{11}$, est constituée d'un résidu de galactose uni à un résidu de glucose (Mathieu, 1998). Bien que le lactose soit un sucre, il n'a pas une saveur douce. Sa concentration dans le lait ne varie que légèrement (4,8 - 5,2 g/100g). Contrairement à la concentration de matière grasse dans le lait, celle du lactose ne peut pas être modifiée facilement par l'alimentation (Brule, 1987).

➢ **Enzymes :**

Les enzymes sont des protéines globulaires spécifiques produites par des cellules vivantes. Ce sont des biocatalyseurs car ils accélèrent les réactions biochimiques. Le lait contient principalement trois groupes d'enzymes : les hydrolases, les déshydrogénases et les oxygénases. Les deux principaux facteurs qui influent sur l'activité enzymatique sont le pH et la température (Vignola, 2002).

1-1-3- Fermentation :

Le lait est une denrée très périssable du fait qu'il est un excellent milieu nutritif des souches microbiennes. Ainsi, divers techniques et procédés permettent de prolonger la durée de conservation du lait.

Le lait peut être conservé selon 2 façons (Figure 9) : conservation totale et conservation partielle.

La conservation totale vise à conserver le lait dans son ensemble, mais la conservation partielle, une partie seulement des composants du lait est conservée. Les principales techniques de conservation et de transformation du lait sont résumées dans la figure suivante (Ramparany, 2008).

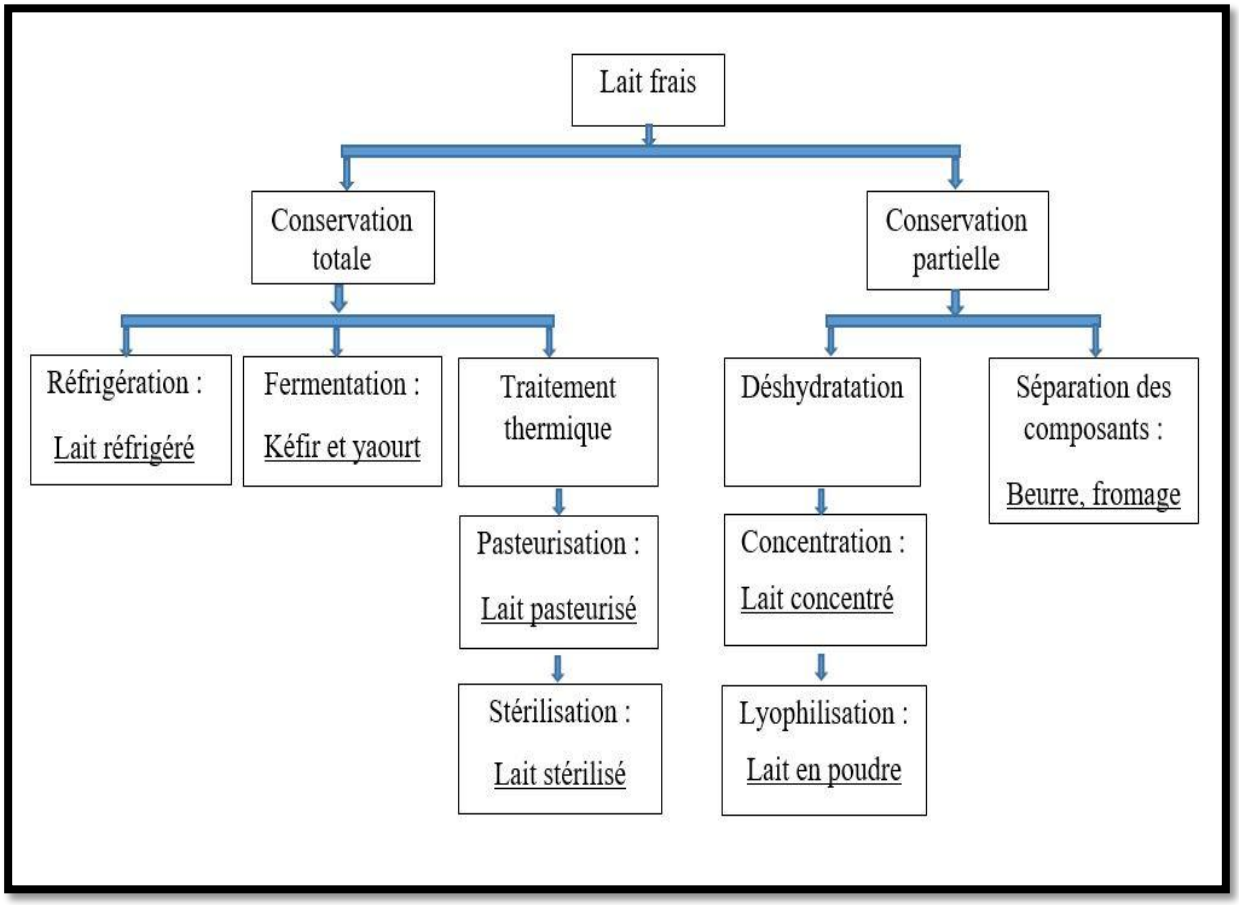

Figure 9 : Techniques de conservation et de transformation du lait (Ramparany, 2008).

Selon des preuves archéologiques, la fermentation est utilisée dans les aliments depuis des milliers d'années. Parfois, la fermentation commence à être utilisée pour prolonger la durée de conservation. Aujourd'hui, cette technique est largement utilisée dans les légumes, les fruits, les céréales, la viande et le lait, et les produits fermentés sont consommés dans le monde entier (Farnworth, 2005).

La fermentation est la transformation de substances et résidus organique sous l'action des ferments. Ces ferments ou agents de fermentation sont des groupes de microorganismes travaillant en symbiose. La fermentation est divisée en plusieurs catégories en fonction du produit final dominant.

Les produits laitiers fermentés sont très appréciés pour facilité la conservation car le pH acide du milieu inhibe les microorganismes d'altération et la plupart des microorganismes pathogènes (Vignola, 2002). Ils sont obtenus par la multiplication de bactéries lactiques dans une proportion de lait. L'acide lactique qui est produit à partir du lactose contenu dans le lait permet la coagulation du lait et confère une saveur acide aux produits. Les caractéristiques propres des différents laits fermentés sont dues à la variation particulaire de certains facteurs, tels que la composition du lait, la température d'incubation ou les ferments utilisés (Luquet et Corrieu, 2005).

2- Méthodes de production du kéfir de lait :

La production de kéfir est très particulière et difficile en raison de la complexité de la composition microbiologique du levain due à l'utilisation de grains du kéfir. La stabilité des conditions de culture des grains, le type, la qualité et le traitement du lait, la quantité de levain, la température et la durée de fermentation et l'équipement mécanique pour la manipulation du caillé sont des points importants de la production qui doivent être constamment surveillés (Lipatov, 1978).

Plusieurs systèmes peuvent être utilisés pour fabriquer le kéfir tout partageant le même principe. Les scientifiques font actuellement des recherches pour développer les dernières techniques de production de kéfir avec les mêmes propriétés que le kéfir traditionnel. À l'origine, les boissons au kéfir peuvent être fabriquées à partir de lait entier, semi-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). Un lait entier donnera un kéfir plus épais et onctueux qu'un lait écrémé (Lacrosse, 1981). Son odeur et sa flaveur seront plus crémeuses et plus douces, moins acides.

2-1- Production traditionnelle :

Traditionnellement, le lait est fermenté à partir de grains du kéfir (Figure 10). Pour la production domestique, le lait est d'abord bouilli puis refroidi à 25 °C. La quantité des grains ajoutée au lait et le temps d'incubation seront ajustés en fonction de la température ambiante et de produit final souhaité ; plus ou moins acide, mousseux et visqueux. Avec cette méthode, la quantité d'ensemencement varie entre 2% et 10%, incubation pendant 18 à 24 heures à une température de 20 °C à 25 °C (Tamime *et al.*, 2001). Les grains de kéfir sont ensuite séparés du lait fermenté à travers un tamis. Après rinçage à l'eau, il peut être réutilisé pour d'autres ensemencements.

Le lait fermenté peut ensuite subir une maturation destinée à favoriser le développement et l'activité des levures et des bactéries (Rarrray et O'Connell, 2011). Le produit final sera alors plus alcoolisé et pétillant et aura un goût de levurs plus prononcé. Dans cette optique, le lait est transvasé dans un récipient hermétique et incubé en cuve (8 °C à 10 °C). La durée d'incubation dépend du degré de maturation souhaité. Elle est de minimum 8 à 10 heures et peut durer jusqu'à 24h, 36h et même 48 heures (Tamime *et al.*, 2001). Ensuite, il est refroidi à des températures de réfrigération et alors prêt à être consommé.

Une fermentation de courte durée permet d'obtenir un kéfir au goût plus doux et plus sucré, tandis qu'une longue fermentation produit une boisson acide. La durée de conservation du kéfir traditionnel est très courte, généralement moins de 3 jours, mais s'il est conservé dans des bouteilles en verre, la boisson peut être conservée pendant 8 à 10 jours à une température de stockage de 4 °C (Koroleva, 1988).

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

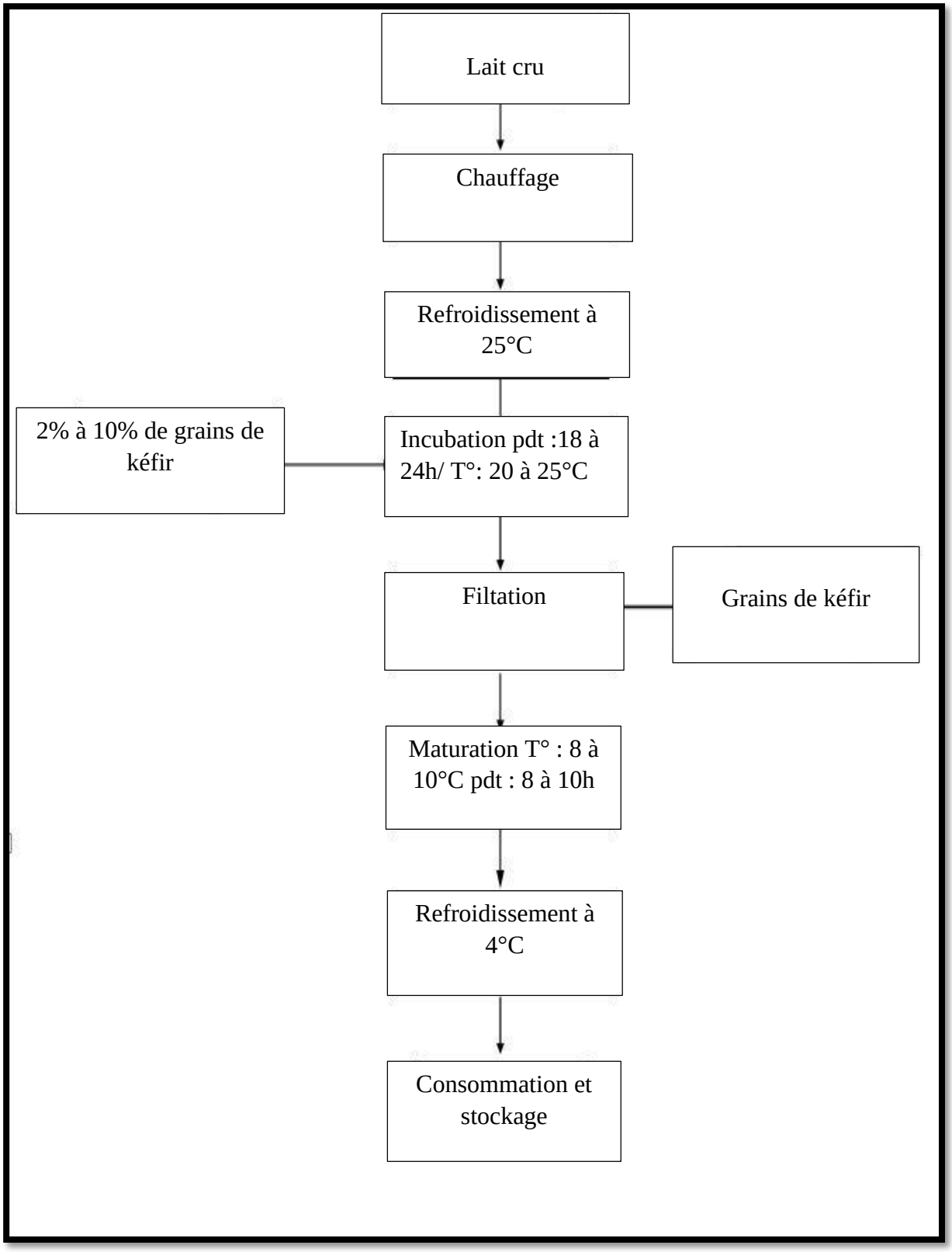

Figure 10 : Diagramme de fabrication du kéfir traditionnelle (Tamime *et al.*, 2001).

2-2- Fabrication industrielle :

Diverses méthodes peuvent être utilisées pour la production industrielle du kéfir, mais elles reposent toutes sur le même principe. Connue sous le nom de "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).

- **Production des grains de kéfir et des cultures starter :**

Dans la nature, il est courant que des bactéries se développent sur des films qui flottent à la surface d'un liquide ou adhérent à une interface solide. Les grains de kéfir sont généralement fournis en portions de 50 g. La reproduction des grains de kéfir se fait quotidiennement dans du lait écrémé, qui est chauffée à 95 °C pendant 30 minutes, refroidie à 18 - 20 °C, inoculé avec des grains, incubée pendant 20 à 24 heures et mûri à 10 - 12 °C pendant 7 à 8 heures pour favorise la croissance des levures. Les grains tamisés avec un tamis stérile et le "lavage" de kéfir (c'est-à-dire les grains de kéfir ou le produit fermenté sans culture de départ mère) est inoculé dans du lait de vache fraîchement préparé à un taux de 1 - 3 mL pour la production du kéfir agité à faible volume ou pour la production à grand volume, il est utilisé à un taux de 3 - 5 mL, qui est normalisée (100 mL^{-1}) pour préparer la culture starter en vrac (la première fermentation). Cependant, la densité apparente du grain augmente avec chaque culture dans le lait, de sorte que les grains moins actifs sont retirés et jetés une ou deux fois par semaine (Tamine *et al.*, 2006).

Pour obtenir un kéfir de bonne qualité et constant, un rapport standard entre les grains de kéfir et de lait doit être maintenu. L'utilisation des pourcentages élevés de grain (par exemple 1 - 20 g L^{-1}) accélèrent le taux d'acidification (Koroleva, 1988), mais la culture starter contient un nombre relativement faible de *Lactococcus*, *Leuconostoc spp.* et de levures, les bactéries lactiques sont abondantes et perdent leur activité très rapidement (Garrote *et al.*, 1998). D'autres proportions de grains du kéfir par rapport au lait ont été utilisés pour fabriquer le kéfir : 20 - 50 g L^{-1} (Marshall et cole, 1985) ; 20 - 100 g L^{-1} (Koroleva, 1988) ; et 50 - 100 g L^{-1} (Marshall *et al.*, 1984), mais un faible taux d'ajout des grains de kéfir est recommandé pendant la production du kéfir.

Actuellement, la plupart des fabricants de kéfir utilisent une culture de démarrage lyophilisée (c'est-à-dire le mélange original de grains du kéfir à base de microflore, en prenant soin d'utiliser des souches de levure qui produisent moins de CO2 (Tableau V)). Seules quelques laiteries multiplient encore les grains de kéfir pour les utiliser comme culture de démarrage (Ramparany, 2008).

Tableau V : Différence entre poudre lyophilisée et grains de kéfir de lait (De Roissart et Luqet, 1994).

Paramètres	**Grains du kéfir**	**Poudre lyophilisée**
Définition	- Petites masses des bactéries, des levures, des polysaccharides dans une matrice de protéine, gélatineuse et ferme.	- Culture d'amorçage. - Poudre du kéfir stable et lyophilisée. - Mélange des bactéries et levures capables de fermenter le lait.
Aspect	- Blanches ou jaunâtres. - Forme irrégulière. - Inflorescence de chou-fleur. - Diamètre : 1 à 6 mm. - Structure soit en feuillet soit globuleuse.	-Poudre de 4g conditionné dans un flacon.
Composition biochimique	- 13% de complexe de protéine. - 46% de débris cellulaire. - 24% de polysaccharide. - 17% indéterminés.	-
Composition micro-biologique	-Bactéries *: Lb brevis ; Lb kefir ; Lb kefiranofaciens ; Lc lactis ; Ln spp.* -Levures : *Kefir candida ; Klyveromyces marxianus ; Saccharomyces cerevisiae.*	-Bactéries : *Lb bulgaricus caucasius ; Lb casei ; Streptococcus lactis ; Streptococcus diacetilactis ; Ln citrovorum.* -Levures : *Saccharomyces kefir.*
Produit fini	-Vrai kéfir.	- Pseudo-kéfir.
Avantages	-Possède toutes les propriétés préventives et curatives du kéfir : Antitumorale, antibactérienne, antifungienne. - Souche très résistante même sans apport nutritionnel. - Contient le kéfiran : polysaccharide uniquement trouvé dans le kéfir supposé être l'ingrédient actif du kéfir.	- Possibilité d'une production industrielle. - Disponible sur le marché.
Inconvénients	-Production à l'échelle domestique sauf en Union Soviétique. -N'existe pas sur le marché ; on ne peut l'avoir que chez un particulier qui peut partager les grains. - Fabrication des grains trop faible. -Développement des grains reste encore une énigme.	-Dégénérescence des souches au bout de 15 à 20 repiquages. -Plus chère.

Les étapes de fabrication du kéfir industrielle fixe sont illustrées à la Figure 11 :

- **Standardisation et homogénéisation du lait :**

La teneur en matière grasse du lait est normalisée (100 g^{-1}) à 0,1-3,3 en Russie ou à 1,5-2,0 ou 3,1 en Pologne (Tamime *et al.*, 2006). Cependant, le kéfir le plus populaire contient 1,5 g de matières grasses pour 100 g de $lait^{-1}$ (Koroleva, 1991). Une pression élevée et le préchauffage du lait à la température d'homogénéisation (par exemple 150 bar à 70 °C) assurent la bonne texture du produit.

- **Traitement thermique du lait :**

Deux sortes de traitement thermique : à 90 - 95 °C pendant un temps qui varie de 2 à 30 mn et à 85 - 87 °C pour 5 mn à 1 h. Il est d'une importance considérable pour la qualité du produit. Il vise à la dénaturation complète des albumines et des globulines du lait, nécessaire pour que la viscosité et la texture soient convenables. Le traitement thermique réalisé à une température élevée pour une période prolongée, permet une rétention aqueuse importante qui réduit la synérèse et augmente la viscosité. Parallèlement, il tue la plupart des microorganismes et facilite l'utilisation des protéines du lait par la microflore (Athéna et Anifantakis, 1988).

- **Refroidissement du lait – Incubation :**

Le lait refroidie à 19°C en été ou à 22°C en hiver et inoculé avec la culture starter à un taux de 3 - 4 mL 100 mL^{-1} en utilisant une culture starter en vrac. Après l'incubation, le kéfir peut se produire par deux méthodes selon le type de kéfir :

Pour le kéfir de type set, le lait inoculé est conditionné dans des bouteilles en verre ou dans des récipients semi-rigides, fermenté pendant 10 - 12 h à 19 - 22°C (jusqu'à une pH situé entre 4,5 à 4,6), Ensuite, le produit est pompé doucement en évitant tout dommage au caillé et placé dans une chambre froide pour sa maturation à des températures 9°C, pendant 1 - 3 jours . A la sortie du froid, le pH doit être égal à 4,3 - 4,4.

Cependant, le kéfir de types brassé est fermenté en cuve pendant la même durée que celle utilisée pour la fabrication du kéfir set, mais le fermentât est refroidi à 15°C, conditionné et mûri à 9°C pendant 15 heures (Tamime *et al.*, 2006).

- **Refroidissement et stockage :**

Ensuite, les deux types de kéfir sont refroidis lentement à 6°C et stocké pour empêcher un abaissement supplémentaire de pH. Il faut éviter l'incorporation d'air dans le caillé, qui augmenterait le risque de stratification du produit, avant d'être expédié pour la distribution et la vente au détail (Tamime *et al.*, 2006).

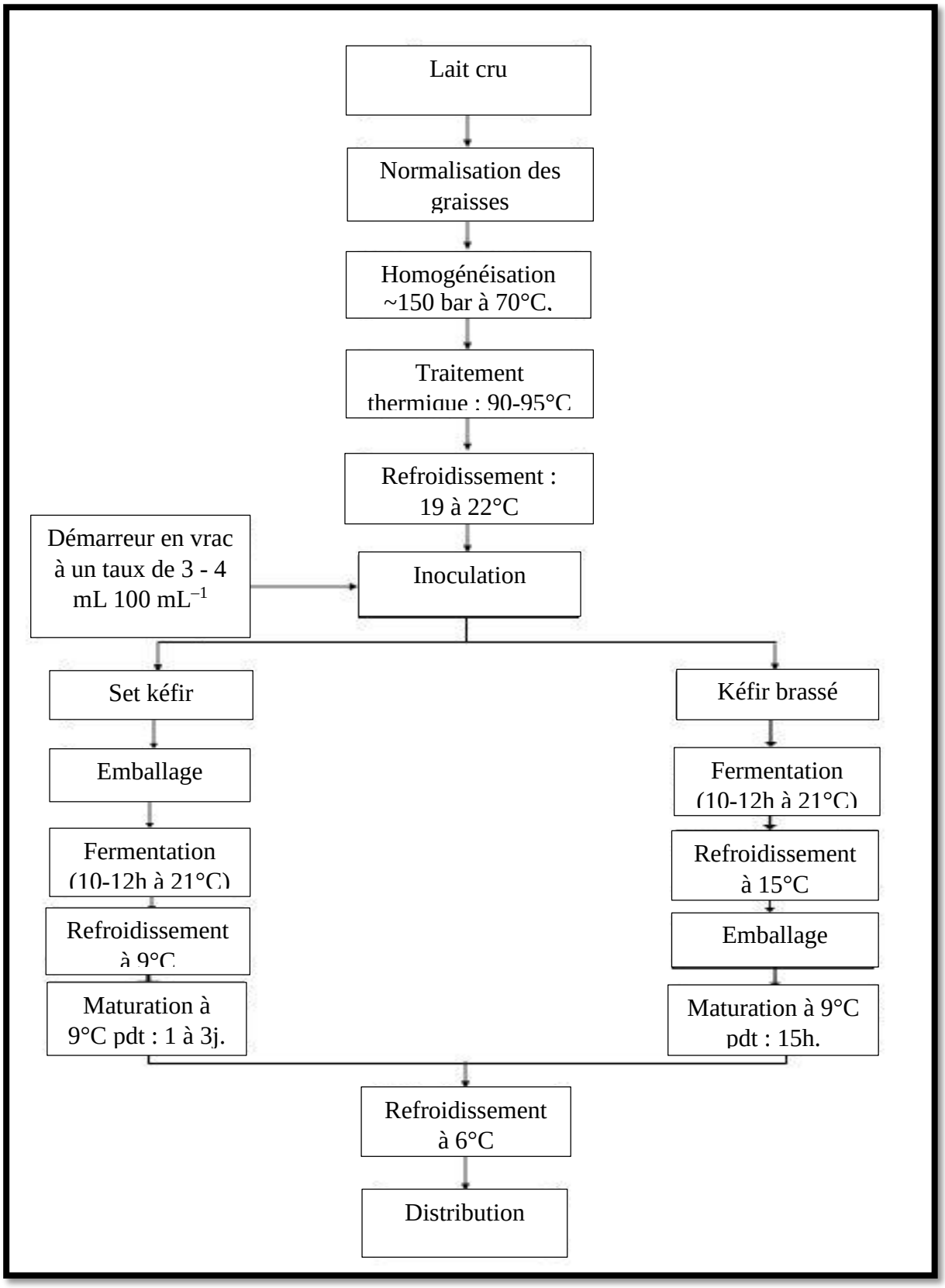

Figure 11 : Diagramme de la production industrielle de kéfir en utilisant le fermentât comme culture de départ (Tamime *et al.*, 2006) .

Une autre méthode pour la production du kéfir avec l'application des cultures commerciales « Culture lyophilisée », qui sont directement inoculées dans le lait. Les étapes de fabrication sont similaires à celles présentées dans la Figure 11, avec les différences suivantes :

- **Set kéfir :** Le lait inoculé, emballé et fermenté jusqu'à un pH de 4,6 - 4,7, refroidi a une température a moins de 10°C et mûri pendant 15 - 20 h.

- **Kéfir brassé :** Le fermentât est refroidi à 15 - 20°C (c'est-à-dire à une température plus élevée), emballé, puis refroidi lentement à une température < 10°C, et mûri pendant 15 - 20 h. En fermant le kéfir, lorsqu'il est chaud : le sceau de l'emballage s'affaisse et lorsque le CO_2 est libéré pendant la phase de maturation, le sceau reprend sa forme d'origine plutôt que de faire éclater le contenant (Tamine *et al.*, 2006).

Certains consommateurs trouvent que le kéfir trop acide pour être consommé seul et préfèrent d'ajouter des arômes et des édulcorants, tandis que d'autres consommateurs préfèrent de mélanger des fruits congelés avec du kéfir pour faire des smoothie. Le kéfir est généralement vendu avec différentes variétés de fruits et d'arômes déjà ajoutés (Figure 12). Pour cela les industrielles utilisent les même étapes pour produire le kéfir avec la différence suivant (Singh et Shah, 2017) :

- **Set kéfir** : Selon la demande et le choix de consommateur, des arômes, fruits ou colorants sont ajoutés au kéfir puis remplir dans des emballages et incuber dans des chambres d'incubation jusqu'à un pH de 4,5 - 4,6 puis refroidi à 20 °C. Donc il est possible de produire un kéfir qui a une saveur acceptable et de très bonnes qualités de conservation.

- **Kéfir brassé** : Le kéfir incubé en cuve à vrac pendant 10 - 16 h pour diminuait le pH jusqu'à 4,5 - 4,6, puis agiter le coagulum pour obtenir une consistance lisse, ajouter des arômes /fruit/ colorant, refroidi à 20 °C et remplir dans des emballages de vente en détail.

A la fin de fabrication, le kéfir stocké dans des chambres froide à une température de 4 à 6 °C. Le kéfir fabriqué de cette manière peut avoir une durée de conservation allant jusqu'à 28 jours par rapport au kéfir fabriqué à partir de grains de kéfir avec une durée de conservation de 3 à 12 jours. Cependant, ce type de kéfir peut ne pas avoir les mêmes propriétés thérapeutiques et probiotiques car il ne possède pas la diversité microbienne du kéfir fabriqué à partir des grains (Singh et Shah, 2017).

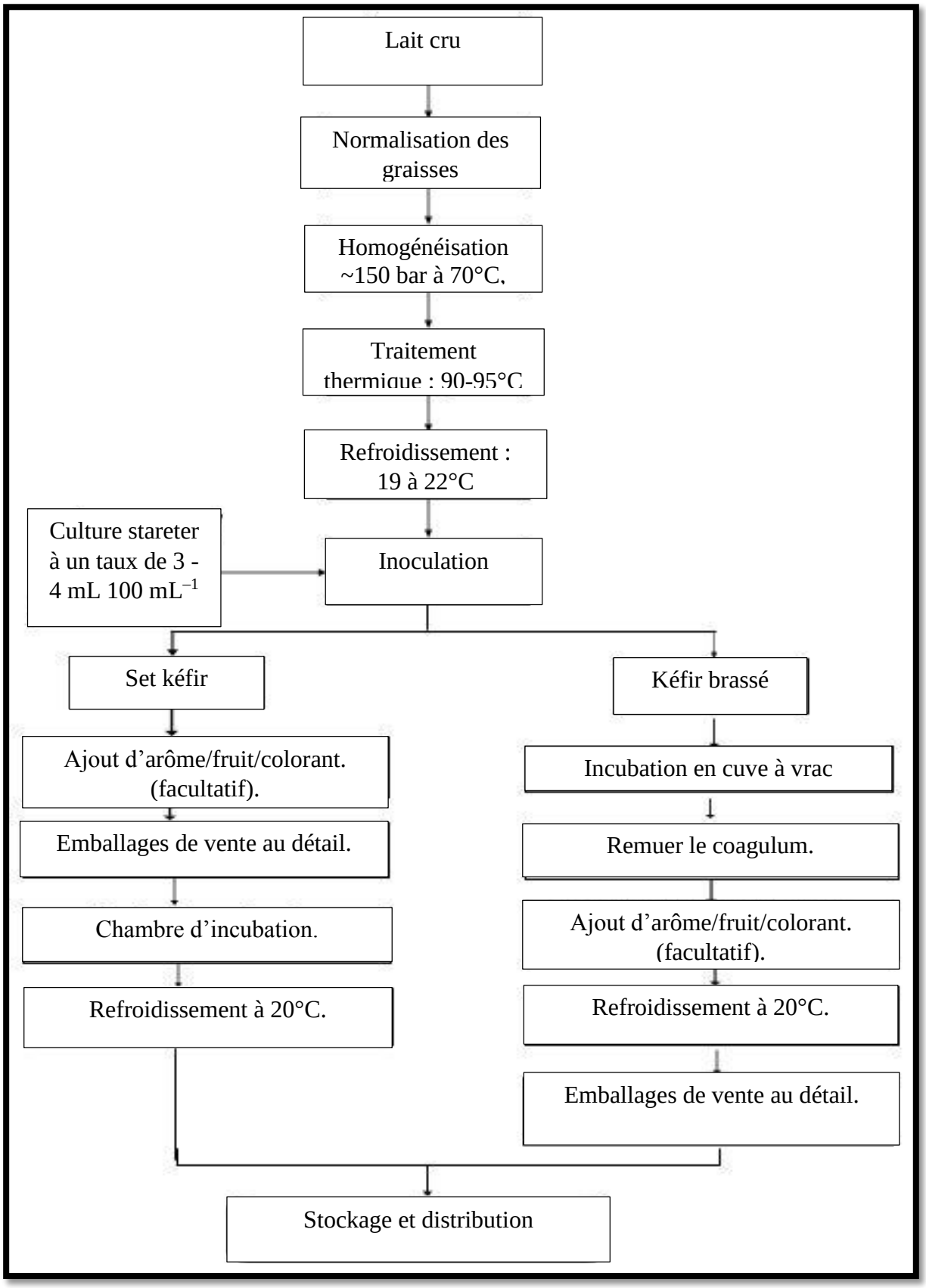

Figure 12 : Diagramme de la production de kéfir à l'aide de cultures commerciales (Singh et Shah, 2017).

Selon Marshall et Cole (1985) ont étudié la saveur caractéristique, l'arôme et l'apparence du kéfir fabriqué à partir du lait fermenté en utilisant des grains de kéfir avec d'autres ferments producteurs d'arômes. Les bactéries productrices d'arômes étaient *Leuconostoc cremoris* et *Streptococcus diacetilactis* qui sont couramment utilisés pour la fabrication du babeurre, et *S. thermophilus* et *L. hulgaricus* qui sont utilisés pour fabriquer du yaourt.

Une étude de Marshall et Cole (1985) a examiné deux méthodes de fermentation, la première qui consistant à retirer les grains suivie par une seconde fermentation du kéfir avec les organismes producteurs d'arômes en vue d'une utilisation comme starter pour fermenter un autre échantillon de lait traité thermiquement. Les produits ont été évalués par un panel de dégustation et marqués pour leur acceptabilité. L'ajout de cultures lactiques ou de yaourts à permis d'obtenir des produits présentant des notes moyens plus élevés pour les arômes et des saveurs plus acceptables (Figure 13).

- **Première fermentation** :

Le lait a été chauffé à 90 °C pendant 30 minutes dans un bain-marie, agité puis refroidi à une température ambiante et 5 % (p/v) des grains de kéfir a été ajoutés au caillé. Après 18 h d'incubation à 22 °C, les grains ont été éliminés par filtrage à travers une toile à fromage et le kéfir sans grains obtenu a été mis en bouteille. Le kéfir sans grains obtenu subi une seconde fermentation comme suit :

- **Seconde fermentation** :

Méthode I : Le kéfir sans grain a été divisé en trois portions égales, qui ont ensuite été incubées :

a- Sans ajouts supplémentaires à 25 °C pendant 18 h (Kéfir).

b- Un inoculum de 2% de culture lactique combinée à 25 °C pendant 18 h (Babeurre kéfir)

c- Un inoculum de 0,5 % de culture de yaourt combinée à 37 °C pendant 18 heures (Kéfir de yaourt).

Méthode II : En utilisant le kéfir sans grain comme inoculum, 5 % ont été ajoutés à chacune des trois cultures. Les portions de lait préalablement chauffées à 90 °C pendant 30 minutes. Ces portions ont ensuite été incubées avec :

a- Aucun ajout à 25 °C pendant 18 heures (Kéfir).

b- Un inoculum de 2 % de culture lactique combinée à 25 °C pendant 18 heures (Babeurre kéfir)

c- Un inoculum de 0,5 % de culture de yaourt combinée à 37 °C pendant 18 heures (Kéfir de yaourt)

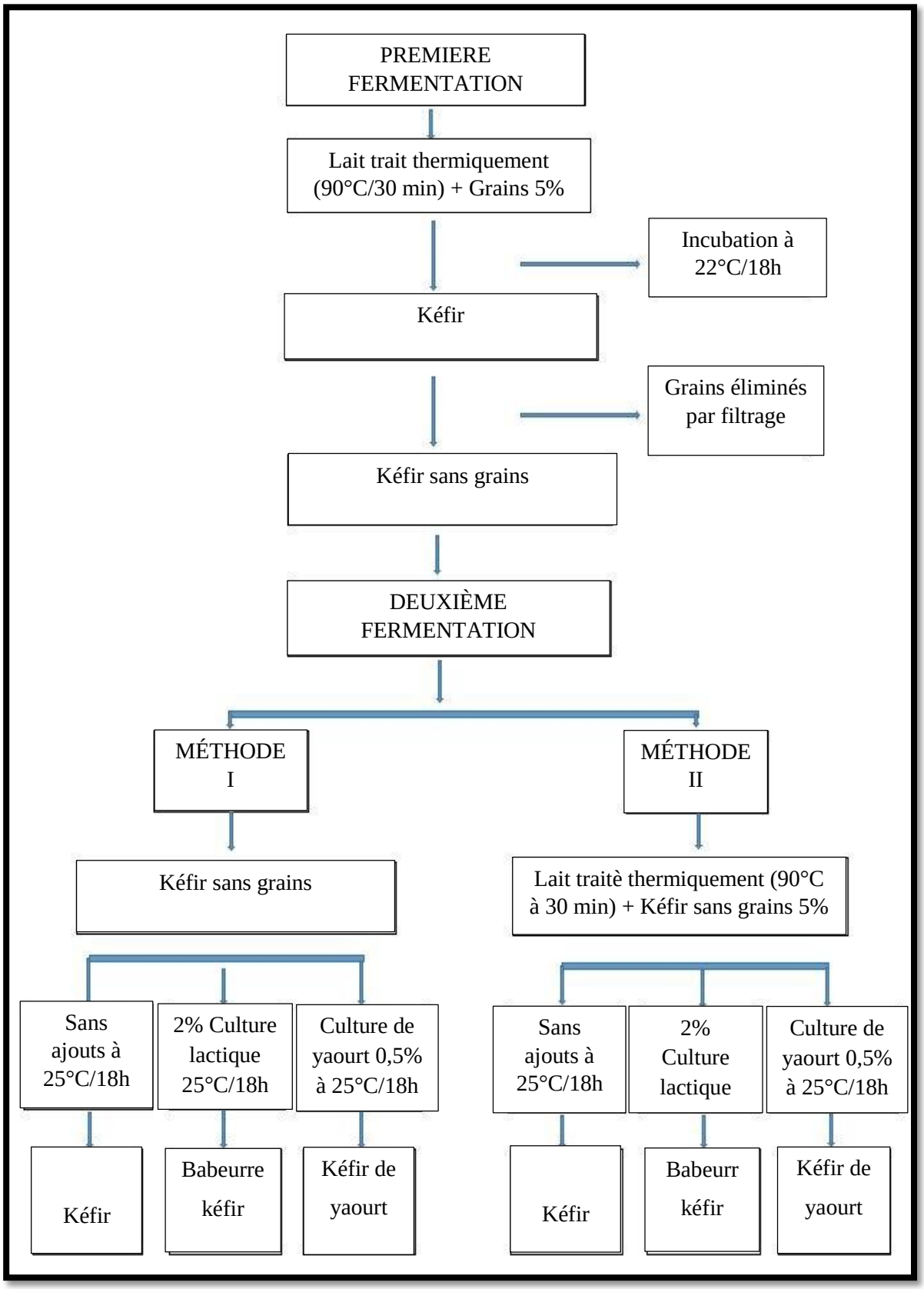

Figure 13 : Production de kéfir à l'aide de différentes méthodes pour une seconde fermentation (Marshall et Cole, 1985).

2-3- Caractéristiques du kéfir de lait :

Les caractéristiques du kéfir changent selon les grains de kéfir, le contenu microbien, la composition du lait et la préparation de la culture mère, la durée de la fermentation, de l'inclusion d'une étape de refroidissement et d'une étape de maturation. La composition du kéfir change également dans les différents pays.

La composition chimique du kéfir fournit une indication utile de la valeur nutritionnelle du produit. Selon Bottazzi *et al.* (1994) une analyse de composition typique (g/100 g) du kéfir se compose de 3,0 - 3,4 de protéines, 1,5 de matières grasses et 2,0 - 3,5 de lactose (après l'étape de fermentation). Cependant, la teneur en acide lactique peut se situer entre 0,6 et 1,0 mL/100 mL d'acide lactique, et le taux d'alcool peut être de 0,0 à 0,1 g/100 mL dans le kéfir fabriqué avec un fermentât de culture de départ ou de 0,03 à 1,8 g/100 mL dans le kéfir fabriqué avec des grains de kéfir (Tamime et al., 2006).

Le pH du kéfir diminue avec l'augmentation des bactéries lactiques homofermentaires et la croissance de *Lactobacillus spp.* L'abaissement de pH également provoque une diminution du nombre de *Streptocoques*. Pendant la fermentation, les bactéries lactiques développent la saveur du kéfir plus efficacement que les levures et les bactéries acétiques (Koroleva, 1982).

Les propriétés microbiologiques, physico-chimiques et sensorielles du kéfir ont été analysées pendant le stockage, il a été rapporté que les levures et les bactéries de l'acide acétique ont été étudiées de manière fiable. Cependant, le nombre de bactéries lactiques a diminué entre 7 et 14 jours de stockage. La matière grasse totale, le lactose, la matière sèche et le pH sont restés constants jusqu'au 14ème jour de stockage. Les propriétés sensorielles du kéfir ont également été étudiées, et les meilleures notes ont été obtenues le premier jour de stockage (Irigoyen *et al.,* 2004), ceci peut être expliqué comme suit :

1- La couleur est blanche ou jaunâtre.

2- L'arôme est équilibré et levuré.

3- Le goût est acide, mais agréable et rafraîchissant.

4- La texture est plutôt épaisse, mais pas collante, avec une consistance élastique (Tamime *et al.*, 2006).

Les propriétés microbiologiques et chimiques du kéfir norvégien ont été étudies par Gronnevik *et al.* (2011) Pendant le stockage il à été signalé une réduction des bactéries lactiques pendant 4 semaines de stockage. Cependant, le nombre de levures a augmenté leur de cette période. L'augmentation de la population de levures a également entraîné une augmentation du CO2 et de l'éthanol pendant le stockage, l''acide glutamique a également diminué.

La composition chimique et la structure microbiennes du kéfir brésilien ont été analysées. Il a été expliqué que pendant la fermentation les bactéries lactiques étaient plus prédominantes que les levures et les bactéries Gram négatives. L'augmentation des bactéries lactiques à entraîné une augmentation de la quantité d'acide lactique, tandis que l'augmentation de la population de levures à augmenté la quantité d'éthanol (Gronnevik *et al.*, 2011).

Les caractéristiques chimiques examinées le premier jour de la fermentation sont les suivantes : pH à 4,42, protéines 3,91 %, ATT, matières grasses 2,34 %, calcium 0,22 % et matière sèche du grain de kéfir 9,62 % (Magalhâes *et al.*, 2011).

Les attributs physico-chimiques du kéfir sous différentes conditions de culture ont été analysés par Ismaiel *et al.* (2011) L'augmentation de l'acidité titrable dépendait de la production d'acide lactique, le pH final a été étudié plus acide (2,91 - 4,04). La croissance et la production de kéfir les plus élevées ont été étudiées en utilisant du lait de vache écrémé.

3- Fabrication de kéfir de fruit :

3-1- Fruits utillisés :

On connait à l'heure actuelle au moins une quinzaines de poésiens sur les fruits, écrtes entre la fin de XIV^{eme} siècle et le début du XVI^{eme} siècle. Tous ces poésies ont commun l'idée centrale qu'il existe trois sortes de fruits. Ceux qui se mangent à l'intérieur plutôt qu'à l'extérieur (noix, noisettes, châtaignes, etc.) et ceux qui sont comestibles à l'extérieur plutôt qu'à l'intérieur (patchs, abricots, etc.), et ceux qui sont comestibles à l'intérieur et à l'extérieur (figues, poires, coings, pommes, etc.). Le fruit était un aliment qui pouvait être hors de prix, surtout en début et en fin de saison, mais c'était surtout un aliment qui accordait un titre noble (Allen, 1989).

3-2- Inoculum des grains de kéfir d'eau et préfermentations :

Un inoculum des grains de kéfir d'eau a été obtenu à partir du processus de fermentation du kéfir d'eau pour obtenir la quantité requise des grains. L'inoculum a été cultivé à travers une série de préfermentations continues jusqu'à ce qu'une masse humide des grains de kéfir d'eau dépasse 1300 g (Laureys *et al.*, 2018).

La préfermentation a été réalisée dans des bouteilles en verre munies de bouchons en polytétrafluoroéthylène (PTFE). Ils ont commencé par ajouter 10 g de sucre, 5 g de figues séchées et 160 ml d'eau du robinet à 50 g de grains du kéfir d'eau. Incuber le flacon dans un bain marie à 21°C, la pratique du Backslopping a été appliquée tous les 3 jours, séparer les grains d'eau du kéfir par tamisage, puis récultiver dans un milieu frais dans les mêmes conditions que décrites ci-dessous (Laureys *et al.*, 2018).

3-3- Fermentations :

Le processus général de production des boissons au kéfir d'eau est décrit dans la Figure 14. La fermentation est généralement spontanée et les grains de kéfir d'eau sont placés dans un milieu de saccharose avec ou sans fruits secs ou frais. La fermentation a lieu à une température de 21 - 30 °C pendant 4 - 8 jours. Les grains du kéfir d'eau peuvent être récupérés du liquide fermenté et essentiellement réutilisés à l'infini en les plaçant dans un milieu froid d'eau sucrée. Comme nous le verrons plus tard, l'utilisation de ferments lactiques définis est peu courante. En général, le kéfir d'eau a été produit à l'échelle domestique dans des conditions non stériles ou légèrement stériles (Pidoux *et al.*, 1988).

Le sucre de table ou le sucre brun (saccharose) est la source de carbone la plus couramment utilisée, avec des fruits frais ou secs ajoutés comme source d'azote. Le plus souvent, des figues fraîches ou séchées sont ajoutées à cet effet, accompagnées de rondelles de citron (Corona *et al.*, 2016 ; Randazzo *et al.*, 2016).

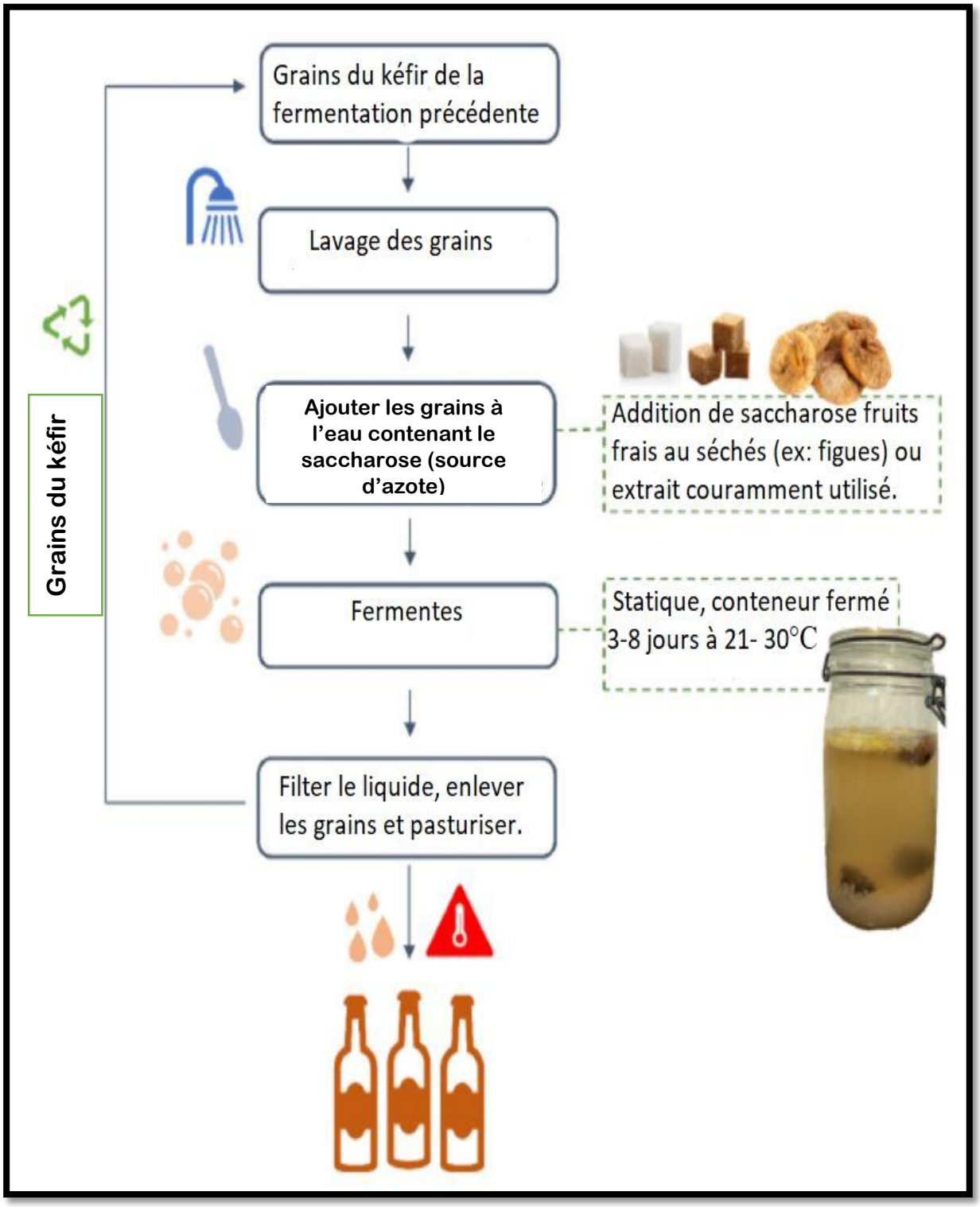

Figure 14 : Diagramme de fabrication du kéfir d'eau (Elke *et al.*, 2021).

Le kéfir fait maison peut être réalisé à l'échelle du laboratoire ou industrielle. Pour cela, il faut connaître la cinétique du processus, c'est-à-dire les conditions nécessaires au processus de fermentation permettant d'obtenir un produit fermenté présentant les caractéristiques sensorielles et nutritionnelles attendues. En outre, les conditions préétablies doivent être optimisées en répétant le processus fermentaire jusqu'à ce que la variation de la qualité technique du produit final soit acceptable (ex : Les fermentations sont considérées comme étant terminée lorsque le niveau d'aigreur (acidité) souhaité est atteint) (Randazzo *et al.*, 2016).

Dans ce sens, les paramètres du processus de fermentation utilisant le kéfir d'eau dépendent du substrat utilisé et de la composition microbienne du grain. Les paramètres les plus fréquemment évalués dans la littérature comprennent la température du processus, le temps de fermentation, la biomasse du substrat, la concentration du substrat en glucides fermentescibles et les processus anaérobies ou aérobies (Costa, 2018). Les meilleures conditions pour chaque processus de fermentation sont évaluées pour les réponses obtenues par les auteurs qui ont réalisé des analyses chimiques (pH, acidité titrable, teneur en alcool et teneur en sucre, entre autres), une évaluation sensorielle et/ou la viabilité cellulaire (numération des *Lactococcus*, *Lactobacillus* et levures) (Tableau VI).

Tableau VI : Conditions de fermentation évaluées et optimisées pour chaque substrat fermenté (Ailton *et al.*, 2020).

Substras utilisé	Conditions de fermentation évaluées	Optimisation des conditions de fermentation	Référence
Extrait hydrolysé de soja, colostrum et miel.	-Température : 22,95 à 37,05 °C. -Soustraire la concentration : 28 à 42 Brix. -Temps de fermentation : 4 à 28 heures.	-Température : non significatif conservé pour un meilleur ajustement. -Soustraire la concentration : 40 Brix. -Temps de fermentation : 4 à 28 heures. -Biomasse kéfir : proportion de soustraction (5% p/v).	Fiorda *et al.* (2016)
Cidres produits à partir de morceaux de pommes.	-Température : 5 à 45 °C. -Culture du kéfir libre : 10 g/L. -Kéfir à cellules immobilisées : 480 g/L	Température : 20 °C.	Nikolaou *et al.* (2017)
Extraits végétaux d'igname, de grains de sésame et de haricots.	-Temps de fermentation : 3 à 24 heures.	-Température : 22 °C. -Temps de fermentation : 24 h. -Biomasse kéfir : proportion de soustraction : 5 g/100 g.	Costa *et al.* (2018)
Solution aqueuse de sucre brun.	-Aérobic : agitateur à 150 Brix. -Conditions anaérobiques.	-Température : 25 °C. -Temps de fermentation : 24 h. -Biomasse kéfir : soustraire la proportion : 10 g/100 ml. -Conditions anaérobies.	Oliveira *et al.* (2019)
Extrait de soja soluble dans l'eau.	-Soustraire la concentration : 6 à 10 Brix. -Temps de fermentation : 8 à 16 heures. -Biomasse kéfir : proportion de soustraction : 48 g.	-Soustraire la concentration : 10 Brix. -Temps de fermentation : 12 h. -Biomasse kéfir : proportion de soustraction : 4 g/100 g.	Dos Santos *et al.* (2019)

3-4- Caractéristiques du kéfir de l'eau :

Des changements dans le processus de fermentation sont réalisés pour améliorer les caractéristiques des produits développés, selon le désir des consommateurs. Il s'agit d'un aspect bénéfique pour l'industrie alimentaire, car le marché de consommation des boissons non laitières a augmenté ces dernières années, (les consommateurs recherchant des produits ayant un impact moindre sur l'environnement, généralement de source non animale) (Fiorda *et al.*, 2017).

Au cours de la croissance des microorganismes dans le kéfir, plusieurs réactions sont effectuées, qu'elles soient chimiques ou même produites par des enzymes, qui sont synthétisées par les microorganismes dont l'invertase. Cette enzyme augmente la teneur en sucres réducteurs, tels que le glycose et le fructose, qui seront ensuite soumis à l'action d'enzymes glycolytiques, donnant lieu à différents métabolites, tels que : éthanol, CO_2 et acides organiques, entre autres (Destro *et al.*, 2019) (Figure 15).

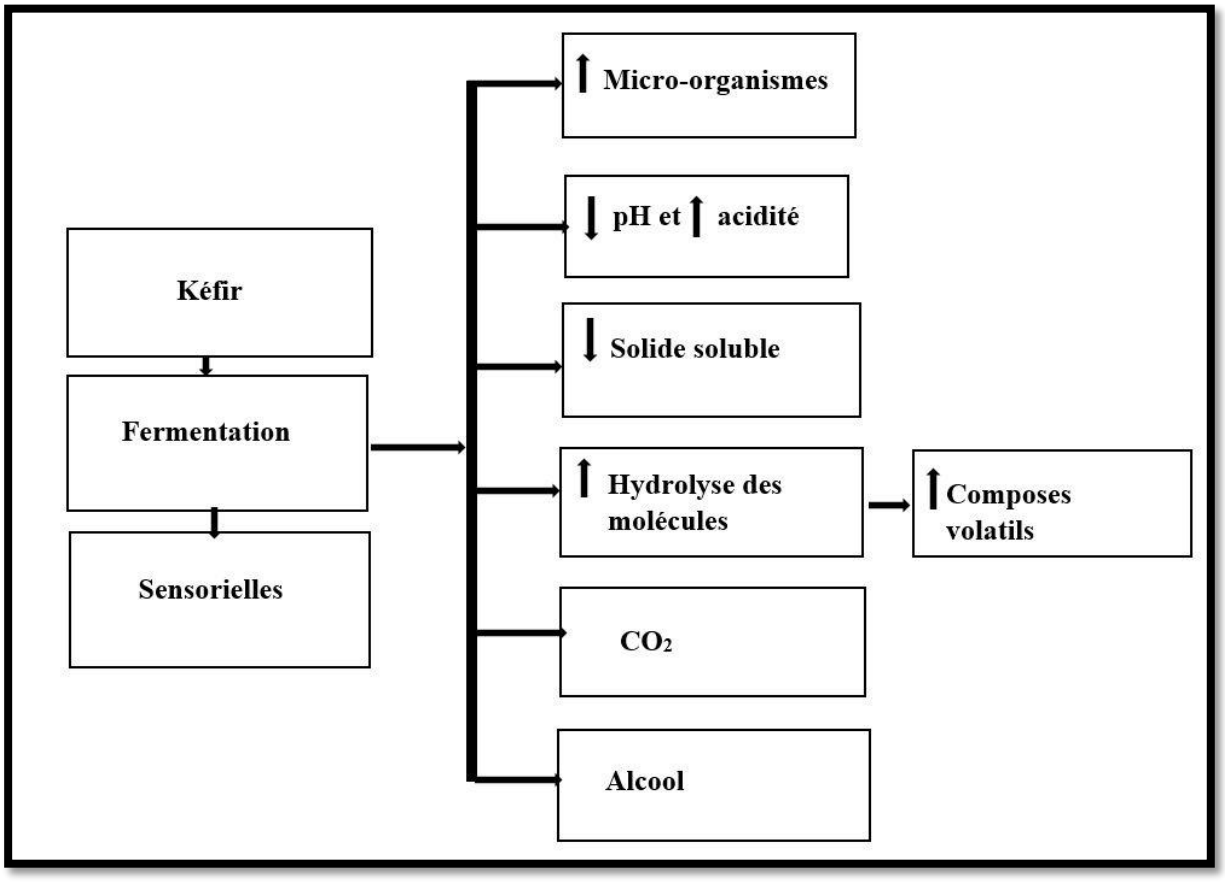

Figure 15 : Modifications des caractéristiques technologiques des aliments après fermentation à l'aide de grains du kéfir (Ailton *et al.*, 2020).

Les bactéries lactiques et les levures présentent différents métabolismes (homo et hétérofermentaires), qui sont capables de consommer des hydrates de carbone, générant différents acides organiques et autres composés comme les produits finaux. La présence d'acides organiques tels que l'acide acétique abaisse le pH, qui est associé à l'activité antibactérienne des produits à base de kéfir et sert de méthode de stockage pour favoriser un environnement défavorable à la croissance de micro-organismes pathogènes (Costa *et al.*, 2018). La présence d'acide acétique contribue à la composition aromatique des boissons fermentées, mais des concentrations élevées d'acide acétique peuvent donner une acidité désagréable et doivent être contrôlées (Nikolaou *et al.*, 2019).

L'acide lactique, l'acide citrique, l'acide malique et l'acide succinique sont également des acides organiques les plus couramment trouvés dans les boissons au kéfir (Nikolaou *et al.*, 2019). La production de ces acides dépend de deux compositions : la biomasse de kéfir et les substrats utilisés en fermentation (Tableau VII). En général, la diminution du pH et l'augmentation de l'acidité se produisent à mesure que le temps de fermentation progresse, mais la croissance microbienne augmente et les solides solubles diminuent (Randazzo *et al.*, 2016). La combinaison de ces événements contribue à la stabilité du produit (Destro *et al.*, 2019).

Un pH plus bas et une acidité accrue sont les résultats des métabolites produits pendant la fermentation, tels que les acides organiques, qui contribuent au goût rafraîchissant, l'arôme et la texture caractéristiques des boissons fermentées (Van Wyk, 2019).

Tableau VII : Propriétés technologiques développées dans les aliments non laitiers par le processus fermentaire utilisant les grains de kéfir (Ailton *et al.*, 2020).

Substrat utilisée	Paramètres évalués	Propriétés technologiques développées	Référence
Boisson kéfir produite à partir d'extraits végétaux	pH, acidité titrable, composition chimique et paramètres de couleur.	↓pH. ↑Acidité titrable et luminosité.	Costa *et al.* (2018)
Boissons à base de jus de fruits	pH, acidité titrable, solides solubles, TPC, antioxydant, éthanol, acides acétique et lactique, couleur, COV et évaluation sensorielle.	↓pH, solides solubles et TPC. ↑acidité, éthanol, lactique. et acétique acides, CO2, COV, et acceptation sensorielle.	Corona *et al.* (2016)
Boisson non laitière élaborée à partir de miel et de grains de kéfir	TPC, acidité, propriétés rhéologiques et analyse colorimétrique.	↓pH, intensités de jaunissement et viscosités (" température ") = ¼ de la luminosité (L) et de la rougeur. ↑TPC, éthanol et acides citrique, lactique, acétique, oxalique et succinique.	Fiorda *et al.* (2016)
Boissons non lactées au sucre brun biologique et à la pulpe de jaboticaba	pH, solides solubles, acidité titrable, acides organiques, teneur en glucides, composition minérale et paramètres de couleur.	↓pH, solides solubles. ↑Acidité titrable, éthanol, CO2, acides organiques, composition minérale et couleur.	Destro *et al.* (2019)
Bière	TPC	↓TPC, des flavonoïdes (catéchine et quercétine), et acide hydroxycinnamique (acides coumarique, gallique, caféique, et acides chlorogéniques).	Rodrigues *et al.* (2016)
Vin	pH, acidité totale et volatile, éthanol, glycérol, acides organiques, sous-produits volatils, et évaluation sensorielle.	↓pH. ↑acidité volatile, éthanol, glycérol, acides organiques (malique, acétique, et citrique), acétaldéhyde, arôme, goût, et qualité générale.	Nikolaou *et al.* (2019)

TPC : Composés phénoliques totals, VOC : Composés organiques volatils.

3-5- Mise à l'échelle industrielle de la production de kéfir d'eau :

L'expansion de la production du kéfir d'eau pose un défi qui a limité la production industrielle du kéfir d'eau. Ceux-ci incluent un processus de fermentation instable qui se traduit par des boissons de qualités variables et une croissance faible des grains de kéfir qui entrave souvent la mise à l'échelle.

Selon Laureys *et al.* (2017) ont réalisé l'une des seules études rapportées sur un kéfir d'eau dit industrielle. Cette fermentation souffrait des problèmes d'instabilité et de croissance négligeable des grains, ces derniers étant petits et endommagés par rapport aux grains de kéfir typique utilisés dans le kéfir d'eau domestique. L'entreprise stockait ses grains de réserve à 20 ◦C, et parce que les grains de kéfir d'eau sont composés de 86 - 90% d'eau, il a été suggéré que la congélation et la décongélation endommagent de manière irréversible la structure du grain et/ou les microorganismes associés, qui ne se rétablissent pas, même après des rétrogradations successives.

De plus, l'eau déminéralisée a été utilisée pour la production du kéfir d'eau. L'eau déminéralisée n'a pas de pouvoir tampon en raison de l'élimination d'ions. Ainsi, alors que le pH à diminué, le niveau des acides produits était plus faible. La faible croissance des grains de kéfir d'eau est associée à l'utilisation d'une eau ayant un faible pouvoir tampon (et/ou une faible concentration en calcium) (Laureys *et al.*, 2017).

4- Conservation des grains de kéfir :

Pour la croissance des cultures starter de kéfir, il est nécessaire de maintenir une proportion souhaitable et suffisante des micro-organismes. La réduction de la teneur en levure des grains de kéfir modifie le taux de production de biomasse. Les grains de kéfir peuvent être lyophilisés, séchés ou stockés humides. Certains auteurs recommandent de conserver les grains de kéfir humide à 4°C ou de les sécher à température ambiante pendant 36 à 48 heures. Les grains de kéfir séchés restent actifs pendant 12 à 18 mois, tandis que les grains humides ne restent actifs que pendant 8 à 10 jours (Marth et Yousef, 1991).

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 la 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).

4-1- Conservation des grains de lait :

- **Méthode de 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 au 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 courant 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).

- **Méthode de séchage :**

La température ambiante (20 - 25°C), le refroidissement à 4°C et le type d'environnement (aérobie, anaérobie) sont des facteurs qui sont pris en compte pour déterminer le temps de séchage. Le séchage a été effectué comme suit (Ramparany, 2008) : Rincer le grain tamisé avec l'eau distillée, égouttés dans une passoire et pesés (Figure 16), placer le grain humide dans une petite boîte de papier filtre et sécher à température ambiante. L'éclaircissement de la couleur et la réduction de la taille des particules sont le résultat du séchage (Ramparany, 2008).

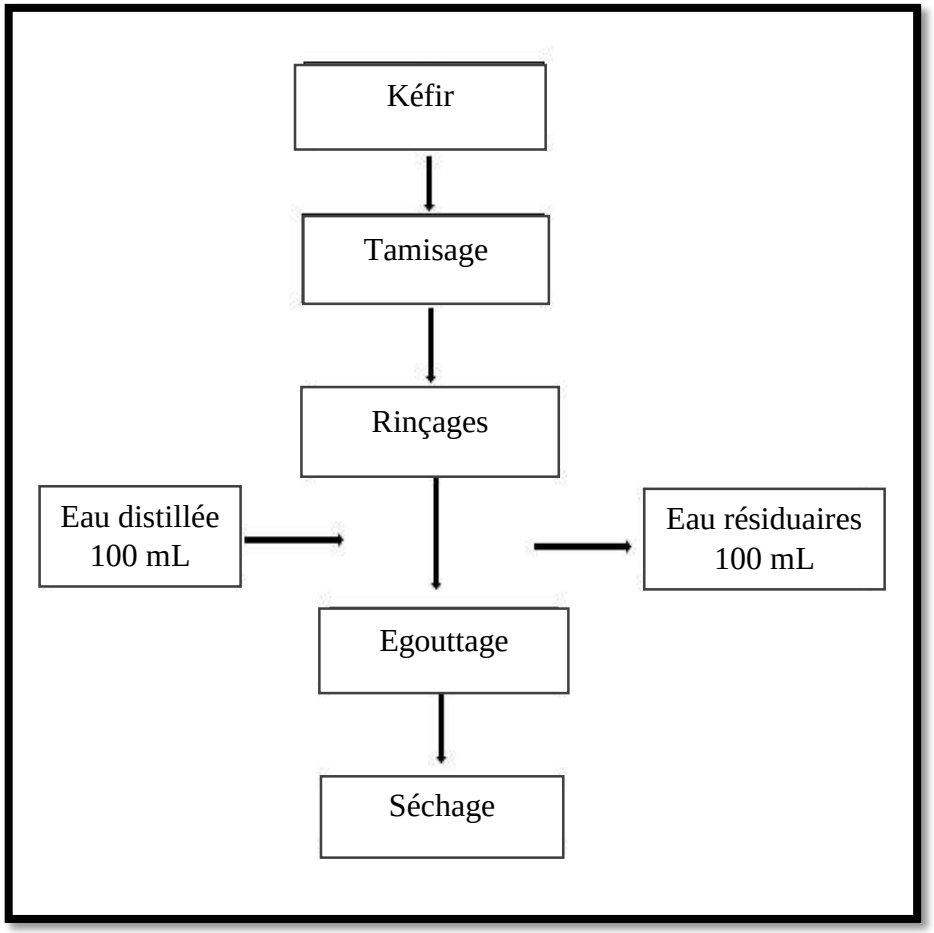

Figure 16 : Diagramme de séchage des grains du kéfir (Ramparany, 2008).

- **Revivification des grains :**

La revivification des grains secs est une phase délicate mais elle est essentielle. El vise à réactiver tous les microorganismes présents dans le grain (Figure 17). Parceque les grains sont formés à partir d'un complexe des souches bactériennes et des levures. La renaissance s'est faite à partir de la méthode Russe. L'eau utilisée pendant la revivification a été distillée et stérilisée afin de ne pas influencer l'état physico-chimique et microbiologique des grains. Ainsi, ils sont exempts de souillures physiques accumulées pendant le séchage et/ou la conservation. Après la macération hydrate, les grains gonflés sont triés selon leur état physique. Les grains mous, translucides et grisâtres ne sont plus utilisables tandis que les grains jaunâtres, fermes et assez consistants conviennent à la fermentation. Les grains, ainsi triés sont ensemencés et réensemencés dans du lait pasteurisé (Ramparany, 2008).

Le brassage se fait toutes les heures pour homogénéiser le milieu et améliorer le contact lait-grains-souches. Le renouvellement du lait se fait tous les jours. Autrement dit, l'incubation dure 24 heures et se dérole dans un milieu contrôlé à une température comprise entre 20 -25°C. Après l'incubation, l'ensemble est tamisé afin de récupérer les grains pour un nouvel ensemencement. Ainsi, l'opération continue jusqu'à l'obtention d'un lait fermenté stable (Ramparany, 2008).

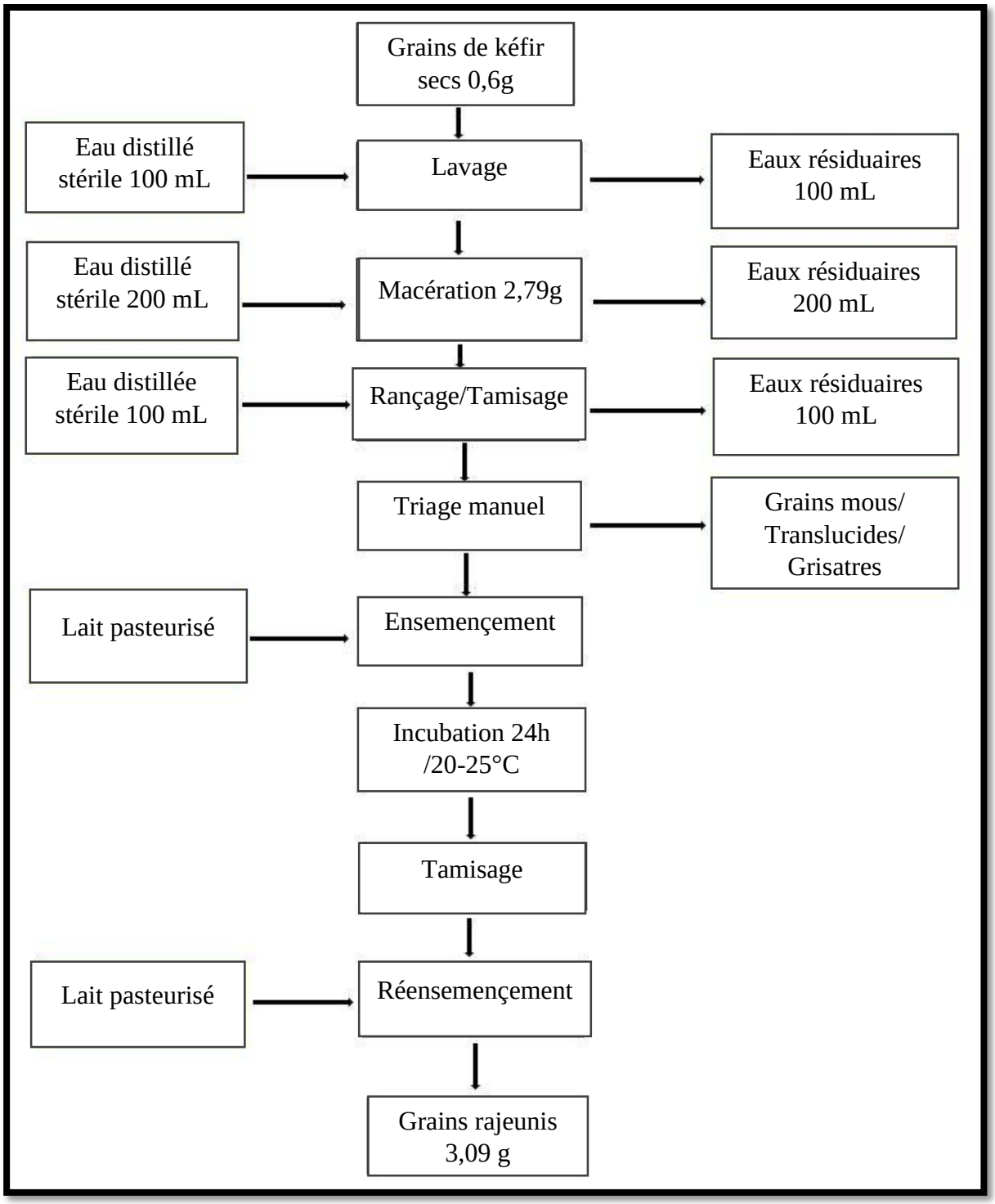

Figure 17 : Processus de revivification des grains du kéfir (Ramparany, 2008).

- **Méthode de lyophilisation :**

La lyophilisation peut prolonger la durée de conservation d'un produit. Le kéfir concentré puis lyophilisé, une fois reconstitué, possède toutes les propriétés microbiologiques et biochimiques du produit de référence. La vitesse de réfrigération de 1,5. 10^{-2} °C/s, une température finale de congélation de - 15 °C à - 18 °C, une température maximale en fin de déshydratation de 35 °C à 38 °C et une humidité finale de 3 à 4 %, sont les conditions optimales de lyophilisation du kéfir (Athena et Anifantakis, 1988).

Le levain lyophilisé industrielle présente des avantages évidents par rapport au levain traditionnel. Il se conserve à une température de -18 °C pendant au moins 6 mois, ils assurent :

- Un traitement facile du levain (surtout moins de risque de contamination et d'altération lors du stockage).

- Stabilité de l'activité du levain, de la qualité du produit et du nombre de levures.

- Possibilité de changer la composition du levain pour répondre aux différents besoins (Athena et Anifantakis, 1988).

4-2- Conservation des grains de l'eau :

Pour conserver les grains de kéfir d'eau, il suffit de les conserver dans de l'eau avec un peu de sucre et changée mensuellement, au mieux toutes les semaines, et mettez le tout au réfrigérateur pour ralentir la fermentation. L'absence de sucre peut perturber l'équilibre des flores bactériennes. Il est fortement déconseillé de les faire séchée 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).

Chapitre III

Kéfir et Santé

Chapitre III : Kéfir et santé.

1- Kéfir et probiotiques :

Le kéfir a été vanté pour son utilisation en tant que probiotique. Il existe de nombreuses études scientifiques d'excellentes revues dans la littérature actuelle traitant des caractéristiques nutritionnelles et probiotiques du kéfir. Les probiotiques contiennent des bactéries vivantes, qui sont utiles pour la santé (Ahmed *et al.,* 2013).

Le terme " Probiotique " a été défini par Fuller comme " un complément alimentaire microbien vivant qui à un effet bénéfique sur l'hôte, au-delà de la correction de l'hôte des carences nutritionnelles en améliorant l'équilibre intestinal " (Fuller, 1992). Cette définition à été élargie lors de la consultation conjointe d'experts FAO/OMS sur l'évaluation des propriétés sanitaires et nutritionnelles des probiotiques dans les aliments. Sur la base de la définition de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et l'Organisation mondiale de la santé (OMS), les probiotiques sont des " micro-organismes vivants qui lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, confèrent un avantage pour la santé de l'hôte". Les micro-organismes probiotiques sont sensibles à divers stress physico-chimiques tels que le pH, l'acidité et la température. Le kéfir est l'un des probiotiques les plus appréciés, considéré comme un complément puissant (Sharifi *et al.,* 2017).

Le kéfir est un produit laitier fermenté complexe contenant plusieurs espèces de bactéries et de levures probiotiques. Le kéfir présente un large spectre de bénéfices importants pour la santé, notamment des propriétés physiologiques, prophylactiques et thérapeutiques. Ces effets sont le résultat d'une grande variété de composés bioactifs produits au cours du processus de fermentation et du microbiote très diversifié, qui agissent de manière indépendante ou synergique pour influencer ces bienfaits pour la santé (De Oliveira *et al.,* 2013).

Le concept des probiotiques a été lancé par Elie Metchnikoff dans son ouvrage intitulé " Les probiotiques : une question d'équilibre", publié à l'origine en 1908. Le Dr Metchnikoff à théorisé que la putréfaction intestinale raccourcissait la vie. Il à observé que les humains qui consomment des aliments fermentés ont montré des avantages remarquables pour la santé, absorbant des quantités des microbes lactiques en consommant à l'état brut des substances telles que le lait aigre, le kéfir ou les concombres salés qui ont subi une fermentation lactique (Metchnikoff, 1908).

2- Composition nutritionnelle :

En dehors des nutriments à base de kéfir, des niveaux élevés d'acides aminés, protéines, de phosphore et de calcium sont également observés. Dans cette référence, il a été reconnu comme un produit alimentaire sain, en particulier dans les régions où il est consommé comme aliment de base (Vinderola *et al.,* 2004). Les valeurs nutritionnelles les plus élevées de kéfir (Tableau VIII) sont attribuée à la présence des substances chimiques équilibrées telles que des protéines, des minéraux et des vitamines et des processus de fermentation peut entraîner une augmentation

signifiant de son profile nutritionnel (Ot1es et Cagindi, 2003). Certains aspects nutritionnels importants sont résumés comme suit :

Tableau VIII : La composition chimique et les valeurs nutritionnelles du kéfir (Ot1es et Cagindi, 2003).

Composants	100g	Composants	100g
Énergie (kcal)	65	**Teneur en minéraux (g) :**	
Matières grasses (%)	3,5	Calcium	0,12
Protéines (%)	3,3	Phosphore	0,10
Lactose (%)	4,0	Magnésium	12
Eau (%)	87,5	Potassium	0,115
		Sodium	0,05
		Chlorure	0,10
Acide lactique (g)	0,8		
Alcool éthylique (g)	0,9	**Oligo-éléments** :	
Acide lactique (g)	1	Fer (mg)	0,05
Cholestérol (mg)	13	Cuivre (µg)	12
Phosphatés (mg)	40	Molybdène (µg)	5,5
		Manganèse (µg)	5
Acides aminés essentiels (g) :		Zinc (mg)	0,36
Tryptophane	0,05	**Vitamines (mg) :**	
Phénylalanine + tyrosine	0,35	A	0,06
Leucine	0,34	B_{12}	0,5
Isoleucine	0,21	Carotène	0,02
Thréonine	0,17	Niacine	0,09
Méthionine + cystine	0,12	B_1	0,04
Lysine	0,27	B_2	0,17
Valine	0,22	B_6	0,05
		C	1
Composés aromatiques :		D	0,08
Acétaldéhyde		E	0,11
Diacétyle			
Acétoine			

1- Contenu en vitamines :

Le kéfir contient une composition vitaminique riche, lorsqu'il est prêt à la consommation. La teneur en vitamines dépend de la qualité du lait utilisé, des micro-organismes présents dans les grains de kéfir, et le mode de préparation.

Certains chercheurs sont d'avis que, pendant le processus de fermentation, des vitamines telles que la pyridoxine, la vitamine B 12, l'acide folique et la biotine sont produites en plus grande quantité, alors qu'une baisse de la thiamine et de la riboflavine peut se produire pendant la fermentation du kéfir (Liut Kevicius et Sarkinas, 2004).

D'autres chercheurs, mesurant la quantité de vitamines dans le kéfir, montré une baisse de la vitamine B 12. Cette baisse peut être dépendante du choix specific du microflora qui peuvent être présents dans le grain du kéfir. Les grains de kéfir disponibles dans le commerce ont également tendance à augmenter la teneur en acide folique du produit après fermentation. Outre que la vitamine B-complexe, le kéfir contient une quantité appréciable de vitamine K et de vitamine C. Ainsi, le type de lait et le supplément microflora sont les deux facteurs décisifs qui peuvent prédire la quantité de vitamines dans le produit (Ahmed *et al.,* 2013).

L'inclusion de *Propionibacterium pituitosum et Propionibacterium peterssoni* entraina une diminution linéaire de la vitamine B 12 (34 -37%) (Roczniakova *et al.,* 1974), tandis qu'une forte augmentation de l'acide folique (500%) et une augmentation mineure de l'acide pantothénique et de la vitamine B 6. *Propionibacterium freudenreichii* a été incorporé pendant le processus de fermentation (Cerna et Hrabova, 1982).

2- Contenu protéique :

Pendant la fermentation, les protéines deviennent facilement digestibles grâce à l'action de coagulation acide et de protéolyse. Le kéfir présente un profile d'acides aminés similaire à celui du lait utilisé comme substrat de fermentation (Rosa *et al.,* 2017).

En dehors du profile protéique de grain du kéfir, c'est un fait bien accepté que lorsque ces grains ont été utilisés pour la culture dans le lactosérum, ceux-ci augmentaient la teneur en protéines du produit final. Le lait entier, lorsqu'il est utilisé comme source, à montré une teneur en protéines comparativement plus faible, par rapport au lactosérum (Ahmed *et al.,* 2013).

L'activité protéolytique à également été démontrée par certains scientifiques dans le kéfir en raison de la présence de *Lactocoques*. Des quantités plus élevées d'acide glutamique et de thréonine ont été signalées dans les *Bifidokéfir* contenant 2×10^7 cfu/mL de *Bifidobactéries* par rapport aux kéfir normaux (Ahmed *et al.,* 2013).

Le processus de fermentation améliore également l'ammoniac, la serine, la lysine, l'alanine et la thréonine dans le kéfir (Guzel-Seydim *et al.,* 2003). D'autres scientifiques ont signalé la présence de tryptophan, valine, lysine, méthionine, phénylalanine, thréonine et isoleucine (Liut Kevicius et Sarkinas, 2004).

3- Teneur en sucre :

Un kéfir typique contient 6 % de sucre, une partie importante de la matrice gélatineuse contenant le microflora du kéfir. Le sucre présent dans le kéfir est connu sous le nom de kéfiran, un hétéropolysaccharide, qui est un glucogalactane de nature. Le kéfiran améliore la formation

du gel, la rhéologie et les caractéristiques viscoélastiques dans les gels produits par des laits acidifiés et forme des gels à basse température. Il a été rapporté que le kéfiran formé des films isolés de bactéries lactiques avec une faible perméabilité à la vapeur d'eau et une extraordinaire flexibilité, encore plus élevée que celles correspondant au polyéthylène basse densité (Ahmed *et al.*, 2013).

4- Contenu minéral :

Une quantité significative de minéraux majeurs et mineurs a été signalée dans le kéfir. Ces minéraux comprennent le calcium, le potassium, phosphore, magnésium, et micro-éléments tels que le zinc, le copper, le manganèse, le fer, le molybdène et le cobalt (Liut Kevicius et Sarkinas, 2004).

3- Effets bénéfiques du kéfir de lait sur la santé :

La recherche des nouveaux produits chimiques bioactifs est un effort permanent. Les caractéristiques thérapeutiques du kéfir dues à la présence de composants différents sont brièvement décrites dans la (Figure 18), et sont discutées dans les sections suivantes :

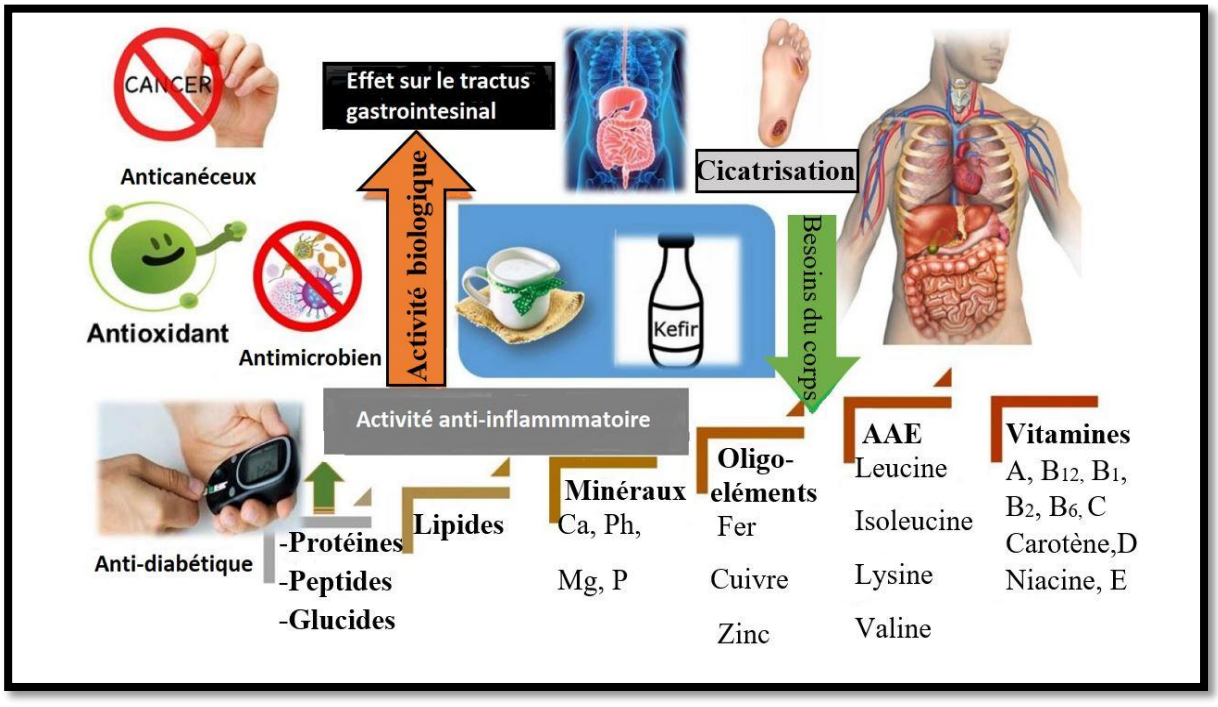

Figure 18 : Propriétés biologiques, valeur nutritionnelle et composition en macro- et micronutriments du kéfir (Mohamed *et al.*, 2020).

1- Effet anticancirogène :

Des études épidémiologiques suggèrent que la consommation de produits laitiers fermentés peut réduire le risque de cancer du sein chez les femmes. Ce risque réduit peut être attribué à la présence de certains composants bioactifs dans les produits laitiers fermentés, qui peuvent inclure certaines protéines et petits peptides. Leur activité antitumorale a été démontrée par des tests d'alimentation dans des modèles animaux, y compris des cellules cancéreuses et des cellules tumorales cultivées (Ahmed *et al.*, 2013).

Ces composants bioactifs ont la capacité de prévenir le cancer ; ils agissent également en inhibant la croissance tumorale déclenchée par l'interférence avec certaines enzymes, éliminant ainsi la conversion de procancirogène en cancirogène. Un autre mécanisme qui inhibant le processus de carcinogenèse est l'activation du système immunitaire (Kneating, 1985).

Les effets anticancéreux du kéfir et de l'extrait de kéfir ont été largement étudiés. Plusieurs autres membres du personnel ont également 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 isolatées *Lactobacillus, Streptococcus, Leuconostoc* et *Streptococcus nisinus subsp. Cremoris* de kéfir a 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 kéfiran est un glucogalactane hydrosoluble qui peut être isolé des grains de kéfir ou produit par la souche *L. kefiranofaciens* isolée du kéfir, qui possède également une activité antitumorale (Ahmed *et al.*, 2013).

Cependant, lorsque les polysaccharides solubles dans l'eau et insolubles dans le kéfir ont été comparés, les polysaccharides solubles dans l'eau semblaient être plus efficaces dans la suppression des tumeurs (Furukawa *et al.*, 2000), et leur efficacité antitumorale n'était pas non plus prouvée à de faibles niveaux. Outre la nature et le dosage du polysaccharide, l'activité antitumorale dépend également du type de micro-organismes dans le processus de fermentation (Murofushi *et al.*, 1983).

Un autre nutriment important qui joue un rôle dans l'activité anticancéreuse est la protéine. Guzel-Seydim *et al.* (2003) ont également révélé que les protéines du lait, en particulier les acides aminés soufrés, jouent un rôle majeur dans l'activité anticancéreuse du kéfir et des produits similaires. L'implication des cellules immunitaires dans l'effet antitumoral du kéfir dans un modèle murin de cancer du sein a été rapportée par De Moreno De Leblanc *et al.* (2007).

Il existe encore un grand potentiel pour explorer ces composés bioactifs et l'utilisation de ces produits bioactifs et les systèmes par lesquels ces composés agissent sur les cellules cancéreuses. Mais il existe de nombreuses preuves que de nouveaux peptides développés pendant la fermentation ont la capacité d'inhiber la croissance des cellules cancéreuses (De Moreno De Leblanc *et al.*, 2007).

2- Prolifération gastro-intestinale :

Il est largement admis que le kéfir a un effet surprenant sur le tractus gastro-intestinal, qui est la plus grande interface entre un animal et son environnement extérieur. En tant que barrière, il empêche la pénétration de substances nocives telles que les antigènes alimentaires. Les produits laitiers fermentés aident à restaurer la flore lactique bénéfique dans l'intestin grêle en inhibant les mauvais microbes. Ces propriétés antibactériennes dépendent fortement de l'activité de la culture, de la température, du temps de stockage et du niveau de contamination initial. La nouvelle flor microbienne aide à digérer les protéines et abaisse l'indice glycémique (Marquina *et al.,* 2002).

En particulier, la colonisation de *Campylobacter jejuni* dans le caecum des poussins et des rats peut altérer la muqueuse intestinale et la réponse immunitaire systémique. La consommation régulière du kéfir est non seulement bénéfique dans le traitement des troubles gastro-intestinaux, mais peut également être appliquée à une guérison postopératoire rapide. Les données sur la consommation de kéfir chez les nourrissons montrent qu'une inhibition rapide de *Shigella* et de *Salmonella* a été observée dans les 7 à 11 jours suivant l'ingestion de bifido-kéfir (kéfir contenant des cellules de bifidobactéries) chez les nourrissons souffrant d'infections intestinales. Ces résultats ont atteint des conditions de récupération après 12 à 18 jours par rapport à la prise du kéfir régulier (sans facteur bifido) (Ahmed *et al.,* 2013).

Une étude plus récente a suggéré que l'effet nocif de *Bacillus cereus* pourrait être réduit par l'exopolysaccharide kéfir. Ce polysaccharide a également la capacité de moduler la virulence des micro-organismes dans le cadre d'infections intestinales (Medrano *et al.,* 2009).

3- Activités anti-inflammatoires et antioxydantes :

L'état inflammatoire est associé au développement de certaines maladies chroniques telles que l'obésité, le diabète et le cancer. Ainsi, le nombre d'études ayant évalués les propriétés immunomodulatrices du kéfir peut être le résultat d'une action directe du microbiote ou peut être indirecte via divers composés bioactifs produits lors du processus de fermentation. Les peptides bioactifs produits lors de la fermentation du lait par le microbiote présent dans le kéfir sont capables d'activer les macrophages, d'augmenter la phagocytose, de supprimer la réponse immunitaire Th2, d'augmenter la production de NO et de cytokines et de stimuler la sécrétion de lymphocytes IgG et IgA dans la lumière intestinale (Rosa *et al.,* 2017).

Dix semaines de supplémentation en kéfir chez des rats spontanément hypertendus ont diminué l'expression des cytokines inflammatoires (IL-1β) dans le tissu adipeux, augmenté les cytokines anti-inflammatoires (IL-10) et diminué les marqueurs d'oxydation du malondialdéhyde (MDA) et les hydroperoxydes (Mohamed *et al.,* 2020).

Les vésicules extracellulaires produites à partir du kéfir peuvent atténuer l'inflammation induite par le TNF dans les cellules intestinales en inhibant la production de cytokines inflammatoires. Le traitement de chaque vésicule extracellulaire de *Lactobacillus* dérivé du kéfir sur des cellules Caco-2 stimulées par le TNF-α a considérablement réduit l'expression et la sécrétion d'ARNm d'IL-8. L'administration ultérieure de *Lactobacillus* dérivé du kéfir chez

des souris atteintes d'une maladie inflammatoire de l'intestin a associé de manière significative des symptômes tels qu'une perte de poids et des saignements rectaux et une amélioration de la consistance des selles (Seo *et al.*, 2018).

Le kéfir a provoqué une diminution de 42 % du rapport TNF-α/IL-10 et une diminution de 50 % du rapport des niveaux d'IL-6 pro-inflammatoire ainsi qu'une augmentation de l'IL-10 anti-inflammatoire (Andrade *et al.*, 2017). L'extrait lyophilisé de polysaccharide du kéfir tibétain a montré une bonne action inhibitrice de l'enzyme hyaluronidase avec une activité minimale de 2,08 mg/mL (Rosa *et al.*, 2016).

La capacité antioxydante du kéfir à base de lait de brebis était supérieure à celle du kéfir à base de lait de vache. Les effets biologiques du kéfir des différents types de lait n'ont pas encore été entièrement identifiés en termes d'effets principaux. Les échantillons de kéfir fermenté en grains ont montré une plus grande capacité antioxydante pour le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) et le 2,2'-azino-di(3-éthylbenzthiazoline-sulfonate) (ABTS) que les échantillons de kéfir fermenté en culture starter. Cette expérience a indiqué que le kéfir de lait des brebis a montré un effet antioxydant dans le test ABTS (Mohamed *et al.*, 2020).

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

4- Effet sur le système immunitaire :

Il existe un lien direct entre la nutrition et le système immunitaire (Vinderola *et al.*, 2006). De nombreuses citations ont suggéré que les produits fermentés produits par BL ont le potentiel d'améliorer les réponses immunitaires spécifiques et non spécifiques.

Dans les modèles animaux et humains. Ces micro-organismes probiotiques agissent dans les deux sens : soit ils maintiennent directement en vie les cellules microbiennes, soit ils fournissent indirectement par leurs propriétés secondaires qui peuvent agir comme composés biogéniques. Les composés biogéniques sont des composants alimentaires bénéfiques qui sont produits par les activités métaboliques de la microflore et ont une certaine importance pour la santé sans utiliser l'activité microbienne des bactéries intestinales natives (Takano, 2002), tandis que l'irrégularité du fonctionnement de la microflore peut entraîner l'émergence d'une large gamme de maladies (Ahmed, 2013).

On pense généralement que le kéfir a des effets immunomodulateurs et prodigestifs. Vinderola *et al.* (2005) ont déterminé les caractéristiques immunomodulatrices du kéfir fermenté dans un modèle murin et ont démontré que la dose et la viabilité cellulaire peuvent influencer la réponse Th2 ou Th1. En consommant du kéfir, les macrophages pulmonaires et péritonéaux peuvent réduire l'activité pathogène et ainsi influencer la réponse des muqueuses à différentes zones du corps. Une telle microflore modifie également la réponse aux cytokines qui ne sont pas natives des bactéries hôtes, altérant ainsi l'immunité innée. La microflore du kéfir a également induit la production de cellules productrices d'IL-10.

5- Propriétés antimicrobiennes du kéfir :

Les propriétés antibactériennes du kéfir sont liées à une combinaison de plusieurs facteurs, notamment la compétition pour les nutriments disponibles et l'action inhérente des acides organiques, H_2O_2, de l'acétaldéhyde, CO_2 et bactériocines produites pendant la fermentation (Powell, 2006). Ces substances ont également des effets similaires à des nutraceutiques, en prévenant les troubles gastro-intestinaux et les infections vaginales.

Le kéfir exerce des effets bactéricides sur les bactéries Gram négatives ; cependant, il est plus efficace contre les bactéries Gram positives. Cet effet antagoniste a été observée contre les bactéries, telles que *Salmonella, Shigella, Staphylocoque, Helicobacter pylori, Escherichia coli, Enterobacter aerogenes, Proteus vulgaris, Bacillus subtilis, Micrococcus luteus Listeria monocytogenes, Streptococcus pyogenes* et également contre la levure *Candida albicans* (Rosa *et al.*, 2017).

Sellon Silva et al. (2009) ont rapporté l'activité antimicrobienne du kéfir contre *Candida albicans, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Salmonella typhi et Shigella sonnei*. Ulusoy *et al.* (2007) ont observé que le kéfir fabriqué à partir de grains commerciaux lyophilisés présentait une activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Salmonella enteritidis, Listeria monocytogenes* et *Escherichia coli*. Les résultats étaient comparables à l'action antibactérienne de l'ampicilline et de la gentamicine. Il a été démontré que les grains de kéfir ont une activité antibactérienne supérieure à celle du kéfir. Cela se voit surtout dans les cocci à Gram positif, y compris les *Staphylocoques* et les bacilles à Gram positif (Farnworth, 2005).

Le kéfir frais a un potentiel inhibiteur intrinsèque contre *Staphylococcus aureus, Kluyveromyces lactis* et *Escherichia coli*. Cependant, cet effet n'a pas été vérifié contre *Saccharomyces cerevisiae* et *Candida albicans*. Il a été démontré que le kéfir perd son effet inhibiteur intrinsèque après lyophilisation et reconstitution dans de l'eau distillée ou du lait. Dans ce contexte, le kéfir apparaît comme une alternative sûre pour la conservation des aliments qui offre une protection contre l'empoisonnement à l'aflatoxine B1 (Brialy *et al.*, 1995).

De plus, le kéfir a été capable d'augmenter la population des bactéries lactiques et diminuer les niveaux *d'Enterobacteriaceae* et de *Clostridium* dans la muqueuse intestinale des souris (Marquina *et al.*, 2002). Ainsi, l'activité antimicrobienne du kéfir diffère lorsque le lait fermenté est utilisé sous forme reconstituée ou liquide, ainsi que lorsque des grains de kéfir sont utilisés. Cependant, il convient de noter que les grains de kéfir et le lait fermenté sont des alternatives intéressantes qui peuvent être utilisées pour prévenir certaines infections, en particulier celles affectant le tractus gastro-intestinal (Rosa *et al.*, 2017).

6- Activité antidiabétique :

Le kéfir à démontré des effets prometteurs dans la réduction de l'obésité et des dysfonctionnements métabolique associé. L'administration de kéfir préparé à l'aide de lait de chèvre à montré un effet similaire à celui du glibenclamide comme agent antidiabétique. De plus, l'alimentation de rats diabétique avec du kéfir préparé à partir de lait de chèvre à 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 (Mohamed *et al.*, 2020).

7- Effet hypocholestérolémiant du kéfir :

L'hypercholestérolémie est un facteur prédisposant aux maladies cardiovasculaires et peut entraîner à la mort (Wong *et al.*, 2016). La consommation de produits laitiers probiotiques a été suggérée comme stratégie pour abaisser le taux de cholestérol circulant. Guo *et al.* (2011) dans une méta-analyse de treize études, incluant 485 participants avec des taux de cholestérol élevés et normaux, ont observé que la consommation de produits laitiers probiotiques était capable de réduire les taux de cholestérol sérique (écart-type de la variation nette moyenne 6,40 mg /dl ; 0,17 mmol/l), cholestérol LDL (changement net moyen 4,90 mg/dl ; 0,13 mmol/l) et TAG (changement net moyen 3,95 mg/dl ; 0,04 mmol/l). Quelques mécanismes sont proposés pour justifier ces résultats :

1- Les BL inhibent l'absorption du cholestérol exogène dans l'intestin en raison de la liaison et de l'incorporation du cholestéroltérol par les cellules bactériennes. Le nombre élevé de BL présents dans le kéfir peut directement ou indirectement réduire le cholestérol dans le milieu jusqu'à 33 % (Rosa *et al.*, 2017).

2- Les bactéries probiotiques augmentent la production d'acides gras essentiels. Parmi les divers AGCC produits, le propionate réduit la production de cholestérol en inhibant l'activité de l'hydroxyméthylglutaryl CoA (HMG-CoA) réductase. De plus, le propionate inhibe l'expression intestinale des gènes impliqués dans la biosynthèse du cholestérol (Rosa *et al.*, 2017).

3- Une autre voie possible implique la déconjugaison des acides biliaires, qui peut être augmentée dans le gros intestin, causée par l'enzyme bile salt hydrolase (BSH). L'enzyme BSH catalyse l'hydrolyse de la glycine et/ou de la taurine conjugués aux sels biliaires dans les acides aminés résiduels et les sels biliaires libres, ce qui augmente l'excrétion (Rosa *et al.*, 2017).

8- Propriétés antiallergiques :

L'allergie alimentaire est un problème majeur dans toutes les régions du monde et comme d'autres troubles atopiques, son incidence semble augmenter. La consommation régulière de kéfir de lait limite les réponses IgE et IgG1. Ainsi, par une alteration de la microflora intestinale, nous pouvons atteindre l'objectif de prévention des allergies alimentaires et l'amélioration de la résistance de la muqueuses aux l'infections gastro-intestinales (Ahmed *et al.*, 2013).

Une autre étude à révélé que le kéfir inhibe l'éosinophilie induite par l'ovalbumine dans le tissu pulmonaire et l'hypersécrétion de mucus. En faisant ainsi, le kéfir présente un grand potentiel thérapeutique pour le traitement de l'asthme bronchique allergique (Ahmed *et al.*, 2013).

9- Cicatrisation des plaies :

Une plaie est une blessure physique causée par l'ouverture ou la rupture de la peau. Les plaies sont problématiques pour un grand nombre de patients, puisque plus de six millions de patients souffrent par des maladies chroniques dans le monde/an (Wang *et al.,* 2013). L'application topique d'un gel de kéfir à 70 % a été utilisée pour soigner des plaies cutanées chez un rat Wistar. Le kéfir amélioré la guérison des plaies après le septième jour de l'expérience (Mohamed *et al.,* 2020).

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-1β et du facteur de croissance transformant-β1 (TCF-β1), ainsi que la stimulation du facteur de croissance basique des fibroblastes (bFCF) (Mohamed *et al.,* 2020).

L'effet bactériostatique du kéfir contre la croissance de *Pseudomonas aeruginosa* et *S. aureus* contribué à une cicatrisation plus rapide des brûlures (Mohamed *et al.,* 2020).

10- Effet du kéfir sur l'intolérance au lactose :

Le lait et les produits laitiers contiennent de fortes concentrations de lactose. L'absorption intestinale du lactose nécessite l'hydrolyse de ce disaccharide et son absorption ultérieure dans la muqueuse de l'intestin grêle. Cependant, une partie importante de la population mondiale a des limitations dans la digestion du lactose en raison d'une activité β-galactosidase intestinale insuffisante. Cette enzyme, naturellement présente dans les grains de kéfir lors de la fermentation, rend le produit final adapté aux personnes intolérantes au lactose (Ahmed *et al.,* 2013). De plus, les produits fermentés comme le kéfir se caractérisent par une vidange gastrique retardée, ce qui facilite la digestion du lactose.

Hertzler et Clancy, (2003) ont découvert que la consommation de kéfir, qui est similaire au yaourt, pouvait améliorer la digestion et la tolérance au lactose chez les adultes en bonne santé. Dans cette étude, les yaourts et le kéfir étaient également capables de réduire la gravité des gaz liés au lait de 54 % à 71 %.

Après la période de fermentation, le kéfir présente une réduction de 30 % de la teneur en lactose par rapport au lait non fermenté, ce qui procure un plus grand confort aux personnes intolérantes au lactose. De plus, les enzymes libérées par les micro-organismes lysés peuvent faciliter la digestion du lactose dans l'intestin au même titre que la plupart des préparations probiotiques contenant du bactéries lactiques (Ahmed *et al.,* 2013).

11- Protection contre l'apoptose :

L'exposition aux rayons UV entraîne la production de ROS dans les cellules de la peau et endommage les mélanocytes et d'autres cellules de la peau. Plusieurs autres problèmes peuvent

apparaître : taches de rousseur, taches brunes, taches de vieillesse et taches hépatiques, cancer de la peau et rides sont autant de problèmes qui peuvent apparaître. Ces rayonnements peuvent également provoquer l'apoptose des cellules souches dans l'intestin. Le kéfrankéfir a la capacité de piéger les radicaux superoxydes, ce qui offre une protection contre les dommages causés par les UV (Ahmed *et al.,* 2013).

Dans une autre étude, les chercheurs ont étudié le rôle d'un l'extrait de kéfir sur l'apoptose induite par les UV. Des résultats prometteurs indiquent que l'extrait de kéfir est capable de réparer les dommages de l'ADN causés par les rayons UV et peut supprimer l'apoptose. L'apoptose induite par les rayons X dans le côlon des rats a également été minimisée par l'utilisation du kéfir (Ahmed *et al.,* 2013).

5- Effets bénéfiques du kéfir de l'eau sur la santé :

De nombreuses études ont rapporté des bénéfices nutritionnels pour la santé associés à la consommation régulière du kéfir de lait. Cependant, peu d'études ont examiné si ces avantages pouvaient être transposés au kéfir d'eau. La myriade d'avantages pour la santé associés à la consommation du kéfir de lait anti-inflammatoire, anti-hypertenseur, antioxydant, anti-allergique et anti-cancérigène, effet hypocholestérolémiant, la modulation du glucose plasmatique, ainsi que des effets antibactériens et cicatrisants. En outre, on observe une amélioration de la digestion et de la tolérance au lactose (Rosa *et al.,* 2017).

Cependant, du nombreuses avantages pour la santé associés au lait en tant que tel sont liés aux propriétés et aux effets de la fermentation sur son substrat, le lait, et par conséquent, tout transfert de ces avantages au kéfir d'eau est susceptible d'être discutable. De plus, comme pour les autres boissons fermentées, la plupart des études soutenant les effets bénéfiques du kéfir de lait ont été menées sur des modèles animaux, il y a un grand besoin d'essais cliniques systématiques rigoureux pour soutenir réellement les bienfaits pour la santé (Lynch *et al.,* 2019 ; Rosa *et al.,* 2017). Cependant, tout comme le lait est une source de micro-organismes "probiotiques" potentiellement bénéfiques, il en va de même pour le kéfir d'eau.

La différence de substrat, considérant que dans le lait, de nombreux effets bénéfiques sont associés à l'action fermentaire des bactéries lactiques et des levures, qui produisent des composants bioactifs tels que les polysaccharides et peptides, le fait que le kéfir d'eau soit composé d'un type similaire de microbiote suggère qu'il existe un potentiel pour de tels effets et activités dans ce dernier. L'activité antibactérienne du kéfir de lait à été attribuée à la présence d'acides organiques, de peroxyde d'hydrogène, d'acétaldéhyde, de gaz carbonique et de dioxyde de carbone et de bactériocines produites par la fermentation (Rosa *et al.,* 2017).

Selon Silva *et al.* (2009) ont démontré une activité antimicrobienne pendant la fermentation du kéfir en utilisant des grains de kéfir pour fermenter différentes sources de sucre, à savoir la mélasse, le sucre de table et le sucre brun, qui montré la plus grande activité antimicrobienne contre les micro-organismes suivants : *Candida albicans*, *Salmonella typhi*, *Shigella sonnei, Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. (Silva *et al.*, 2009). L'inhibition du champignon *Aspergillus flavus* par le kéfir d'eau a également été démontrée. Les capacités immuno-

modulatrices et anti-inflammatoires du kéfir de lait sont associées à divers composés bioactifs produits au cours du processus de fermentation (Rosa *et al.*, 2017). Concernant le kéfir d'eau, peu d'études ont examiné son activité immunomodulatrice et anti-inflammatoire. Diniz *et al.* (2003) ont observé une inhibition significative de la formation de tissu granuleux et de l'œdème des pattes chez des rats nourris avec une solution fongique de kéfir d'eau et de grains apparentés.

La capacité antioxydante du kéfir d'eau et des composants issus de micro-organismes (EPS) a également été testée. Alsayadi *et al*. (2013) ont évalué l'activité antioxydante du kéfir d'eau et de son extrait à l'aide de la méthode DPPH, et ont également déterminé l'inhibition de l'auto-oxydation de l'ascorbate et le pouvoir réducteur du kéfir d'eau. De même, une forte activité de piégeage du DPPH a été observée dans les surnageants de culture de kéfir d'eau, en particulier *Acetobacter pasteurianus* (Luang-In *et al.*, 2018). Enfin, il a été rapporté que le kéfir de lait avait un effet hypocholestérolémiant, potentiellement médié par l'action des grains de kéfir BL (par exemple, la liaison et la séquestration du cholestérol ou l'action de l'activité hydrolase des sels biliaires) (Rosa *et al.*, 2017).

De même, il a été démontré par Rocha-Gomes *et al*. (2018) concernant le kéfir d'eau, des rats Wistar nourris avec un régime contenant du kéfir d'eau préparé avec le sucre roux pendant 42 jours, ont montré des profils lipidiques plasmatiques et hépatiques améliorés par rapport au groupe témoin, le kéfir d'eau étant plus efficace que le kéfir de lait.

D'autres composés présents dans le kéfir d'eau et spécifiques à ce dernier ont des effets bénéfiques sur la santé, bien que leur taux dans le kéfir d'eau puisse être faible et donc l'effet négligeable. Par exemple, les EPS produits par bactéries lactiques à partir de saccharose, tels que le dextran et le levan, pourraient potentiellement être prébiotiques (Lynch *et al.*, 2018). Le mannitol, qui peut être produit par certains micro-organismes du kéfir d'eau (par exemple, les espèces de *Leuconostoc*), a un goût sucré et il a été démontré qu'il a une activité antioxydante (Laureys et De Vuyst, 2014).

En fin de compte, les différences dans la méthode de production et les facteurs tels que l'origine du grain, le substrat, la température et le temps de fermentation affecteront les composants et les avantages potentiels pour la santé associés à la consommation du kéfir d'eau. Par exemple, un temps de fermentation prolongé, jusqu'à deux semaines, pourrait être utilisé pour produire une boisson de type vinaigre à partir d'un kéfir d'eau, dont les avantages peuvent être similaires à ceux du vinaigre traditionnel (Lynch *et al.*, 2019).

Chapitre IV Etudes scientifiques récentes

Chapitre IV : Etudes scientifiques récentes

1- Innovation des technologies de fabrication du kéfir :

Actuellement, la plupart des recherches portent sur une variété de nouveaux produits à base du kéfir. Des ressources animales aux ressources végétales ont été développées et commercialisés sous le concept des produits probiotiques.

1-1- Kéfir chamelle/ chèvre/ vache :

Le kéfir est fabriqué en mélangeant d'abord deux types de lait, tels que le lait de chamelle, de chèvre, et de vache (Figure 19), ou en ajoutant des additifs tels que l'inuline naturelle pour améliorer ses effets bénéfiques et sa texture finale (Mohamed *et al.*, 2020).

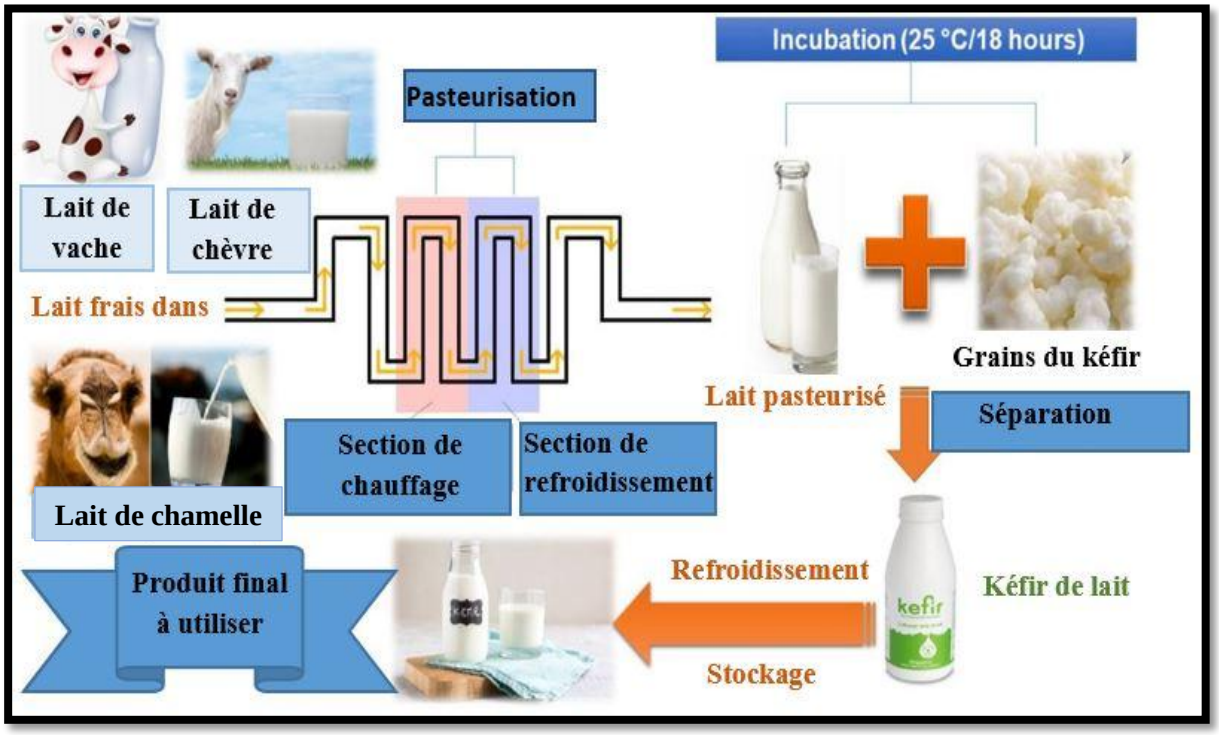

Figure 19 : Illustration représentant la production du kéfir avec différents types de lait (Mohamed et al., 2020).

1-2- Kéfir végétalien :

Ces dernières années, les recommandations médicales et les préférences de style de vie augmenté le choix de produits laitiers. Le but de cette étude était d'évaluer l'importance de l'enrichissement en *Spiruline platensis* dans la production de kéfir végétalien à des concentrations de 0,25% et 0,50%. Les substituts de lait à base des plantes les plus utilisés pour fabriquer du kéfir sont : le lait de soja et lait d'amande.

Le LA et LS sont traitée thermiquement à 85 °C pendant 10 minutes, puis refroidis à 44 °C pendant 10 minutes. Les échantillons ont été inoculés avec une culture de kéfir probiotique à base des plantes et transférés dans des récipients en plastique. L'incubation a été effectuée à 42 °C pour atteindre un pH de 4,5 ± 0,02 puis stockée à 4°C.

L'acidité titrable, le pH la capacité de rétention d'eau et l'analyse microbiologique est mesurés sur des échantillons de kéfir pendant 21 jours. De plus, la couleur, l'activité antioxydante, l'analyse de la teneur totale en phénol et les propriétés rhéologiques à été évaluées. L'augmentation de la concentration de *Spirulina platensis* a augmenté le nombre de *Lactobacillus* et *Lactocoques* et la teneur totale en phénol du kéfir, mais diminué la valeur du pH des échantillons de kéfir. Sur la base des résultats, *Spirulina platensis* peut être considérée comme un ingrédient fonctionnel alimentaire prometteur pour améliorer le potentiel probiotique et la qualité de la bioactive des aliments (Basak Gürbüzetal., 2021).

1-3- Probiotiques dans le fromage :

Il suffit d'utiliser des cultures de kéfir pour faire du fromage probiotique, pour avoire un fromage à partir de lait cru ou de lait pasteurisé avec des cultures probiotiques, les bactéries bénéfiques peuvent ne pas survivre longtemps. L'environnement acide du kéfir signifie que les probiotiques diminuent avec l'âge. En fait, certaines souches de bactéries probiotiques peuvent non seulement survivent dans les fromages vieillis, mais leur nombre peut même augmenter.

1-3-1- Roue fermière :

Le terme "fermier" n'est pas strictement défini dans le monde du fromage. Il est destiné à évoquer de petits lots faits à la main, et cette recette présente les techniques de fabrication de fromage à pâte pressée. Non seulement ce fromage est assez facile à fabriquer (par rapport au cheddar traditionnel), mais il aide également à ajouter des arômes et à rehausser la saveur en raccourcissant la période de vieillissement. Si vous choisissez de mûrir plus longtemps, vous devriez vous renseigner sur les options de vieillissement pour les fromages amateurs (Gianaclis, 2020).

Les ingrédients utilisés pour cette fabrication (Gianaclis, 2020) sont :

- 2 gallons de lait entier.
- ¼ de cuillère à café du poudre lyophilisé ou ¼ de tasse du kéfir frais.
- ¼ de cuillère à café de chlorure de calcium dilué dans ¼ tasse d'eau fraîche (facultatif ; suggéré pour le lait homogénéisé acheté en magasin).
- 2 cuillères à café de flocons de piment fort ou de bourgeons de lavande, ou quelques gouttes de l'huile de truffe (facultatif).
- ⅛ cuillère à café de thé double force ou ¼ de cuillère à café de présure simple diluée juste avant utilisation dans ¼ de tasse d'eau fraîche et non chlorée.
- 2 cuillères à soupe de sel pur (comme le sel de mer ou tout autre sel non iodé sans antiagglomérants ajoutés).

1-3-2- Fromage blanc :

Le fromage blanc est un fromage frais à pâte molle fermentée classé dans la catégorie des fromages coagulés par la présure acide. Dans cette étude, des matières premières alternatives telles que le kéfir et le babeurre.

Le kéfir et le babeurre préparés (voir chapitre 2) ont été utilisés séparément pour fabriquer du fromage blanc. Les valeurs de pH pour le kéfir et le babeurre sont respectivement de 4,31 et 4,33. De plus, les solides totaux sont respectivement de 17,33% et 14,95% pour la même matière première. 0,01% (v/v) de présure a été ajouté à chaque matière première, chacune divisée en deux parties et l'effet du traitement thermique à 35°C et 100°C a été_évalué. Les échantillons ont été maintenus à 35 ° C et 100 ° C pendant 16 et 22 heures pour la formation du coagulum, et chacun a été rapidement refroidi à 4 ° C avant que le lactosérum ne soit retiré avec une étamine à fromage. La filtration de l'échantillon a été effectuée jusqu'à l'arrêt de la formation de gouttelettes d'eau (Figure 20) (Akal, TürkmeN, Özturkoglu-Budak, 2020).

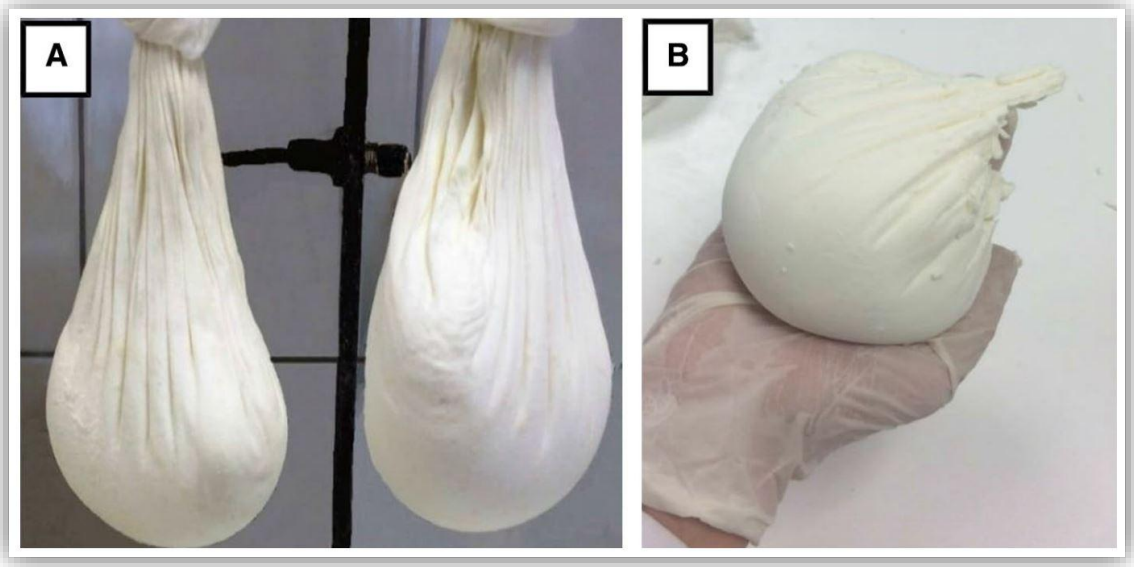

Figure 20 : Production de fromage blanc (A : Egouttage et élimination de la phase sérique, B : Echantillon égoutté) (Akal, TürkmeN, Özturkoglu-Budak, 2020).

1-4- Production des glaces avec le kéfir comestible :

La demande croissante des consommateurs pour des aliments différenciés qui non seulement remplissent leur fonctions de base, mais offrent également des avantages pour la santé des consommateurs a conduit au développement de nouveaux aliments. Un produit surgelé innovant à base du kéfir de lait avec la pulpe du jabuticaba et de fraise a été dévleppé.

Pour la production de crème glacée comestible l'aération du lait concentré et le lait fermenté à base du kéfir pendant 5 minutes, en utilisant un mélangeur industriel (MBBraesi ®). Ensuite, la pulpe de jabuticaba et de fraise ont été ajoutés, puis aération pendant encore 10 minutes (Tableau IX). De colorant alimentaire rouge (Arcolor ®) et des sucres cristal ont été incorporés dans la recette, l'homogénéisation a été effectuée par mélange manuel. Le produit ensuite à été congelé à -4 °C ± -2 °C pendant 10 heures. Après cette période, le mélange a été à nouveau aéré et congelé pendant 2 heures supplémentaires à la même température de congélation, afin de rendre le produit plus crémeux (Figure 21) (Gislaine *et al.*, 2019).

Tableau IX : Ingrédients utilisés dans la préparation de la crème glacée au kéfir comestible avec l'ajout de pulpe de jabuticaba et de fraise (Gislaine *et al.*, 2019).

Ingrédients	%
Lait fermenté	57,0
Lait concentré	30
Pulpe de fruits de Jabuticaba	6,0
Pulpe de fraise	6,0
Sucre cristal	0,7
Colorant rouge (Arcolor ®)	0,03

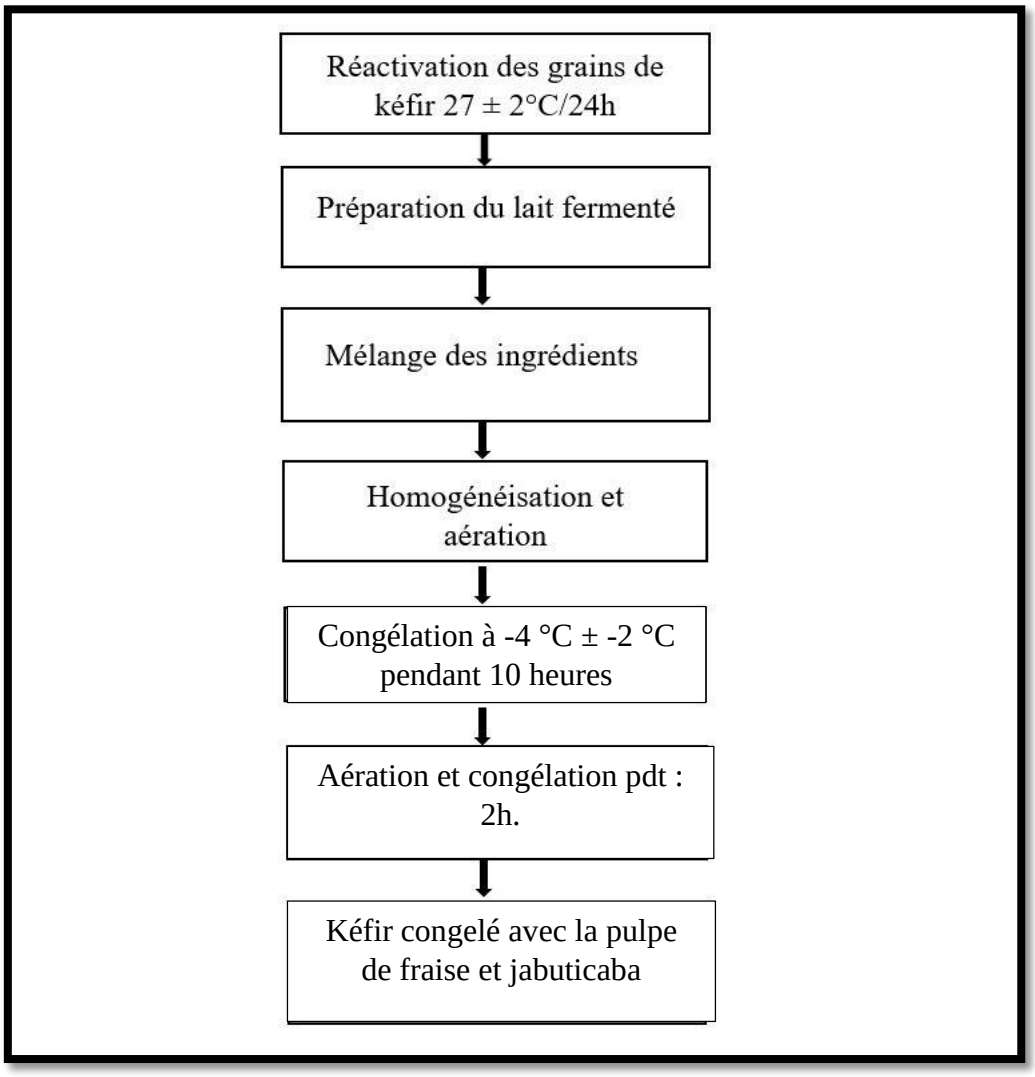

Figure 21 : Diagramme de la production des glaces au kéfir comestible avec de la pulpe jabuticaba et de la fraise (Gislaine Hermanns *et al.*, 2019).

Un programme de service communautaire pour l'innovation en matière d'emballage et de fermentation de produits locaux du groupe d'agriculteurs de Kania a été mené. L'objectif était d'habiliter le groupe d'agriculteurs de Kania Diary à innover en matière de produits de fermentation du lait, l'introduction des données nutritionnelles sur le kéfir et la production d'un produit bien emballé. Ses méthodes étaient les suivantes d'un emballage intéressant. Le produit contient une bonne nutrition comme 35 calories par portion de 50 g et suffisamment de protéines, de lipides et de glucides.

Un bon emballage peut augmenter les ventes de produits, réduire le niveau des stocks, ce qui permet une meilleure rentabilité. Bien sûr, l'étiquette contient le nom du produit, les informations nutritionnelles, notre identité, le slogan et le bénéfice. L'avantage d'une bonne

étiquette contenant des informations détaillées et précises sur le produit peut avoir un impact significatif sur la confiance du client dans l'achat des produits. Enfin, un bon emballage peut augmenter les ventes des produits, ce qui se traduit par une plus grande rentabilité (Annisa *et al.*, 2020).

1-5- Sucettes glacées :

Le fameux cocktail sucré que l'on peut rechercher. Ce sont des glaces saines, crémeuses et sucrées sur un bâton, pour les différencier complètement de la crème glacé populaire ou commerciale en bâtonnet, il y a des choses que les deux n'ont pas des probiotiques.

Exomples du priparation des sucettes glacées : Combinez tous les ingrédients (ex : ½ tasse de kéfir d'eau, ½ tasse de lait de coco, 2 tasses de purée d'ananas, ¼ de tasse de miel brut, pincée de sel) dans un robot culinaire ou un mixeur, et mélangez jusqu'à obtenir une consistance lisse. Versez le mélange lisse dans des moules à glace et mettez-les au congélateur pendant une heure. Insérez les bâtonnets à glace et remettez-les au congélateur. Congeler pendant environ 6 heures ou toute la nuit, jusqu'à ce que chaque moule soit complètement ferme. Au moment de servir, retirer du congélateur et laisser reposer pendant environ 5 minutes avant de démouler les sucettes glacées (Sarah, 2015).

1-6- Gélatine :

Lorsque vous êtes déjà en train de mettre en bouteille du kéfir d'eau aromatisé aux fruits et gazéifié, faire des collations de gélatine pour les combiner avec des fruits. Il suffit de mélanger les fruits avec une portion du kéfir d'eau, combiner le mélange avec de la gélatine plus le kéfir, verser une bonne quantité de miel pour le rendre plus sucré, refroidir jusqu'à ce qu'il soit gélifié (Sarah, 2015).

2- Limites et sécurité du kéfir de lait ou de l'eau :

Le kéfir est reconnu comme une excellente source de probiotique en raison de sa valeur potentielle pour la santé, mais il existe certaines limites sur la consommation de kéfir. Ces limites sont principalement dues à la teneur en alcool, cela se produit lors de la fermentation des grains de kéfir. Bien que cette teneur en alcool soit faible, elle est déconseillée aux enfants, aux femmes enceintes et à ceux qui ne souhaitent pas consommer d'alcool (Elke *et al.*, 2021).

Les changements sensoriels doivent également être pris en compte, car l'acceptation du consommateur est un facteur essentiel. En raison de l'acidité bien connue du kéfir et de sa consommation inacceptable dans la nature, il a été démontré que l'ajout de composés bioactifs à partir d'ingrédients tels que les fruits et le miel améliore les propriétés sensorielles de cette boisson fonctionnelle (Barros *et al.*, 2021).

De plus, le kéfir défies la standardisation en raison de ses diverses propriétés, et tout le monde n'est pas disposé ou capable de consommer des boissons dans le cadre d'un régime

probiotique. Une équipe de scientifiques à Taïwan a créé du kéfir à mâcher avec une activité probiotique élevée, élargissant les possibilités pour les consommateurs de profiter des bienfaits du kéfir pour la santé et aidant à résoudre les problèmes de commercialisation du kéfir (Nielsen *et al.,* 2014).

Le contrôle de la qualité du kéfir et les problèmes de sécurité sont toujours associés à l'industrie laitière. Cependant, peu d'attention a été accordée à l'utilisation sûre du kéfir. Il y a peu d'informations dans la littérature sur les niveaux de sécurité de la consommation de kéfir, la quantité à consommer et le temps qu'il faut pour ressentir les bienfaits pour la santé. L'hémolyse est un facteur de virulence commun pour les agents pathogènes, l'activité hémolytique bactérienne étant le premier paramètre de sécurité évaluée in vitro. La sensibilité aux antibiotiques est une autre caractéristique de sécurité importante (Leite *et al.,* 2015),

Chez les rats Wistar, la supplémentation en kéfir à une dose normale (0,7 mL/jour/animal) et à une dose élevée (3,5 mL/jour/animal) pendant 4 semaines n'a pas montré d'effets nocifs sur les animaux, tels que déterminés par la croissance des rats, l'hématologie et la chimie du sang, ainsi qu'une pathogénicité potentielle dans les tissus. Ces résultats montrent clairement que la dose normale et la dose élevée du kéfir peuvent être consommées sans danger. Les résultats soulignent, qu'aucun dommage n'ait été observé dans la muqueuse en raison de la dose élevée de consommation du kéfir, la dose normale est recommandée en raison des effets bénéfiques les plus prononcés (Rosa *et al.,* 2014).

Il est important de noter que le kéfir d'eau est principalement une boisson à base de sucre (saccharose), les producteurs doivent être attentifs aux niveaux de sucre résiduel dans le produit final, ce qui, étant donné les effets néfastes de la consommation de sucre sur la santé et les préoccupations particulières liées à la surconsommation de boissons sucrées, doit être faible, d'autant plus que ces produits sont souvent commercialisés comme des boissons diététiques (Lustig, 2013).

Conclusion

Conclusion :

Le kéfir est un produit laitier éthnique populaire qui fait l'objet d'un développement constant, qui est fabriqué à partir de différents types de lait (lait de vache, de chèvre, de chamelle, de bufflonne, de jument) il est généralement fermenté ou additionné d'additifs pour améliorer les propriétés du produit final. Une autre façon de produire du kéfir est de faire fermenter les grains de kéfir sans lait avec une solution de sucre brut ou de sucre de fruits et légumes. Ce produit s'appelle kéfir sucré. Ces divers procédés de fabrication affectent non seulement l'appétence, mais aussi les propriétés physico-chimiques du kéfir et ses bienfaits pour la santé.

Le kéfir est une boisson obtenue à la suite de la fermentation des grains de kéfir dans le lait ou dans l'eau avec des fruits. Les deux grains probiotiques utilisés dans la production de kéfir ont des compositions microbiennes différentes et produisent des métabolites fermentaires différents, mais avec quelques similitudes. Les deux semblent avoir une relation symbiotique stable entre les bactéries et les levures, et les deux forment une matrice physique qui maintient les micro-organismes ensemble. Le kéfir de lait et le kéfir d'eau sont tous utilisés pour fermenter les hydrates de carbone afin de fabriquer leurs propres boissons. La proportion de micro-organismes dans un genre particulier varie légèrement entre les deux grains.

Le type de lait utilisé, les grains de kéfir et les conditions de fermentation (durée et température) doivent être surveillés pendant la production, car des modifications de ces variables peuvent affecter la composition chimique et microbiologique du kéfir. La littérature compilée dans ce mémoire fait la lumière sur certains composants les plus remarquables évalués à l'aide d'analyses chimiques et sensorielles.

Le kéfir de lait a une longue histoire de propriétés bénéfiques pour la santé et d'importantes recherches sont en cours sur cette culture unique. Le kéfir d'eau est également un aliment probiotique fermenté aux propriétés prometteuses pour la santé. Les probiotiques créent de nombreux avantages pour la santé tels que les effets antibactériens et antiviraux, immunitaires, anticancérigènes et hypocholestérolémiants du kéfir, expliquant pourquoi les personnes intolérantes au lactose peuvent prendre du kéfir. La consommation régulière d'aliments probiotiques serait bénéfique pour la santé.

Enfin, des recherches scientifiques récentes se sont intéressées au mélange de deux types de lait pour améliorer la qualité de produit final et à l'utilisation de ressources végétales telles que le lait de soja et d'amende pour fabriquer du kéfir de lait. L'innovation des produits fermentés continue ces dernières années, en utilisant les produits primaires kéfir de lait et kéfir d'eau pour avoir un produit à base du kéfir, dans le but d'attirer le consommateur et aussi d'améliorer la durée de conservation du kéfir.

Références bibliographiques

Références bibliographiques :

1- Abraham.A.G et De Antoni. G.L. (1999) Characterization of kefir grains grown in cows' milk and in soya milk. Journal of Dairy Research. Centro de Investigacio Un y Desarrollo en Criotecnologõua de Alimentos, 47 y 116, 1900 La Plata, Argentina. 66, 327-333.

2- Ahmed. Z, Wang. Y, Ahmad. A, Khan. ST, Nisa. M, Ahmad. H et Afreen. A. (2013) Kefir and health: a contemporary perspective. Crit Rev Food Sci 53:5, 422–434. DOI:10.1080/10408398.2010.540360.

3- Ailton Cesar Lemes, Daiane Costa dos Santos , Joana da Costa Ores, Josemar Gonçalves de Oliveira Filho, Katiuchia Pereira Takeuchi, Mariana Buranelo Egea. (2020) A review of nondairy kefir products:their characteristics and potential human health benefits, Critical Reviews in Food Science andNutrition. DOI:10.1080/10408398.2020.1844140.

4- Akal. H. C, Türkmen. N, Ozturkoglu-Budak. N. (2020) Use of kefir and buttermilk to produce an innovative quark cheese. J Food Sci Technol. DOI : 10.1007/s13197-020-04516-0.

5- Alais. C. (1984) Sciences du lait : Principes des techniques laitières-4e éd- Paris SEPAIC 814p.

6- Alais. C. (1975) Sciences du lait. Principes des techniques laitières. 3e Edition Sepaic, Paris 29, 807 p.

7- Alex Lewin and Raquel Guajardo. (2017) Kombucha, Kefir, and Beyond. Digital edition published in 2017 Library of Congress Cataloging-in-Publication Data is available ISBN: 978-1-59233-738-5.

8- Allen. J, Grieco. (1989) Savoir de poète ou savoir de botaniste ? Les fruits dans la poésie italienne du XVe siècle [article] 1989 16-17 pp. 131-146.

9- Alsayadi. M, Al Jawfi. Y, Belarbi. M, Sabri. F.Z. (2013) Antioxidant potency of water kefir J. Microbiol. food Sci. 2, 2387 – 2391.

10- Andrade. T.U, Porto. M.L, Filete. P.F, Abdalla. D.S.P, Lima. E.M, Pereira. T.M.C, Meyr elles. S.S, Lenz. D, Vasquez. E.C, Santanna. A.F, *et al.* (2016) Chronic administration of the soluble, nonbacterial fraction of kefir attenuates lipid deposition in LDLr −/− mice. Nutrition 2016, 35, 100–105.

11- Angulo. L, Lopez.E et Lema. C. (1993) Microflora present in kefir grains of the Galician region (North-West of Spain). Microbiologia, Facultad de C'iencias, Universidad de Vigo, Apartado 874, 36200 Vigo, Espana. J. Dairy Res. 60,263-267. DOI: 10.1017/S002202990002759X.

12- Annisa Wulan Agus Utami, Dina Dyah Saputri, Meilisha Putri Pertiwi, Rita Istiana, Susi Sutjihati. (2020) Packaging Innovation of Local Product Fermentation of Kania Dairy Farmers Group in Tajur Halang Village, Cijeruk, Bogor. International Journal of Quantitative Research and Modeling Vol. 1, No. 2, pp. 84-92.

13- Anonyme EriKa. (2022) Le kéfir du fruit. [En ligne]. Accessible sur Internet : <https://fr.m.wikipedia.org/wiki/k A9fir %C3% _de_fruit>. Consulté le 10 Mai 2022.

14- Arnworth.E.R. (2005) Kefir a complexprobiotic.FoodSci.Technol.Bull.Funct. Foods. 2,1-17.

15- Arzu. A. B, Lutfiye. Y, Tulay. Ö. Y. (2006) The sensory characteristics of berryflavoured Kefir, Department of Food Engineering, Faculty of Agriculture, Uludag University, Görükle, Bursa, Turkey. Vol. 24, No. 1: 26–32.

16- Asif. A, Asma. A, Halma. A, Mehrum. N, Salman. T, Yanping. W, Zaheer. A. (2013) Kefir and Health: A Contemporary Perspective, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, To link to this article: 53:5, 422-434. DOI:10.1080/10408398.2010.540360.

17- Athéna Zourari, E.M. Anifantakis. (1988) Le kéfir. Caractères physico-chimiques, micro-biologiques et nutritionnels. Technologie de production. Une revue. Le Lait, INRA Editions, 68(4), 373-392.

18- Barros Susy Érika de Lima, Caique dos Santos Rocha, Mayara Storel Beserra de Moura, Mariana Pegrucci Barcelos, Carlos Henrique Tomich de Paula da Silva and Lorane Izabel da Silva Hage-Melim. (2021) Potential beneficial eff ects of kefir and its postbiotic, kefiran, on child food allergy. Food Funct., 12, 3770–3786. DOI: 10.1039/d0fo03182h.

19- Basak Gürbüz, Didem Sozeri Atik, Esra Bolük, Ibrahim Palabıyık. (2021) Development of vegan kefir fortified with Spirulina platensis. Department of Food Engineering, Tekirdag Namık Kemal University, Tekirdag, Turkey. Food Bioscience 42,101050.

20- Bottazzi. V, Bianchi. F. (1980) A note on scanning electron microscopy of microorganisms associated with the kefir granule. Journal of Applied Bacteriology. 48, 265-268.

21- Brialy. C, Rivalland. P, Coiffard. L, *et al.* (1995) Microbio-logical study of lyophilized dairy kefir. Folia Microbiol 40,198 – 200.

22- 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.

23- Brule. G. (1987) Le lait matière première de l'industrie laitière. CEPIL-INRA. Paris. 132p.

24- Cerna. J et Hrabova. H. (1982). Possibilities of biological enrichment of fermented milk beverage with vitamins. XXI Int Dairy Congr 1, Book-1. pp. 278–279. Mirror Publication, Moscow. 17.

25- Chen. Z, Shi. J, Yang. X, Nan. B, Liu. Y, Wang. Z. (2015) Chemical and physical characteristics and antioxidant activities of the exopolysaccharide produced by Tibetan kefir grains during milk fermentation. Int. Dairy J. 2015, 43, 15–21.

26- Chen. H.C, Wang S.Y. et Chen M.J. (2008) Microbiological study of lactic acid bacteria in kefir grains by culture-dependent and culture-independent methods. Food Microbiol. 25,492-501.

27- Claire L Boulangé, Jelle De Medts, Jonas Ghyselinck, Lynn Verstrepen, Marta Calatayud, Massimo Marzorati, Pieter Van den Abbeele, Rosa Aragao Börner, Sami Damak.,Sarah Priour. (2021) Water Kefir and Derived Pasteurized Beverages Modulate Gut Microbiota, Intestinal Permeability and Cytokine Production In Vitro. DOI :10.3390/nu13113897.

28- Corona. O, Randazzo. W, Miceli. A, Guarcello. R, Francesca. N, Erten. H, Moschetti. G, Settanni. L. (2016) Characterization of kefir-like beverages produced from vegetable juices. LWT - Food Sci. Technol. 66, 572–581. DOI; 10.1016/j.lwt.2015.11.014.

29- Costa. M. R. D, E. R. D. Alencar, E. D. Santos Leandro, M. A. Mendonça, and W. F. D. S. Ferreira. (2018) Characterization of the kefir beverage produced from yam (Colocasia esculenta L.), sesame CRITICAL REVIEWS IN FOOD SCIENCE AND NUTRITION 13 seed (Sesamum indicum L.) and bean (Phaseolus vulgaris L.) extracts. Journal of Food Science and Technology 55:4851–8.

30- Coté. G.L, Skory. C.D, Unser. S.M, Rich. J.O. (2013) The production of glucans via glucansucrases from Lactobacillus satsumensis isolated from a fermented beverage starter culture. Appl. Microbiol. Biotechnol. 97, 7265–7273. DOI: 10.1007/s00253-0124606-y.

31- De Moreno De Leblanc. Z. A, Matar. C, Farnworth. E, and Perdigo. G. (2007) Study of immune cells involved in the antitumor effect of kefir in a murine breast cancer model. J. Dairy Sci. 90:1920–1928.

32- De Oliveira Leite. A.M, Miguel. M.A, Peixoto. R.S, *et al.* (2013) Microbiological, technological and therapeutic propertiesof kefir: a natural probiotic beverage. Braz J Microbiol 44,341–349.

33- De Roissart. H. et Luquet. F. M. (1994) Bactéries Lactiques : Aspects fondamentaux et technologiques, Volume II, Lorica.

34- Destro. T. M, D. D. F. Prates, L. S. Watanabe, S. Garcia, G. Biz, and W. A. Spinosa. (2019) Organic brown sugar and jaboticaba pulp influence on water kefir fermentation. Ci^encia e Agrotecnologia 43: e005619. DOI: 10.1590/1413-7054201943005619.

35- Diniz, R. O., F. F. Perazzo, J. C. T. Carvalho, and J. M. Schneenedorf. (2003) Atividade antiinflamatioria de quefir, um probiotico da medicina popular [Anti-inflammatory activity of kefir, a probiotic in folk medicine. Revista Brasileira de Farmacognosia]. 13:19–21. Doi: 10.1590/S0102-695X2003000300008.

36- Dos Santos. D. C, J. G. De Oliveira Filho, A. C. A. Santana, B. S. M. De Freitas, F. G. Silva, K. P. Takeuchi, and M. B. Egea. (2019) Optimization of soymilk fermentation with kefir and the addition of inulin: Physicochemical, sensory and technological characteristics. LWT - Food Science and Technology 104:30–7. 31.

37- Elke K. Arendt, Luk Daenen, Kieran M. Lynch, Stuart Wilkinson. (2021) An update on water kefir: Microbiology, composition and production. International Journal of Food Microbiology 345,109-128.

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

39- Farnworth. E.R. (2005) Kefir à Complex Probiotic. Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods, 2 (1), 1–17.

40- Fiorda. F. A, G. V. De Melo Pereira, V. Thomaz-Soccol, A. P. Medeiros, S. K. Rakshit, and C. R. Soccol. (2016) Development of kefir-based probiotic beverages with DNA protection and antioxidant activities using soybean hydrolyzed extract, colostrum and honey. LWT - Food Science and Technology 68:690–7.

41- Fiorda. F. A, G. V. De Melo Pereira, V. Thomaz-Soccol, S. K. Rakshit, M. G. B. Pagnoncelli, L. P. D. S. Vandenberghe, and C. R. Soccol. (2017) Microbiological, biochemical, and functional aspects of sugary kefir fermentation - A review. Food Microbiology 66:86–95. DOI : 10.1016/j.fm.2017.04.004.

42- Francois Mariotti, Francoise Rul, Hélène Eutamène, Kamel-Eddine El Mecherfi, Sylvie Lortal *et al*. (2020) Aliments fermentés and bénéfices santé: un défi pour la recherche. Cahiers de Nutrition et de Diététique, Elsevier Masson, 55 (33), pp.136-148. DOI :10.1016/j.cnd.2020.02.004. hal-02936312.

43- Fredot. E. (2006) Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. Tec et Doc. Lavoisier. 25:397p.

44- Fuller. R. (1992) Probiotics: the scientific basis. Chapman and Hall, London, p 1.

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

46- Garbers. I.M, Britz. T.J. & Witthuhn. R.C. (2004) PCR-based denaturing gradient gel electrophoretictypification and identification of the microbial consortium present in kefir grains. World J. Microbiol. Biotechnol. 20, 687-6931.

47- Gianaclis Caldwell. (2020) Homemade yogurt & kefir: 71 recipes for making & using probiotic-rich ferments.

48- Gislaine Hermanns, Joseana Severo, Leidi Daiana Preichardt, Lidia Betina Hendges Pletsch. (2019) Gelado comestivel de kefir adicionado de polpa de jabuticabae morango: Kefir ice cream with jabuticaba and strawberry pulp. Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora, v. 74, n. 1, p. 39-50.

49- Gronnevik. H, Marit. F. Judith. A. Narvhus. (2011) Microbiological and Chemical Properties of Norwegian Kefir During Storage International Dairy Journal, (1), 1-6.

50- Guo. Z, Liu. X.M, Zhang. Q.X, *et al.* (2011) Influence of consumption of probiotics on the plasma lipid profile: ameta-analysis of randomised controlled trials. Nutr Metab Cardiovasc Dis 21,844 – 850.

51- Guzel-Seydim. Z.B, Wyffels. J.T, Seydim. A.C. et Greene. A.K. (2005) Turkish kefir and kefir grains: microbial enumeration and electron microcopic observation. Int. J. Dairy Technol. 58, 25-29.

52- Guzel-Seydim. Z.B, Seydim. A.C, et Greene. A.K. (2003) Comparison of amino acid profiles of milk, yoghurt and Turkish Kefir. Milchwiss 58:158–160.

53- Hertzler. S.R et Clancy. S.M. (2003) Kefir improves lactose digestion and tolerance in adults with lactose maldigestion.J Am Diet Assoc 103, 582 – 587.

54- Hüseyin. E, Giancarlo. M, Luca. S, Maria. A, Nicola. F, Onofrio. C, Rosa. G, Walter. R. (2016) Development of new non-dairy beverages from Mediterranean fruit juices fermented with water kefir microorganisms, journal homepage: www.elsevier.com/locate/fm,54,40-51.

55- Irigoyen. A, Arana. I, Castiella. M, Torre. P, F.C. Ibanez. (2004) Microbiological, Physicochemical, and Sensory Caracteristics of Kefir During Storage. Food Chemistry (90) 613–620.

56- Ismaiel. A.A, Ghaly. M.F, El-Naggar. A.K. (2011) Some Physicochemical Analyses of Kefir Produced Under Different Fermentation Conditions. NISCAIR-CSIR, India (70) 05: 365-372.

57- Jakob. F, Pfaff A, Novoa-Carballal. R, Rübsam. H, Becker. T, Vogel. R.F. (2013) Structural analysis of fructans produced by acetic acid bacteria reveals a relation to hydrocolloid function. Carbohydr. Polym.

58- Jalali. F, Sharifi. M, Salehi. R. (2016) Kefir induces apoptosis and inhibits cell proliferation in human acute erythroleukemia. Med Oncol. 33(1):7.

59-Jaouen. J. (1986) Composition du lait de chèvre et de nombreux facteurs.153p.

60- Kneating. K. (1985) The role of cultured dairy products in the prevention of stomach cancer. Cultured Dairy Products J. 20:13–14.

61- Koroleva. N. S. (1988a) Technology of kefir and kumys.IDF Bull., 227: 96-100.29.

62- Koroleva. N.S. (1988b) Technology of kefir and kumys. Fermented Milks – Science and Technology, Document No. 227, pp. 35–40 & 96–100, International Dairy Federation, Brussels.

63- Lacrosse. R. (1981) Le kéfir, boisson lactée fermentée. Lait Nous 4, 7-9.

64- Lasa. I. (2006) Towards the identification of the common features of bacterial biofilm development. Int. Microbiol. 9, 21-28.

65- Laureys. D, Aerts. M, Vandamme. P, De Vuyst. L. (2018) Oxygen and diverse nutrients influence the water kefir fermentation process. Food Microbiol. 73, 351–361.

66- Laureys. D, Aerts. M, Vandamme. P, De Vuyst. L. (2019) The buffer capacity and calcium concentration of water influence the microbial species diversity, grain growth, and metabolite production during water kefir fermentation. Front. Microbiol. 10, 2876.

67- Laureys. D, Cnockaert. M, De Vuyst. L, Vandamme.P. (2016) Bifidobacterium aquikefiri sp. nov., isolated from water kefir. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 66, 1281–1286.

68- Laureys. D, De Vuyst. L. (2014) Microbial species diversity, community dynamics, and metabolite kinetics of water kefir fermentation. Appl. Environ. Microbiol. 80, 2564–2572. DOI :10.1128/AEM.03978-13.

69- Laureys. D, Van Jean. A, Dumont. J, De Vuyst. L. (2017) Investigation of the instability and low water kefir grain growth during an industrial water kefir fermentation process. Appl. Microbiol. Biotechnol. 101, 2811–2819. DOI :10.1007/ s00253-016-8084-5.

70- Leite. A.M.O, Miguel. M.A.L, Peixoto. R.S, Paschoalin. V.M.F, Mayo. B. (2015) Probiotic potential of selected lactic acid bacteria strains Isolated from Brazilian Kefir grains. J. Dairy Sci. 98, 3622–3632.

71- Libudzisz. Z. et Piatkiewicz A. (1990) Kefir production in Poland. Dairy Ind. Int. 55, 31-3.

72- Lin. C.W, Chen. H.L. & Liu. J.R. (1999) Identification and characterisation of lactic acid bacteria and yeasts isolated from kefir grains in Taiwan. Aust. J. Dairy Technol. 54 (1), 14-18

73- Lipatov. N.N. (1978) Fermented milks other than yoghurt. A lecture. XX 1nt. Dairy Congr., Sessions Scientifiques et Techniques, ST 43, 15 pp.

74- Liu. J.R, and C. W. Lin. (2000) Production of kefir from soymilk with or without added glucose, lactose, or sucrose. Journal of Food Science 65 (4):716–9.

75- Liut Kevicius. A, and Sarkinas, A. (2004) A Studies on the growth conditions and composition of kefir grains as a food and forage biomass. Dairy Science Abstracts 66:903.

76- Luang-In. V, Saengha. W, Yotchaisarn. M, Halaslova. M, Udomwong. P, Deeseenthum. S. (2018) Microbial strains and bioactive exopolysaccharide producers from Thai water kefir. Microbiol. Biotechnol. Lett. 46, 403 – 415. DOI: 10.4014/mbl.1804.04019.

77- Luquet F.M. (1986) Lait et les produits laitiers : vache, brebis, chèvre. ED.TEC et DOC. Lavoisier, paris, T 3 , 445P. Lavoisier. Paris 307p.

78- Luquet. F.M et Corrieu. G. (2005) Bactéries lactiques et probiotiques. Edition Tec et Doc, Lavoisier. Paris 307p.

79- Lustig. R.H. (2013) Fructose: It's"Alcohol Without the Buzz." Adv. Nutr. DOI: 10.3945/an.112.002998.

80- Lynch. K.M, Zannini. E, Coffey. A, Arendt. E.K. (2018) Lactic Acid Bacteria Exopolysaccharides in Foods and. Isolation, Properties, Characterization, and Health Benefits. Annu. Rev. Food Sci. Technol, Beverages. DOI:10.1146/ annurev-food-030117012537.

81- Lynch. K.M, Zannini. E, Wilkinson. S, Daenen. L, Arendt. E.K. (2019) Physiology of acetic acid bacteria and their role in vinegar and fermented beverages. Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. Doi:10.1111/1541-4337.12440.

82- Magalhães. K.T, Melo Pereira. G.V, Campos. C.R, Dragone. G, Schwan. R.F. (2011) Brazilian Kefir; Structure, Microbial Communities and Chemical Composition Brazilian Journal of Microbiology, (42), 693-702.

83- Mainville. I, Robert. N, Lee. B, Farnworth. E.R. (2006) Polyphasic characterization of the lactic acid bacteria in kefir. Syst. Appl. Microbiol. 29, 59-68.

84- Marquina. D, Santos. A, Corpas. I, Muroz. J, Zazo. J, and Peinado. J. M. (2002) Dietary influence of kefir on microbial activities in the mouse bowel. Lett. Appl. Microbiol. 35:136–140.

85- Marsh. A.J, OSullivan. O, Hill. C, Ross. R.P, Cotter. P.D. (2013) Sequence-based analysis of the microbial composition of water kefir from multiple sources. FEMS Microbiol. Lett. 348, 79–85. DOI :10.1111/1574-6968.12248.

86- Marshall. V.M. et Cole. W.M. (1985) Methods for making kefir and fermented milks based on kefir. Journal of Dairy Research, 52, 451–456.

87- Marshall. V.M, Cole.W .M. & Brookerb. E. (1984) Observations on the structure of kefir grains and the distribution of the microflora. Journal of Applied, Bacteriology 51, 491-497.

88- Marth. E, and Yousef. A.E. (1991) Fungi and dairy products. In Handbook of Applied Mycology, Vol. 3. Ed. D.K. Arora, K.G. Mukerji, and E.H. Marth. New York: Marcel Dekker.

89- 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.

90- Medrano. M, Pérez. P. F et Abraham. A. G. (2009) Kefiran protects Caco-2 cells from cytopathic effects induced by Bacillus cereus infection. Antonie van Leeuwenhoek 96:505–513. 19.

91- Metchnikoff. É. (1908) The prolongation of life: optimistic studies. In: Mitchell PC (ed) Arnopress, literature of death and dying, 1977th edn. The Knickerbocker Press, New York. microbiologiques et nutritionnels. Technologie de production. Une revue. Le Lait, INRA Editions, 68(4), pp. 373-392.

92- Misbah asmae. (2014) production du kefir 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.

93- Mohamed. A. Farag, Suzan A. Jomaa, Aida Abd El- Wahed, and Hesham R. El- Seedi. (2020)The Many Faces of Kefir Fermented Dairy Products: Quality Characteristics, Flavour Chemistry, Nutritional Value, Health Benefits, and Safety. Review, Nutrients, 12, 346. DOI :10.3390/nu12020346.

94- Molska. I, Kocon. J. & Zmarlicki. S. (1980) Electron microscopy studies on structures and microfl ora of kefi r grains. Acta Alimentaria Polonica, 6, 145–154.

95- Murofushi. M, Shiomi. M, and Aibara. K. (1983) Effect of orally administered polysaccharide from kefir grain on delayed-type hypersensitivity and tumor growth in mice. Jpn. J. Med. Sci. Biol. 36:49–53.

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

97- Nielsenet. B, G. Candan Gurakan, Gulhan Unlu. (2014) Kefir: A Multifaceted Fermented Dairy Product Probiotics & Antimicro. Prot. 6:123–135. DOI 10.1007/s12602-014-9168-0.

98- Nikolaou, A., A. Tsakiris, M. Kanellaki, E. Bezirtzoglou, K. Akrida-Demertzi, and Y. Kourkoutas. (2019) Wine production using free and immobilized kefir culture on natural supports. Food Chemistry 272:39–48.

99- Oda. M, Hasegawa. H, Komatsu. S, Kambe. M. et Tsuchiya. F. (1983) Anti-tumor polysaccharide from Lactobacillus sp. Agricultural and Biological Chemistry, 47, 1623–1625.

100- Oliveira. R. M. S. F, F. G. Silva, D. C. Santos, M. F. Feitosa, S. S. Cardoso, and M. B. Egea. (2019) A maior produçao de _alcool utilizando biomassa de kefir acontece em condiçoes de anaerobiose [The largest alcohol production using kefir biomass occurs under anaerobic conditions]. Proceedings of the 8_ Congresso de Pesquisa e P_os-Graduaçao do Campus Rio Verde, 9_ Semin_ario de Avaliaçao dos Programas de P_os-Graduaçao do IF Goiano, Rio Verde, Brazil.

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

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

103- Pidoux. M. (1989) The microbial flora of sugary kefir grain (the gingerbeer plant): biosynthesis of the grain from Lactobacillus hilgardii producing a polysaccharide gel. MIRCEN J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 5, 223–238. Doi :10.1007/ BF01741847.

104- Pidoux. M, Brillouet. J.M, Quemener. B. (1988) Characterization of the polysaccharides from a Lactobacillus brevis and from sugary kefir grains. Biotechnol. Lett. 10, 415–420. Doi:10.1007/BF01087442.

105- Pintado. M.E, Da Sylva. L.J.A, Fernandes. P.B, Malcata. X. et Hogg. J.A. (1996) Microbiological and rheological studies on Portuguese kefir grains. Int. J. Food Sci. Technol. 31, 15-26.

106- Powell. J.E. (2006) Bacteriocins and bacteriocin producers present in kefir and kefir grains. MSc Food Science, University of Stellenbosch.

107- Ramparany Soafaratiana. (2008) Mise au point d'une technique de production de kéfir lacté a madagascar. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur Agronome. Spécialisation : Industries Agricoles et Alimentaires. 102 pp.

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

109- Rattray. F.P, O'Connell. M.J. (2011) Fermented milk – kefir. In: Encyclopedia of Dairy Science. Elsevier Ltd., pp. 518–524.

110- Rea. M.C, Lennartsson. T, Dillon. P, Drinan. F.D, Reville. W.J, Heapes. M et Cogan. T.M. (1996) Irish kefir-like grains: their structure, microbial composition and fermentation kinetics. J. Appl. Bact. 81, 83-94.

111- Rocha-Gomes. A, Escobar. A, Soares. J.S, da Silva. A.A, Dessimoni-Pinto. N.A.V, Riul. T.R. (2018) Chemical composition and hypocholesterolemic effect of milk kefir and water kefir in Wistar rats. Rev. Nutr. 31, 137 – 145.

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

113- Rosa. D.D, Dias. M.M.S, Grześkowiak. Ł.M, Reis. S.A, Conceiçao. L.L, Peluzio. M.D.C.G. (2017) Milk kefir: nutritional, microbiological and health benefits. Nutr. Res. Rev. Doi :10.1017/S0954422416000275.

114- Rosa. D.D, Grześkowiak. Ł.M, Ferreira. C.L, Fonseca, A.C.M, Reis. S.A, Dias. M.M, Si queira. N.P, Silva. L.L, Neves. C.A, Oliveira. L.L, Machado. A.B. (2016) Kefir reduces in ulin resistance and inflammatory cytokine expression in an animal model of metabolic syndro me. Food Funct. 7, 3390–3401.

115- Rosa. D.D, Peluzio. M. do C.G, Bueno. T.P, Canizares. E.V, Miranda. L.S, Dorbignyi. B. M, Dubi. D.C, Castano. I.E, Grzeskowiak. LM, Ferreira. C.L. de L.F. (2014) Evaluation of the subchronic toxicity of kefir byoral administration in wister rats. Nut Hosp. 29, 1352-1359.

116- Ruas-Madiedo. P, Hugenholtz. J et Zoon. P. (2002). An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. Int. Dairy J. 12, 163-171.

117- Sabokbar. N, Khodaiyan. F, Moosavi Nasab. M. (2015) Optimization of processing conditions to improve antioxidant activities of apple juice and whey based novel beverage fermented by kefir grains. J. Food Sci. Technol.52, 3422–3432.

118- Sarah Young. (2015) Water Kefir Handbook, Water Kefir Recipes : Step-by-Step Instructions Health Benefits and More Effets défavorables sur la santé. All rights reserved.

119- Sarikkha. P, Nitisoravut. R, Poljungreed. I. (2015) Identification of bacteria and yeast communities in a Thai sugary kefir by Polymerase Chain Reaction-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (PCR-DGGE) analyses. J. Ind. Technol. 11.

120- Schoevers. A et Britz. T.J. (2003) Infl uence of different culturing conditions on kefir grain increase. International Journal of Dairy Technology, 56, 183–190.

121- Seo. M.K, Park. E.J. Ko. S.Y, Choi. E.W, 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.

122- Sharifi. M, Moridnia. A, Mortazavi. D, Salehi. M, Bagheri. M, Sheikhi. A. (2017) Kefir: a powerful probiotics with anticancer properties. 34:183. DOI: 10.1007/s12032-017-1044-9

123- Silva. K.R, Rodrigues. S.A, Filho. L.X, Lima. ´A.S. (2009) Antimicrobial activity of broth fermented with kefir grains. Appl. Biochem. Biotechnol.152, 316- 325.

124- 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. DOI :10.1038/sj/jim/7000186.

125- Singh P.K, Shah N.P. (2017) Ther fermented dairy products: Kéfir and koumiss. Guru Angad Dev Veterinary & Animal Sciences University (GADVASU), Ludhiana, India; The University of Hong Kong, Pok Fu Lam, Hong Kong. 87-106 pp.

126- Takizawa. S, Kojima. S, Tamura. S, Fujinaga. S, Benno. Y et Nakase. T. (1998) The composition of the lactobacillus flora in kefir grains. System. Appl. Microbiol. 21, 121-127.

127- Tamine Y.A, Muir D.D, Wszolek M et Barclay M.N.I. (2001) Properties of kefir made in Scotland and Poland using bovine, caprine and ovine milk with different starter cultures. Lebensm.-Wiss. u.-Technol. 34, 251-261.

128- Tamime. A.Y, Kupiec-Teahan. B, Skov Guldager. H et Wszolek. M. (2006) Production of Kefir, Koumiss and Other Related Products. In: Tamime, AY (ed.), Fermented Milk Blackwell Science Ltd , Oxford, UK, p.174-216.

129- Ulusoy. B, Colak. H, Hampikyan. H, et al. (2007) An in vitro study on the antibacterial effect of kefir against some food-borne pathogens. Turk Soc Clin Microbiol 37, 103 – 107.

130- Van Hijum. S.A.F.T, Kralj. S, Ozimek. L.K, Dijkhuizen. L, van Geel-Schutten. I.G.H. (2006) Structure-function relationships of glucansucrase and fructansucrase enzymes from lactic acid bacteria. Microbiol. Mol. Biol. Rev. DOI :10.1128/mmbr.70.1.157176.2006.

131- Van Wyk. J. (2019) Kefir: The Champagne of Fermented Beverages. In. Fermented Beverages, 473–527.

132- 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.

133- Vignola. C.L. (2002) Science et technologie de lait -Transformation de lait ; Ed. Ecole polytechnique de matériel Québec, 600p.

134- Vinderola. C.G, Duarte. J, Thangavel. D, Perdigon. G, Farnworth. E, et Matar. C. (2005) Remote-site stimulation and duration of the immune response by kefir. Eur. J. Inflamm. 3:63–73.

135- Vinderola. C.G, Medici. M et Perdigon. G. (2004) Relationships between interaction sites in the gut, hydrophobicity, mucosal immunomodulating capacities and cell-wall protein profiles in lactic acid bacteria. J. Appl. Microbiol. 96:230–243.

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

137- Waldherr. F.W, Doll. V.M, Meibner. D, Vogel. R.F. (2010) Identification and characterization of a glucan-producing enzyme from Lactobacillus hilgardii TMW 1.828 involved in granule formation of water kefir. Food Microbiol. 27, 672–678.

138- Wang. Y.Y, Li. H.R, Jia. S.F, Wu. Z.J et Guo. B.H. (2006) Analysis of bacterial diversity of kefir grains by denaturing gradient gel electrophoresis and 16S rDNA sequencing. Wei Sheng Wu Xue Bao, 46, 310-313.

139- Wang. R, Lechtenberg. M, Sendker. J, Petereit. F, Deters. A, Hensel. A. (2013) Wound-healing plants from TCM: In vitro investigations on selected TCM plants and their in fl uenceon human dermal fi broblasts and keratinocytes. Fitoterapia, 84, 308-317.

140- Wang. T, Y. Lu, H. Yan, X. Li, X. Wang, Y. Shan, Y. Yi, B. Liu, Y. Zhou et X. Leu. (2020) Fermentation optimization and kinetic model for high cell density culture of a probiotic microorganism: Lactobacillus rhamnosus LS-8. Bioprocess and Biosystems Engineering 43 (3):515-28. DOI: 10.1007/s00449-019-02246-y.

141- Witthuhn. R.C, Schoeman. T et Britz. T. (2004) Isolation and characterization of the microbial population of different South African kefir grains. Int. J. Dairy Technol. 57, 33-37.

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

143- Wong. B, Kruse. G, Kutikova. L, Ray. K.K, Mata. P, Bruckert. E. (2016) Cardiovascular disease risk associated with familial hypercholesterolemia: a systematic review of the literature. Clin. Ther. 38, 1696-1709. 21.

144- Xu. D, Behr. J, Geißler. A.J, Bechtner. J, Ludwig. C, Vogel. R.F. (2019) Label-free quantitative proteomic analysis reveals the lifestyle of Lactobacillus hordei in the presence of Sacchromyces cerevisiae. 294, 18-26. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2019.01.010.