

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ DJILALI LIABES DE SIDI BEL ABBES



FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DÉPARTEMENT DES SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT

Mémoire

De fin d'étude pour l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la nature et de la vie (S.N.V)

Filière : Biotechnologies

Spécialité : Biotechnologies et valorisation des plantes

Intitulé du thème :

***ANALYSES PHYSICOCHIMIQUES ET BIOLOGIQUE DU LAIT DE
KÉFIR***

Présenté par : Mlle. **BOUZIZA Fatima Zohra**

Mlle. **CHABBI Nour El Houda**

Mémoire soutenu devant l'honorable jury composé de :

Président de jury : **Mme. TOUMI Fawzia**

Examineur : **Mlle. BENNABI Faiza**

Promoteur : **Mme. MOUMEN Faiza**

Co-Promoteur : **M. BENYAMINA Abdelfettah**

Année universitaire 2019-2020

Session « 01 »

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ
الْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي
خَلَقَ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضَ
وَالَّذِي جَعَلَ الْمَوْتَ
وَالْحَيَاةَ وَالَّذِي يَحْيِي
الْمَوْتَى وَالَّذِي يُخْرِجُ
الْحَيَاةَ مِنَ الْمَوْتِ
وَالَّذِي يُخْرِجُ
الْحَيَاةَ مِنَ الْمَوْتِ
وَالَّذِي يُخْرِجُ
الْحَيَاةَ مِنَ الْمَوْتِ

Dédicace

*Avec l'aide de Dieu, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie À :
Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien,
tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son
assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi
modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle
gratitude.*

*Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années
de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse
Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs
nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.*

*J'espère que Dieu vous donne la longue vie et la bonne santé, je vous
aime énormément*

*Mon frère **Abdou** et mes chères cousines, vous occupez une place
particulière dans mon cœur. Je vous souhaitant un avenir radieux, plein
de bonheur et de succès*

*Ma chère tante, mes oncles **Mohamed** et **Ali** et mes cousins, merci pour
votre prière et encouragement*

*Mes très chères amies et sœurs **Houda** & **Samia***

*Ceux qui ont plus particulièrement assuré le soutien affectif de ce
travail*

Mes camarades de la promotion : 2019-2020



Bouziza Fatima Zohra

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, 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 et mon cher père MOHAMED
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.*

Ainsi à ma chère sœur ATIKA et à mes chers

frères ABDELKADER et ILIAS.

Et à mes meilleures copines FATIMA ZOHRRA et FARAH

A toutes ma famille et mes amies.

A toute la promotion 2020.

CHABBI NOURELHOUDA



Remerciement

Au terme de ce travail, On tient à remercier Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour achever ce travail.

Tout d'abord nous remercions Madame **TOUMI FAWZIA** Professeur à l'université de Sidi Bel Abbés d'avoir accepté de présider le jury de ce travail.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à

Madame **BENNABI FAIZA** qui a également accepté d'examiner ce travail

Nous remercions tout particulièrement Madame **MOUMEN FAIZA** en tant qu'encadrante, et notre Co-encadreur monsieur **BENYAMINA ABDEFETTAH** d'avoir accepté de diriger et orienter ce travail de recherche, ainsi pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'il a bien voulu nous consacrer et sans lui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.

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.



DEDICACE.....	I
DEDICACE.....	II
REMERCIEMENT.....	III
SPMMAIRE.....	IV
LISTE DES TABLEAUX.....	VI
LISTE DES FIGURES.....	VII
LISTE DES ABRVIATION.....	VIII
RESUME.....	IX
ABSTRACT.....	X
المُلخَص.....	XI

INTRODUCTION.....	1
-------------------	---

CHAPITRE I : MEDECINE TRADITIONNELLE

1 MEDECINE TRADITIONNELLE :	3
1.1DEFINITIONS :.....	3
2 MEDECINE TRADITIONNELLE EN PRATIQUE :	4
2.1MODES D'ACQUISITION DES SAVOIRS TRADITIONNELS :.....	4
2.2ACTEURS DE LA MEDECINE TRADITIONNELLE :.....	4
2.2.1 <i>Les tradipraticiens de santé</i>	4
2.2.2 <i>Les chercheurs en médecine traditionnelle :</i>	5
2.2.3 <i>Les partenaires de la médecine traditionnelle :</i>	5
3 LA MEDECINE TRADITIONNELLE DANS LE MONDE :	5
3.1MEDECINE TRADITIONNELLE EN EUROPE :.....	5
3.2MEDECINE TRADITIONNELLE EN AFRIQUE :.....	6
3.3MEDECINE TRADITIONNELLE EN ALGERIE :.....	7

CHAPITRE II : KEFIR

1 LE KEFIR.....	9
1.1GENERALITE SUR LE KEFIR.....	9
1.2GRAINE DE KEFIR.....	10
1.2.1 <i>Structure de graine de kéfir</i>	10
1.3MICROFLORE DES GRAINS DE KEFIR.....	12
1.3.1 <i>Composition microbienne qualitative des grains de kéfir</i>	12
1.3.2 <i>Composition microbienne quantitative des grains de kéfir</i>	13
1.4LA COMPOSITION CHIMIQUE.....	14
1.5PREPARATION TRADITIONNELLE DU KEFIR.....	14
1.6COMPOSITION DU LAIT FERMENTE.....	15
1.6.1 <i>Acides organiques</i>	15
1.6.2 <i>Lactose</i>	15

1.6.3 Composés aromatisants	16
1.6.4 Protéines, matière grasse et acide linoléique conjugué	16
1.6.5 Alcool et CO ₂	16
2 KEFIR ET SANTE	17
2.1 LA VALEUR NUTRITIONNELLE ET LES PROPRIETES THERAPEUTIQUES DU KEFIR	17
2.2 SES EFFETS SUR L'INTOLERANCE AU LACTOSE	17
2.3 LES CARACTERISTIQUES ANTIMICROBIENNES DU KEFIR	18
2.4 L'EFFET SUR LE SYSTEME IMMUNITAIRE.....	18
2.5 EFFETS ANTITUMORAUX ET ANTICANCERIGENES	19
2.6 EFFETS ANTIDIABETIQUES	20
2.7 REDUCTION DU CHOLESTEROL	20

CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES

1 ATTENTION DE LA SOUCHE DU KEFIR	22
2 LIEU D'ETUDE	22
3 CULTURE DE KEFIR ET PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS	22
4 METHODES D'ANALYSES.....	23
4.1 ANALYSES PHYSIQUES	23
4.1.1 Couleur	23
4.1.2 Odeur et saveur	23
4.1.3 Densité.....	24
4.2 ANALYSES CHIMIQUES.....	24
4.2.1 Détermination de l'acidité en degré Dornic.....	24
4.2.2 Dosage des phénols totaux	25
4.3 ANALYSE BIOLOGIQUE (DENOMBREMENT DES GERMES TOTAUX)	25

CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION

1 PROPRIETE PHYSIQUE	27
1.1 COULEUR	27
1.2 SAVEUR	27
1.3 DENSITE.....	27
2 PROPRIETE CHIMIQUE	29
2.1 ACIDITE TITRABLE EN DEGRE DORNIC	29
2.2 DOSAGE DES COMPOSES PHENOLIQUES	30
3 PROPRIETE BIOLOGIQUE (DENOMBREMENT DES GERMES TOTAUX).....	31
CONCLUSION.....	ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.3

Liste Des Tableaux

Tableau 1 : Résultats du dénombrement des germes totaux 32

Liste Des Figures

Figure 1 : Illustration de grains de kéfir ; a : grain en forme de "feuille» ; b : grain en forme de "feuille enroulée» ; c & d : grain de forme non défini ; e & f : grain en forme de "chou-fleur"	11
Figure 2 : Aspect physique des grains de kéfir frais.....	11
Figure 3 : Illustration d'un grain de kéfir en grossissement de 7000 X.....	11
Figure 4 : Mise en culture des graines de kéfir	22
Figure 5 : lait de kéfir (24h, 48h, 72h)	23
Figure 6 : Couleur obtenue au point d'équilibre	25
Figure 7 : Procédure de dilutions	26
Figure 8 : ensemencement des dilutions sur le milieu GN.....	26
Figure 9 : Incubation des boites	27
Figure 10 : Evolution de la densité.....	28
Figure 11 : Bulles de gaz dans le lait.....	29
Figure 12 : Evolution de l'acidité	30
Figure 13 : Evolution de la concentration des composés phénoliques (mg EAG/L)	31

Liste Des Abréviations

°C : Degré Celsius

D° : Degré Dornic

FAO : Food and Agriculture Organisation

LAB : Lactic Acid Bacteria

N : Normalité

OMS : Organisation Mondial de la Santé

SPC : Standard Plate Count

UFC/ml : Unité Formant Colonie par millilitre

UHT : Ultra Haute Température

UV/VIS : ultraviolet-visible

Le kéfir est un lait fermenté traditionnel qui véhicule la réputation d'être bénéfique à la santé.

L'objectif de ce travail est d'analyser l'évolution de la qualité du lait du kéfir en fonction du temps de la fermentation. Les paramètres étudiés sont les propriétés physico-chimiques et microbiologiques.

Afin d'atteindre cet objectif nous avons fermenté le lait par une souche de grains du kéfir pendant trois périodes différentes (24h, 48h et 72). Après l'écoulement de chaque période, on note le changement des saveurs et on mesure la densité. L'acidité a été mesurée en degré Dorique par titrimétrie et les composés aromatiques ont été dosés par spectrophotométrie. L'évolution de la flore totale a été déterminée par la numération standard sur plaque après des incubations à 37°C pendant 24h.

Les résultats ont révélé une différence considérable de saveur entre les échantillons des différentes périodes, ainsi qu'une diminution de densité. Les analyses chimiques ont révélé que l'acidité titrable augmente en fonction de la durée de fermentation et la teneur en composés phénoliques a été très faible. Quant à la charge microbienne, elle a été de 6,1.10⁵ UFC/ml pour le lait de kéfir (24h), et nulle dans le lait de 48h et de 72h.

Mots clés : Lait fermenté, Grain de kéfir, analyses physico-chimiques, analyses microbiologiques.

Kefir is a traditional fermented milk that carries a reputation for being beneficial to health.

The objective of this work is to analyse the evolution of the quality of kefir milk as a function of the fermentation time. The parameters studied are the physico-chemical and microbiological properties.

In order to achieve this goal we fermented the milk with a strain of kefir grains for three different periods (24h, 48h and 72). After each period has elapsed, the change in flavour is noted and the density is measured. The acidity was measured in Doric degrees by titrimetry and the aromatic compound were determined by spectrophotometry. The evolution of the total flora was determined by the standard plate count after incubation at 37°C for 24 hours.

The results showed a considerable difference in flavour between samples from different periods, as well as a decrease in density. Chemical analyses revealed that titratable acidity increases with the duration of fermentation and the content of phenolic compounds was very low. As for the microbial load, it was $6.1.10^5$ CFU/ml for kefir milk (24h), and zero in milk of 48h and 72h.

Key words : Fermented milk, kefir grain, physico-chemical analyses, microbiological analyses.

الكفير هو حليب مخمر تقليدي له سمعة بأنه مفيد للصحة

الهدف من هذا العمل هو تحليل تطور جودة حليب الكفير حسب فترات التخمر. التحاليل التي تمت دراستها هي الخصائص الفيزيوكيميائية والميكروبيولوجية. من اجل تحقيق هذا الهدف قمنا بتخمير الحليب بسلالة من حبوب الكفير لمدة ثلاث فترات مختلفة (24 ساعة و48 ساعة و72). بعد انقضاء كل فترة، نقوم بملاحظة وتسجيل أي تغيير في النكهة، كما نقوم بقياس الكثافة. تم قياس الحموضة بواسطة المعايرة وتم تحديد المركبات الفينولية باستخدام نموذج تجريبي يعتمد على قياس الطيف الضوئي. تم تحديد إجمالي الحمولة الميكروبية من خلال العدد القياسي للحمولة بعد الحضانة عند 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة

أظهرت النتائج فرقا كبيرا في النكهة بين العينات من فترات مختلفة، وكذلك انخفاض في الكثافة. كشفت التحاليل الكيميائية أن حموضة المعايرة تزداد مع مدة التخمر ومحتوى المركبات الفينولية كان منخفضاً جداً. أما الحمولة الميكروبية فقدت ب 6.1 10^5 وحدة / ملل في عينة 24 سا ومنعدمة في حليب 48 ساعة و72 ساعة.

الكلمات المفتاحية: الحليب المخمر، حبوب الكفير، التحاليل الفيزيائية الكيميائية، التحاليل الميكروبيولوجية

Introduction

L'histoire de la culture et de la civilisation humaine est centrée sur la gestion et l'utilisation des ressources qui l'entourent. Depuis l'aube de la civilisation humaine, les ressources, en particulier les bioressources, ont été utilisées par diverses communautés humaines. Les premiers hommes cherchaient les meilleurs aliments nutritifs pour avoir une longue vie saine et sans maladie dans leur environnement. Cet effort a abouti à la sélection d'un grand nombre de produits alimentaires par les communautés humaines qui vivaient dans différentes parties du monde (Sreedevi et al., 2013)

Aujourd'hui, l'homme porte un grand intérêt pour l'étude des remèdes populaires et la recherche de nouveaux médicaments issus de la pharmacopée traditionnelle. Le nombre d'aliments et d'ingrédients alimentaires dont il a été prouvé ou dont on pense qu'ils ont des effets bénéfiques sur la santé et la prévention des maladies augmente chaque jour. À l'heure actuelle, la quantité de preuves scientifiques qui ont été recueillies, examinées par des pairs et publiées pour étayer ces allégations est faible dans la plupart des cas. En conséquence, la plupart des organismes de réglementation de la santé ont été réticents à accorder une "reconnaissance officielle" des propriétés thérapeutiques ou prophylactiques de divers les aliments et les ingrédients alimentaires. Le kéfir est, à bien des égards, typique des produits qui sont sur le chemin à l'acceptation par les communautés médicales, scientifiques et réglementaires.

Dans cette optique nous sommes intéressés, d'une part, à réaliser des fermentations du lait par les grains de kéfir pendant quelques jours, et d'autre part, suivre la variation de certains paramètres physique (Couleur, Saveur et Densité), paramètres chimiques (Acidité et métabolites secondaires) et l'analyse de la flore totale. Cette démarche expérimentale est mise en place afin apprécier l'évolution de la qualité du lait de kéfir, du fait que cette dernière aura beaucoup d'effets potentiels sur le consommateur, tout en sachant que ce produit devient de plus en plus populaire au sein de notre société.

Dans ce manuscrit, Les données bibliographiques sont présentées dans la première partie. Le premier chapitre est sur la médecine traditionnelle, le second chapitre est consacré à présenter des généralités sur le kéfir tous en mettant l'accent sur ses bienfaits du sur notre santé. La deuxième partie porte sur la démarche expérimentale, on a commencé dans le premier chapitre par décrire le matériel et l'ensemble des méthodes utilisées dans notre étude. Les

Introduction

étapes suivies dans l'exploitation des résultats ainsi que leur discussion sont présentées dans le deuxième chapitre. Une conclusion générale et des perspectives sont enfin données.

Chapitre I

Médecin Traditionnelle

1 Médecine traditionnelle :

1.1 Définitions :

Selon l'organisation mondiale de santé la médecine traditionnelle englobe diverses pratiques, démarches, connaissances et croyances en matière de santé dont les médicaments à base de plantes, animaux et/ou minéraux, les thérapies spirituelles, les techniques manuelles et exercices, appliqués individuellement ou combinés, pour maintenir le bien-être et traiter, diagnostiquer ou prévenir la maladie. **(Choi Seung-hoon, 2007)**

La médecine traditionnelle est une notion large qui déborde le champ de la santé et implique directement le social, le religieux, le politique, et l'économique. Les comportements humains se manifestent à travers des pratiques, des usages, des savoirs et des savoir-faire fortement marqués par leur composante socioculturelle et sont transmis de génération en génération. La médecine traditionnelle reflète la mémoire de générations, de cultures qui se transmettent avec le temps à travers les échanges. **(Epelboin, 2002)**

La médecine traditionnelle peut être définie comme étant la science et les pratiques explicables ou non, utilisées dans le diagnostic, la prévention et le rétablissement de l'équilibre physique, mental ou social. Elle repose exclusivement sur l'expérience pratique et l'observation. **(Lasme-Guillao, 2011)**

Avec les richesses de la technologie moderne, comme en synthèse, pharmacologie, la pharmacodynamie, ainsi que la diversité biologique, la chimio diversité et les grandes percées en des techniques ou des concepts évolutifs combinés avec une richesse de connaissances sur les produits naturels, il sera possible d'établir une grande bibliothèque de composés pour le dépistage des drogues. Cela permettra d'améliorer les possibilités de traitement individuel et de prévention des maladies. L'humanité doit apprendre d'avantage des produits naturels et les médecines traditionnelles. **(Yuan et al., 2016)**

La science et la civilisation se sont développées grâce au langage. De même, la médecine traditionnelle a été développée depuis des milliers d'années avec ses propres termes. Cependant, les conditions historiques ont donné naissance à diverses expressions de la médecine traditionnelle. Ses caractéristiques subjectives ont même intensifié ses diversités. Bien que la médecine traditionnelle puisse être définie avec des caractères indigènes, sa terminologie devrait être normalisée pour l'usage moderne. Une terminologie internationale normalisée accélérera considérablement les communications scientifiques dans les sociétés de

Médecine. C'est le tout premier pas vers la mondialisation de la médecine traditionnelle.

(Choi Seung-hoon, 2007)

2 Médecine traditionnelle en pratique :

2.1 Modes d'acquisition des savoirs traditionnels :

La médecine traditionnelle est un ensemble de savoirs et de savoir-faire, acquis par l'observation et l'expérience pratique, transmis de génération en génération oralement, rarement par écrits. En pratique, il faut considérer l'art traditionnel de se soigner, comme un ensemble de connaissances empiriques, acquises soit : par la famille, par l'apprentissage de plusieurs années auprès de guérisseurs compétents, en dehors du cercle familial, Ou par l'achat d'une recette jugée efficace pour le traitement d'une affection donnée. Ces recettes peuvent être acquises aussi par la promotion faite par des personnes qui ont été formées en médecine naturelle à l'étranger, ce qui est le cas de nos jours. Certains tradipraticiens ont acquis leur savoir, au terme d'un long périple à la recherche d'un remède contre une maladie dont ils ont souffert eux-mêmes pendant plusieurs années, ou par auto-apprentissage dans des livres, ou par des recherches personnelles. (Boumediou and Addoun, 2017)

2.2 Acteurs de la médecine traditionnelle :

La médecine traditionnelle est un domaine pluridisciplinaire et plurisectoriel. On peut classer ses acteurs en trois groupes :

2.2.1 Les tradipraticiens de santé

Ils peuvent avoir plusieurs compétences :

- **Phytothérapeutes** : Ils utilisent uniquement les vertus préventives et curatives des plantes pour soigner les maladies. Actuellement, il existe des formations en phytothérapie pour les médecins.
- **Herboristes** : Ils connaissent les usages des substances médicinales, d'origine essentiellement végétale et assurent leur vente à ceux qui ont en besoin.

- **Accoucheuses traditionnelles :** Elles procèdent aux accouchements et prodiguent à la mère et au bébé, des soins traditionnels qui sont reconnus et en vigueur dans leur collectivité.
- **Guérisseurs :** Ce sont des thérapeutes traditionnels qui traitent par des méthodes extra-médicales. Ils sont capables de diagnostiquer les affections et de prescrire les plantes médicinales appropriées. Ils acquièrent leur pouvoir par initiation et par transmission.
- **Rebouteux :** Ils guérissent par des procédés empiriques les luxations, les fractures, les entorses et les douleurs articulaires. (Boumediou and Addoun, 2017)

2.2.2 Les chercheurs en médecine traditionnelle :

Ce sont les scientifiques et les chercheurs de différentes facultés, UFR (Unité de Formation et de Recherche) et instituts (Sciences, Médecine, Pharmacie, Institut National de Santé Publique). Certains chercheurs se spécialisent dans le domaine de la médecine traditionnelle (les sociologues, les ethnosociologues, les anthropologues, les juristes et les économistes). (Boumediou and Addoun, 2017)

2.2.3 Les partenaires de la médecine traditionnelle :

De nombreuses personnes s'intéressent à la médecine traditionnelle : ce sont des financiers, des spécialistes des médias. De même des organisations internationales et non gouvernementales apportent leur soutien au développement de la médecine traditionnelle. (Boumediou and Addoun, 2017)

3 La médecine traditionnelle dans le monde :

3.1 Médecine traditionnelle en Europe :

La médecine traditionnelle européenne remonte à l'époque de la culture égyptienne et babylonienne-assyrienne. Les fondements de la culture babylonienne-assyrienne de la médecine reposait sur l'idée que la maladie était une punition divine et la guérison une purification. Les maladies ont été causées par des démons qui ont dû être expulsés par exorcisme). La médecine a atteint une place fixe en l'idéologie religieuse, dans la purification

du péché par la pénitence, appelée catharsis, qui a été prise par le christianisme. Environ 3000 ans avant J.-C., Les Sumériens ont développé un système d'écriture cunéiforme qui leur permettait d'écrire sur des tablettes d'argile. Sur le site l'époque du roi Assurbanipal 2000 ans avant J.-C. à la première "materia medica" complète a été écrite contenant environ 250 médicaments d'origine végétale et 120 drogues minérales. (Vogel, 1991)

Au même moment, dans la vallée du Nil, l'Égyptien la culture s'est développée. A ensuite considéré d'être une déesse, a vécu vers 2600 avant J.-C. Le célèbre papyrus Ebers a été écrit vers 1500 av. J.-C., mesurant plus de 20 m de long, décrivant plus de 700 médicaments dans plus de 800 formulations Les médicaments étaient tirés de les plantes, les animaux et les minéraux, mais les médicaments d'origine botanique prédominent pour l'usage interne, certains d'entre eux étant encore utilisés à notre époque, comme l'ail et les semences de pavot. (Vogel, 1991)

La culture égyptienne et assyrienne a été reprise par les Grecs et plus tard par les Romains .Le créateur mythologique de la materia medica grecque était Apollon. Herbes Le médicament a été identifié à Chiron le Centaure. Dans la légende, on trouve que Chiron a enseigné aux Asclépios ses connaissances pharmaceutiques sur les plantes médicinales. Asclépios est devenu le dieu le plus célèbre de la santé, aidé par ses deux filles, Hygeia et Panacea. Plus tard sur, dans les temps historiques, des philosophes grecs tels que Empedocle, Aristote et Pythagore, tous autour de 500 avant J.C, a influencé la médecine de façon considérable. Ils ont créé la théorie des quatre éléments qui ont été proposés pour être les composantes de tous les la matière, y compris l'animal et l'homme Ces quatre éléments étaient l'eau, l'air, le feu et La Terre.

La médecine européenne a été influencée par la médecine arabe, principalement par le médecin Ali Ibn Sina, qui est connue en Europe sous le nom Avicenne. Ses livres ont été traduits en latin et son Canon médicinale a influencé la médecine européenne pour siècles. De plus, il est considéré comme le fondateur de la médecine Unani. (Vogel, 1991)

3.2 Médecine traditionnelle en Afrique :

La médecine traditionnelle africaine est la plus ancienne, et peut-être la plus assortie, de tous les systèmes thérapeutiques. L'Afrique est considérée d'être le berceau de l'humanité avec un riche patrimoine biologique et une diversité culturelle marquée par des différences

régionales en matière de guérison pratique. La médecine traditionnelle africaine dans ses diverses est holistique et implique à la fois le corps et l'esprit.

Le guérisseur traditionnel diagnostique et traite généralement les le fondement psychologique d'une maladie avant de prescrire des médicaments, en particulier des plantes médicinales pour traiter les symptômes. (Vogel, 1991)

L'intérêt soutenu pour la médecine traditionnelle dans le système de santé africain peut être justifié par deux raisons majeures. La première est l'accès insuffisant aux médicaments allopathiques et aux formes occidentales de traitement, la majorité des Africains n'ayant pas les moyens d'accéder aux soins médicaux modernes, soit parce qu'ils sont trop coûteux, soit parce qu'il n'y a pas de prestataires de services médicaux. La seconde est l'absence de traitement médical modéré efficace pour certaines maladies comme le paludisme et/ou le VIH/SIDA, qui, bien qu'étant de distribution mondiale, affectent l'Afrique de manière disproportionnée par rapport aux autres régions du monde. (Vogel, 1991)

La médecine traditionnelle la plus courante en commun sur le continent africain est l'utilisation de médicaments plantes. Dans de nombreuses régions d'Afrique, les plantes médicinales sont une ressource sanitaire facilement accessible à la communauté. En outre, elles sont le plus souvent l'option préférée des patients. Pour la plupart de ces personnes, les guérisseurs traditionnels offrent des informations, des conseils et des traitements aux patients et leurs familles de manière personnelle ainsi que d'avoir une compréhension de l'environnement de leur patient. En effet, l'Afrique a la chance de posséder d'énormes ressources en biodiversité et on estime qu'il contient entre 40 et 45 000 espèces de plante ayant un potentiel de développement et dont 5 000 espèces sont utilisées à des fins médicales. Ce n'est pas surprenant puisque l'Afrique est située dans la zone tropicale et subtropicale et il est connu que les plantes accumulent d'importants métabolites secondaires au cours de leur évolution en tant que les moyens de survivre dans un environnement hostile, parce que de ses conditions tropicales, l'Afrique a une part de forts rayons ultraviolets du soleil tropical et de nombreux les microbes pathogènes, y compris plusieurs espèces de bactéries, des champignons, et des virus, ce qui suggère que les plantes africaines pourraient accumuler plus de substances chimio-préventives que les plantes de l'hémisphère nord. (Vogel, 1991)

3.3 Médecine traditionnelle en Algérie :

L'Algérie par sa position biogéographique offre une très grande diversité écologique et floristique, estimé à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, dont 15%

sont endémiques et restent très peu explorées, autant d'un point de vue phytochimique que d'un point de vue pharmacologique. **(Daira et al., 2016)**

Par sa superficie étendue et son climat diversifié, l'Algérie possède une flore variée, donc une source de matière médicale riche et abondante. D'autre part, par son histoire et sa position stratégique, l'Algérie a bénéficié de différentes cultures : berbère, gréco-romaine et islamique.

Une importante connaissance de la matière médicale végétale et minérale, utilisée actuellement en médecine traditionnelle algérienne, trouve son origine dans l'héritage médical de la civilisation musulmane, transmise de générations en générations. **(Cheriti et al., 2005)**

En Algérie, les plantes occupent une place importante dans la médecine traditionnelle, qui elle-même est largement employée dans divers domaines de santé. Des publications anciennes et récentes révèlent qu'un grand nombre de plantes médicinales sont utilisées pour le traitement de nombreuses maladies. **(Hammiche and Maiza, 2006)**

Dans les grandes villes, il existe des herboristes, essentiellement au niveau des marchés et leurs étals sont fréquentés par un large public qui va de l'adepte assidu, convaincu des bienfaits des médecines douces, au patient indigent, en quête d'un traitement accessible. Souvent, la clientèle est attirée par la personnalité du vendeur. En effet, certains herboristes ont l'assurance du thérapeute, n'hésitent pas à faire référence à des ouvrages internationaux (d'Europe, d'Amérique, ou du Moyen-Orient); ils délivrent oralement, de véritables ordonnances, avec posologie, durée de traitement et voie d'administration. **(Hammiche et al., 2013)**

Chapitre II

Kéfir

1 Le kéfir

1.1 Généralité sur le kéfir

Le kéfir est un lait fermenté, acide et alcoolisé, produit principalement à partir des laits de vache, de brebis ou de chèvre à l'aide de « grains de kéfir ». La région d'origine de cette boisson est le sud du Caucase où on la prépare jusqu'à nos jours, sous des noms très variés. La dénomination la plus fréquente est « kéfir » qui est d'origine turque. La formation des premiers grains de kéfir et la méthode de préparation utilisée par les anciens peuples du Caucase mêlent les légendes et la réalité, des rapports scientifiques n'existant pas. La première publication concernant cette boisson, faite par un médecin russe, G. DZHOGINE en 1867, dans les Travaux de la Société Médicale du Caucase, a été suivie par des dizaines d'autres. En Europe, la boisson a été introduite vers 1860. L'industrie bavaroise, en 1936, utilisait déjà les grains de kéfir pour la valorisation du lactosérum. **(Zourari et al., 1988)**

Kéfir est un produit ayant un léger goût acide, une carbonatation naturelle et un arôme. Ce type de lait fermenté contient un mélange de spécifique qui réside de manière symbiotique dans une matrice de polysaccharides glucidiques. Le mot kéfir est dérivé de la langue turque qui signifie "se sentir bien", le mélange d'acide lactique et d'éthanol produisant microflore. Ce produit est reconnu comme kephir, kefyr, kiaphur, kefer, kepi, knapon et kippi dans différentes régions. **(Ahmed et al., 2013)**

Kéfir est produit par un mélange de bactéries lactiques et de levure. C'est une boisson saine, et son effet protecteur sur les dommages cellulaires a été étudié. Le polysaccharide kéfiran sert de matrice où les bactéries lactiques et les levures vivent en symbiose. Les voies métaboliques menant à la production de kéfiran ne sont pas entièrement comprises ; cependant, on sait que kéfiran est composé d'unités répétitives d'hexa- et heptasaccharides ramifiés, principalement du glucose et du galactose **(Guzel-Seydim et al., 2005)**

La principale différence entre le kéfir et les autres produits laitiers fermentés est l'utilisation soit d'une culture de départ appelée "grains de kéfir", soit d'une percolation des grains pour fermenter le lait. Il a été rapporté que les grains de kéfir traditionnels sont obtenus par coagulation périodique de lait de vache avec de la caillette de veau ou de mouton (quatrième estomac) dans des sacs en peau de chèvre. Après quelques semaines, une couche insoluble dans l'eau, gélatineuse et spongieuse, se forme sur la surface intérieure des sacs où la coagulation s'est produite. Enfin, cette couche est divisée en petits morceaux et séchée pour obtenir des grains de kéfir. **(Kesenkaş et al., 2017)**

La préparation et la consommation courante de kéfir se sont depuis lors étendues à une région plus vaste que les montagnes du Caucase et le kéfir est aujourd'hui plus largement considéré comme un lait fermenté traditionnel des pays de l'Est. (Veronique L, 2008)

1.2 Graine de kéfir

1.2.1 Structure de graine de kéfir

Les grains de kéfir sont décrits comme étant de "petites masses ridées, à consistance gélatineuse, de grosseur variable", des "granules irréguliers gélatineux, blanchâtres ou jaunâtres, de la taille d'une noix" ou encore de "petites masses blanches élastiques, en forme de chou-fleur". Si l'apparence d'un chou-fleur est souvent évoquée pour décrire des grains de kéfir, elle n'en est pas pour autant exclusive. La **Figure 1** illustre des formes variées de grains et en décrivent comme "pouvant être déroulés en une sorte de feuille". (Veronique L, 2008)

La dimension des grains de kéfir varie de **2 à 20** mm ou plus et ressemble à de petits fleurons de chou-fleur par sa forme et sa couleur **Figure 2**. Cette masse biologique élastique ou gélatineuse est composée de protéines, de lipides et d'un polysaccharide capsulaire hydrosoluble appelé kéfiran. Plusieurs espèces homofermentaires de *Lactobacillus*, principalement *Lactobacillus kefiranofaciens*, produisent un complexe de kéfiran qui entoure les levures et les bactéries dans les grains de kéfir. Le kéfiran contient du d-glucose et du d-galactose dans un rapport de 1:1 et constitue environ **25 %** du poids sec des grains. Les grains contiennent **85 à 90 %** d'eau et la masse sèche du grain frais se compose d'environ **57 %** de glucides, **33 %** de protéines, **4 %** de lipides et **6 %** de cendres. (Kesenkaş et al., 2017)

Observés en microscopie électronique (Bottazzi and Bianchi, 1980; Guzel-Seydim et al., 2005; Marshall et al., 1984; Rea et al., 1996) les grains de kéfir révèlent la présence de bactéries et de levures étroitement associées à une matrice spongieuse **Figure 3**. Tous les grains examinés par ces auteurs recèlent des bactéries en forme de bacille ; des bactéries en forme de coque y sont par contre sporadiquement observables.

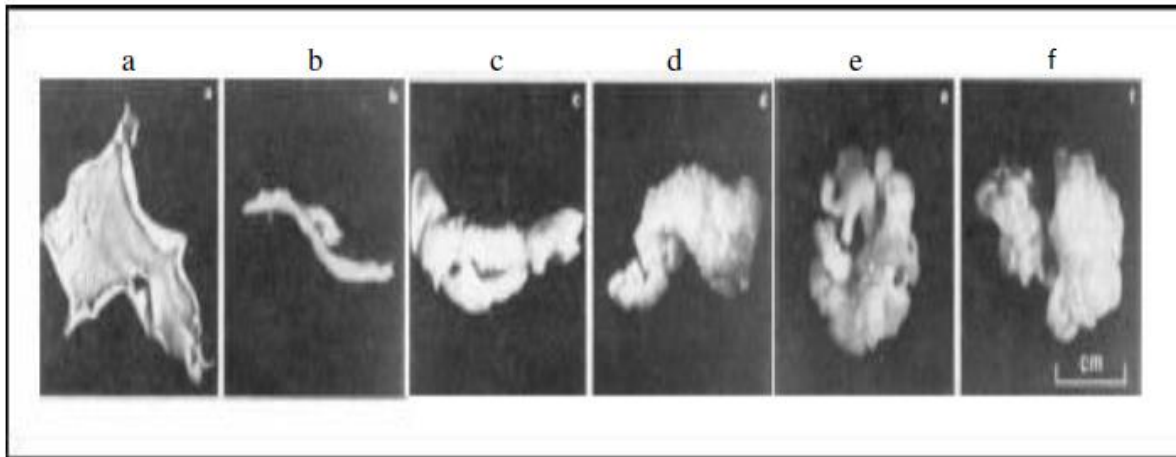


Figure 1 : Illustration de grains de kéfir ; a : grain en forme de "feuille" ; b : grain en forme de "feuille enroulée" ; c & d : grain de forme non définie ; e & f : grain en forme de "Chou-fleur".



Figure 2 : Aspect physique des grains de kéfir frais.

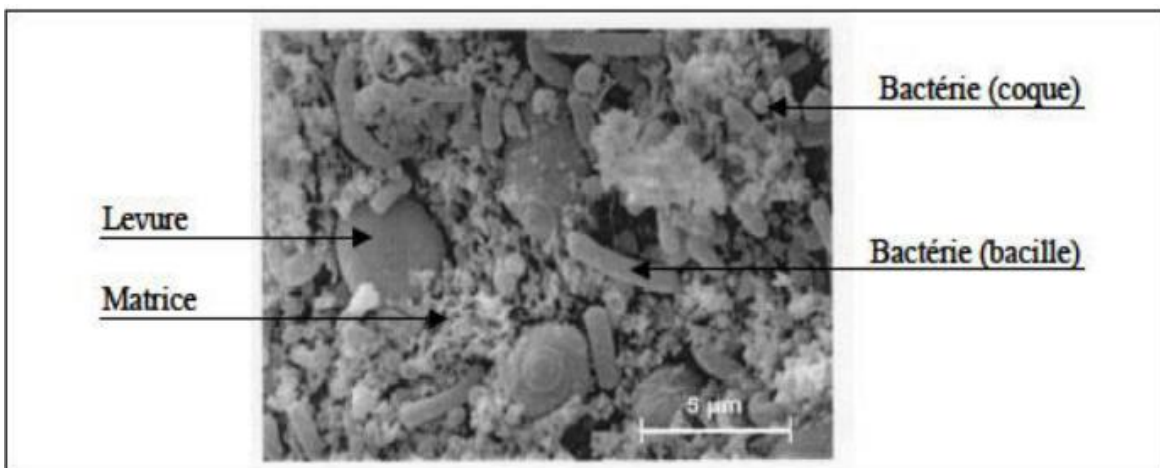


Figure 3 : Illustration d'un grain de kéfir en grossissement de 7000 X (Guzel-Seydim et al., 2005)

Ils ont relevé de ces observations microscopiques une absence d'agencement structuré entre les bactéries et les levures. Tous s'accordent à dire que les bactéries et les levures sont inégalement réparties dans le grain. Toutefois, tandis que certains observent une plus grande concentration de levures à la surface du grain et une plus grande concentration de bactéries à l'intérieur du grain (**Guzel-Seydim et al., 2005; Marshall et al., 1984**), d'autres observent le contraire (**Bottazzi and Bianchi, 1980**), la répartition de ces micro-organismes varie en fonction de la coupe examinée. Lorsqu'elles sont observables, les bactéries en forme de coque ont toutefois toujours été localisées à la surface du grain (**Guzel-Seydim et al., 2005; Rea et al., 1996**).

1.3 Microflore des grains de kéfir

1.3.1 Composition microbienne qualitative des grains de kéfir

Les études publiées sur la composition microbienne de grains de 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 (**Veronique L, 2008**)

La microflore identifiée à partir de grains de kéfir comprend de nombreuses espèces, associées dans les grains de kéfir en diverses combinaisons (**Garbers et al., 2004**).

Parmi les bactéries lactiques recensées, la majorité des espèces appartient au genre *Lactobacillus*. Elle inclut des espèces homofermentaires : *Lb. acidophilus*, *Lb. crispatus*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. gallinarum*, *Lb. gasseri*, *Lb. helveticus*, *Lb. kefiranofaciens* ; et 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*) (**Garbers et al., 2004**)

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* (**Garbers et al., 2004**).

Les autres micro-organismes, identifiés occasionnellement dans des grains de 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.*

1.3.2 Composition microbienne quantitative des grains de kéfir

Du point de vue quantitatif, les grains de kéfir renferment un nombre variable de bactéries lactiques et de levures. (Veronique L, 2008)

La flore bactérienne lactique des grains de kéfir est présentée comme dominante par rapport à celle des levures (Garrote et al., 2001; Guzel-Seydim et al., 2005) La comparaison des données publiées relatives aux dénombrements des différents groupes microbiens montre qu'effectivement la population de bactéries lactiques domine, ou est à toute la moins présente en quantité équivalente à celle des levures, dans la plupart des grains de kéfir (Veronique L, 2008) Chiffrée, la représentativité de cette population est alors variable : comprise entre 83 % et 90 % de la flore totale de grains bulgares (Simova et al., 2002) la population de bactéries lactiques est 1000 fois plus élevée que celle des levures dans des grains turques (Guzel-Seydim et al., 2005). Dans certains grains toutefois, la population des levures est plus abondante que celle des bactéries lactiques (Witthuhn et al., 2004).

La flore bactérienne des grains de kéfir est le plus souvent dominée par des lactobacilles (Abraham and De Antoni, 1999; Garrote et al., 1997) , mais peut être dominée par des coques lactiques. Dans ce cas, les coques lactiques représentent jusqu'à 65 % de la flore totale du grain (Simova et al., 2002).

La composition microbienne de grains de kéfir n'inclut pas nécessairement des espèces appartenant à chacun des types fermentaires de lactobacilles : certaines comprennent exclusivement des lactobacilles hétérofermentaires et d'autres, un unique lactobacille homofermentaire. Toutefois, lorsque des spécimens appartenant à chacun des types fermentaires de lactobacilles sont quantifiés dans des grains, les homofermentaires sont plus abondants que les hétérofermentaires (Veronique L, 2008).

La flore bactérienne non lactique des grains de kéfir, considérée comme contaminantes, a rarement fait l'objet d'une approche quantitative (Angulo et al., 1993), les bactéries non lactiques, toutes espèces confondues, représentent de 6,6 % à 33,3 % de la flore des grains. Parmi la flore bactérienne non lactique identifiée dans des grains de kéfir figurent des bactéries acétiques (Garrote et al., 2001).

1.4 La composition chimique

La composition chimique du kéfir dépend de l'origine et de la composition des grains de kéfir et des laits utilisés. Trois composés présentent des variations : la matière grasse, l'acide lactique et l'alcool.

Le taux de matière grasse dépend de l'origine du lait utilisé (de vache, de brebis, de chèvre ...) et du choix du fabricant (lait entier, écrémé ou partiellement écrémé).

Les taux d'acide lactique rapportés varient entre 0,6 et 0,9 % par suite des différentes méthodes de préparation et de la microflore utilisées.

On note des variations considérables du taux d'alcool, entre 0,01 % et 1 %. Le kéfir industriel produit dans l'Europe de l'Est 0,01 à 0,04 % et le produit traditionnel 0,03 à 1 %. De plus, des échantillons de kéfir industriel allemand ont montré un contenu en alcool de 0,002-0,005 %, bien inférieur à ce que l'on rapporte dans la littérature. On peut donc supposer que, dans divers pays, la variabilité de la composition du kéfir reflète des différences éventuelles du processus de fabrication.

Le kéfir est le seul lait fermenté subissant une double fermentation lactique et alcoolique pour lequel une législation existe dans plusieurs pays. Ces législations donnent des standards de composition, de qualité, de conditions de préparation et d'emballage devant être respectés par les fabricants. (**Zourari et al., 1988**)

1.5 Préparation traditionnelle du kéfir

La méthode traditionnelle de production du kéfir consiste à utiliser du lait cru non pasteurisé, pasteurisé ou UHT, le lait est versé dans un récipient propre et approprié, auquel on ajoute des grains de kéfir ; le contenu est laissé à température ambiante pendant environ 24 heures.

Le lait de culture est filtré afin de séparer et de récupérer les grains de kéfir du kéfir liquide.

Ce lait fermenté est propre à la consommation. Les grains sont ajoutés à du lait frais, et le processus est simplement répété. Ce simple processus peut être effectué sur une base indéterminée, car les grains de kéfir constituent un écosystème vivant complexe qui peut être préservé à jamais tant qu'il se nourrit. Comme les grains de kéfir actifs sont continuellement cultivés dans du lait frais pour préparer le kéfir, les grains augmentent en volume ou en masse biologique. (**Lopitz-Otsoa et al., 2006**)

Ce procédé simple est matériellement peu pratique à mettre en œuvre pour une production industrielle de kéfir. D'autant plus que, pour la préservation des grains, le matériel ne peut contenir d'alliage métallique. (Veronique L, 2008)

1.6 Composition du lait fermenté

La qualité du kéfir, tant au niveau du goût que de sa valeur nutritionnelle ou diététique, dépend de celle du lait et des transformations résultant de l'activité des différents micro-organismes présents dans le ferment. La diversité de la composition microbienne des ferments et des pratiques déterminant leur développement engendre une grande diversité de kéfirs. Les traits communs à ces kéfirs, mais développés avec des intensités variables, sont l'acidification, la présence d'alcool et d'un fond levure, ainsi qu'une texture onctueuse et mousseuse. Au niveau sensoriel, le kéfir traditionnel est décrit comme étant plus onctueux et plus crémeux mais aussi plus acide et plus amer qu'un yaourt. (Muir et al., 1999)

1.6.1 Acides organiques

L'acide lactique du kéfir est presque exclusivement sous la forme de son isomère L(+), forme la plus assimilable par l'organisme humain. Les teneurs en acide lactique communément citées pour le kéfir, et confirmées par les mesures de Lacrosse (1970), sont comprises entre 6 et 10 g.l⁻¹. Il semblerait cependant qu'elles puissent être beaucoup plus élevées : une teneur de 15 g.l⁻¹ a en effet été mesurée dans un lait fermenté à partir de grains argentins (Assadi et al., 2000). Le kéfir peut contenir des quantités relativement élevées d'acide acétique : 0,9 g.l⁻¹ alors que celle d'un yaourt est de 0,2 g.l⁻¹ (Muir et al., 1999). Ce composé contribue probablement à la perception "acide" du kéfir.

1.6.2 Lactose

La quantité de lactose restant après fermentation varie de 20 g.l⁻¹ et 35 g.l⁻¹. Assadi et al., 2000 en mesurent toutefois une quantité moindre dans un kéfir traditionnel : 14 g.l⁻¹. Malgré la présence de lactose résiduel, le kéfir peut être consommé sans problème par les personnes intolérantes au lactose (Zourari et al., 1988). A quantités égales, le lactose ingéré par l'intermédiaire de kéfir est effectivement mieux digéré et mieux toléré par l'homme adulte que celui ingéré par la consommation de lait (Hertzler and Clancy, 2003). Cette amélioration de

la digestion et de la tolérance au lactose proviendrait de la libération, dans le tube digestif, de β -galactosidase microbienne.

1.6.3 Composés aromatisants

La saveur typique du kéfir serait due à la présence de diacétyl et d'acétaldéhyde dans un rapport 3:1. Cependant, la valeur mesurée par **(Wszolek et al., 2001)** dans des kéfirs traditionnels préparés à partir de laits d'origines différentes (brebis, chèvre et vache) est en moyenne de 5:4. Elle est, dans ce cas, proche du rapport défini par **(Lindsay and Day, 1965)** comme conférant au beurre un défaut de goût dit "de yaourt" : 5:6.

Par ailleurs, il semblerait que les teneurs en diacétyl du kéfir soient parfois trop faibles pour contribuer à sa saveur. Variant entre 1 mg.l⁻¹ et 2,6 mg.l⁻¹. Les concentrations en diacétyl mesurées dans des kéfirs traditionnels, sont parfois inférieures aux teneurs minimales nécessaires pour développer la saveur des produits laitiers fermentés : de 2 à 4 mg.l⁻¹. **(Veronique L, 2008)**

1.6.4 Protéines, matière grasse et acide linoléique conjugué

Les teneurs en protéines, en matière grasse et en acide linoléique conjugué (CLA) du kéfir sont essentiellement déterminées par celles du lait utilisé. La teneur en protéine du lait reste inchangée après la fermentation lactique **(Kuo and Lin, 1999)**. Du point de vue digestibilité, les protéines du kéfir seraient équivalentes à celles des laits caillés.

La teneur en matière grasse du kéfir dépend du choix du lait utilisé : entier, demi-écrémé ou écrémé. Elle diminue toutefois après la fermentation lactique. Du kéfir préparé à partir d'un lait à 3,5 % de matière grasse affiche un taux compris entre 3,0 % et 3,1 % **(Kuo and Lin, 1999)**.

La teneur du lait en l'isomère t9, t11 du CLA est augmentée après fermentation par des grains de kéfir **(Guzel-Seydim et al., 2006)**. Cette composante isomérique du CLA ne représente toutefois qu'une petite fraction de l'ensemble des isomères du CLA **(Khanal, 2004)** et ne semble pas modifier la teneur en CLA total du lait qui reste inchangée après fermentation par des grains de kéfir **(Ninane et al., 2005)**

1.6.5 Alcool et CO₂

La teneur en éthanol du kéfir dépend du procédé de fabrication appliqué. Elle est plus élevée dans le kéfir traditionnel que dans le kéfir industriel. Un lait acidifié à partir de grains a une teneur en éthanol comprise entre 0,1 % et 0,3 %. La teneur en alcool dans les kéfirs industriels atteint par contre au maximum 0,04 %. **(Veronique L, 2008)**

De même que pour la teneur en éthanol, l'enrichissement en CO₂ du kéfir dépend du procédé appliqué. Pour un lait acidifié à partir de grains de kéfir, le taux de CO₂ est compris entre 0,08 % et 0,2 %. Il peut toutefois être beaucoup plus élevé : 3 % de CO₂ ont été mesurés dans un lait acidifié à partir de grains argentins **(Assadi et al., 2000)**. Les bouteilles éclatent parfois après trois jours de maturation. L'utilisation d'un levain fait chuter la teneur en CO₂ au cours des repiquages. **(Veronique L, 2008)**

2 Kéfir et santé

Le kéfir a des effets prophylactiques, récupérateurs et de nombreux autres effets physiologiques importants sur la santé. Ces effets se manifestent par les effets des nombreux composants bioactifs produits lors de la fermentation et du microbiote dense. **(Rosa et al., 2017)**

2.1 La valeur nutritionnelle et les propriétés thérapeutiques du kéfir

Le kéfir est probablement l'un des plus anciens aliments probiotiques et il est bien connu pour ses bienfaits sur la santé depuis plus de mille ans. Dans le monde entier, le kéfir a été associé à des mythes sur le pouvoir de guérison et à diverses allégations nutritionnelles et thérapeutiques concernant les problèmes gastro-intestinaux, l'hypertension, les allergies et les maladies cardiovasculaires **(Ratray, F. P. et O'Connell, M. J, 2011)**. Dans le passé, lorsque les traitements médicaux n'étaient pas disponibles, le kéfir a été utilisé pour le traitement de certaines maladies telles que le cancer, la tuberculose et les troubles gastrointestinaux **(Cevikbas et al., 1994)**. Le kéfir étant un aliment nutritif très digeste, riche en calcium, en protéines, en fibres et en vitamines du groupe B, il est idéal pour les humains, en particulier les nourrissons, les femmes enceintes, les mères allaitantes et les personnes âgées **(Smolyansky, 2010)**. Le kéfir est constitué d'une quantité considérable d'acides aminés essentiels (tryptophane, phénylalanine, leucine, isoleucine, thréonine, méthionine, lysine, valine), de vitamines (A, B1, B2, B6, B12, niacine, C, D, E), de composants minéraux (calcium,

phosphore, magnésium, potassium, sodium, chlorure) et d'oligo-éléments (fer, cuivre, molybdène, manganèse, zinc). (Turkmen, 2017)

2.2 Ses effets sur l'intolérance au lactose

Les produits laitiers contiennent une grande quantité de lactose, un disaccharide ; l'absorption intestinale du lactose nécessite l'hydrolyse de ce composé. Certaines personnes peuvent souffrir d'une intolérance au lactose en raison de l'absence d'activité intestinale de l'enzyme β -galactosidase. L'enzyme β -galactosidase est naturellement présente dans les particules de kéfir. En outre, la teneur en lactose du kéfir diminue pendant la fermentation et le kéfir devient approprié pour les personnes souffrant d'une intolérance au lactose. Le kéfir retarde la décharge gastrique et aide à la digestion du lactose (Rosa et al., 2017). Les chercheurs ont observé que le kéfir ayant une activité de β -galactosidase entraînait une augmentation de 30% de la concentration maximale moyenne de galactose dans le plasma postprandial. La deuxième étude a montré que le kéfir réduisait la gravité perçue des flatulences, qui est le symptôme le plus communément signalé chez les personnes présentant une intolérance au lactose, de 71 % chez les adultes par rapport au lait (Hertzler and Clancy, 2003)

2.3 Les caractéristiques antimicrobiennes du kéfir

Les organismes présents dans le kéfir produisent de nombreux éléments antimicrobiens tels que l'acide lactique, l'acide acétique, le dioxyde de carbone, le peroxyde d'hydrogène, l'éthanol, le diacétyle et les bactériosines (Nielsen et al., 2014). Le kéfir affiche son effet antibactérien grâce à ces acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, les bactériosines et l'acétaldéhyde (John and Deeseenthum, 2015). Dans une étude, la bactériosine produite par *Lactobacillus plantarum* a inhibé les bactéries Gram négatif et Gram positif (Powell et al., 2007). Le kéfir a un effet bactéricide sur les bactéries Gram-négatives. Cet effet a également été constaté contre *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus*, *Helicobacter pylori*, *E. coli*, *Enterobacter aerogenes*, les bactéries *Streptococcus pyogenes* et les champignons *Candida albicans*. L'activité antibactérienne des particules de kéfir est plus élevée que celle du kéfir lui-même contre les cocci Gram positive contenant des bacilles Gram-positifs et des staphylocoques. Il a été constaté que le kéfir frais inhibait *Staphylococcus aureus* et *E. coli*, mais aucun effet inhibiteur n'a été trouvé contre *Saccharomyces cerevisiae* et *Candida albicans*. Le kéfir a perdu cet effet suite à la réémergence et à la lyophilisation dans le lait (Rosa et al.,

2017). En plus de *S. thermophilus* isolé du kéfir, les types *L. acidophilus* et *L. kefirianofaciens* présentent une activité antimicrobienne contre les organismes pathogènes tels que *E. coli*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis* et *S. flexneri* (Bourrie et al., 2016).

2.4 L'effet sur le système immunitaire

On trouve divers microorganismes probiotiques, principalement des LAB, dans les boissons à base de kéfir. De nombreuses études ont indiqué que les produits laitiers fermentés produits par LAB ont le potentiel d'améliorer les réponses immunitaires tant chez les animaux que chez les modèles humains (Gill, 1998; Matar et al., 2001; Perdigon et al., 2001). Les microorganismes probiotiques peuvent exercer leurs propriétés bénéfiques principalement par deux mécanismes : les effets directs des microorganismes vivants (probiotiques), ou les effets indirects via les métabolites de ces microorganismes (biogénie). (Vinderola et al., 2006)

La biogénie est définie comme des composants alimentaires issus de l'activité microbienne, qui apportent des bénéfices pour la santé sans impliquer la microflore intestinale. (Takano, 2002)

Un nombre considérable d'études montrent que la consommation de lait fermenté avec *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium longum*, et des mélanges de plusieurs LAB, augmente la réponse immunitaire. (Isolauri et al., 1995; takahashi et al., 1998; Tejada-Simon et al., 1999)

Les microorganismes probiotiques, y compris les LAB du kéfir, ont des effets bénéfiques sur la stimulation du système immunitaire et sur le traitement de la diarrhée (Sanders, 1993). Les recherches indiquent que le lait fermenté avec *L. casei* ou avec *L. acidophilus* et des bifidobactéries a amélioré les réponses immunitaires chez l'homme après des essais avec un vaccin contre le rotavirus et une *Salmonella typhimurium* atténuée, respectivement. (Isolauri et al., 1995; Link-Amster et al., 1994)

2.5 Effets antitumoraux et anticancérigènes

La définition d'anticancérigène est "tendant à inhiber ou à prévenir l'activité d'un agent cancérigène ou le développement d'un carcinome" selon le dictionnaire médical Merriam Webster. Les tumeurs sont classées comme des carcinomes et des sarcomes. On s'intéresse aux avantages antitumoraux et anticancérigènes de la consommation de kéfir. De nombreuses études ont été menées sur des animaux de laboratoire ou *in vitro*, indiquant un certain succès

dans la réduction de la taille des tumeurs avec la consommation de kéfir. Dans le premier rapport, une étude des effets antitumoraux d'un polysaccharide hydrosoluble isolé de grains de kéfir indique que le polysaccharide a pu inhiber la croissance du carcinome d'Ehrlich dans 40 à 64 % des cas et dans 20 à 90 % des cas de sarcome 180, par rapport aux souris témoins. (**Shiomi et al., 1982**)

Furukawa et al., 1990 indiquent que l'alimentation avec le kéfir lui-même (2 g/kg de poids corporel) était plus efficace pour inhiber la croissance des tumeurs (carcinome du poumon de Lewis) que le yaourt lorsqu'il était administré pendant 9 jours après l'inoculation de la tumeur aux souris. Une autre étude a porté sur les effets de l'administration orale de kéfirs de lait de vache et de lait de soja sur la croissance des tumeurs chez des souris inoculées avec des cellules tumorales de sarcome-180, ce qui a entraîné une inhibition de la croissance des tumeurs de 64,8 % et 70,9 %, respectivement, par rapport aux témoins (**Liu et al., 2002**). Il existe de nombreuses autres études *in vitro* ou *in vivo* qui indiquent la relation entre la consommation de kéfir et ses effets antitumoraux et anticancérigènes. (**Cevikbas et al., 1994; Furukawa et al., 1990; Murofushi et al., 1986**)

2.6 Effets antidiabétiques

L'hyperglycémie, un symptôme typique du diabète sucré de type II indépendant de l'insuline, est une affection caractérisée par une augmentation postprandiale anormale du taux de glucose dans le sang (**Kim et al., 2011**). La digestion des glucides alimentaires est facilitée par des enzymes entériques, notamment les α -glucosidases (**Ortiz-Andrade et al., 2007**). L'inhibition des α -glucosidases peut réduire de manière significative l'augmentation postprandiale du taux de glucose dans le sang après la consommation d'aliments et peut donc constituer une stratégie utile dans la gestion du diabète de type II (**Kim et al., 2011; Kong and Hendrich, 2012; Ortiz-Andrade et al., 2007**). D'autre part, l'augmentation du stress oxydatif joue un rôle important dans l'apparition et le développement du diabète sucré (**Teruya et al., 2001**). **Kim et al., 2011** ont montré que l'activité inhibitrice de la α -glucosidase augmentait modérément dans le lait de soja (complété par des extraits phénoliques de *Rhodiola crenulata*) fermenté par culture de kéfir. Les auteurs ont également signalé que les phénols bénéfiques de *Rhodiola crenulata* pouvaient être efficacement mobilisés par la fermentation du lait de soja par des cultures de kéfir. Cette approche a été utilisée par différentes études (**Kim et al., 2011; Kwon et al., 2006**) et pourrait être utilisée pour des thérapies complémentaires pour l'hyperglycémie postprandiale liée à la gestion du diabète de type II. **Teruya et al., 2001** ont observé que le kéfram-kéfir, qui est un

lait fermenté originaire des montagnes du Caucase, augmentait l'absorption du glucose dans les myotubes L6 des cellules musculaires squelettiques. Les résultats de cette étude ont montré que le kéfir a un potentiel important pour diminuer la résistance à l'insuline chez les personnes diabétiques de type II. Dans une étude récente de **(Punaro et al., 2014)**, le traitement au kéfir (1,8 ml/jour) pendant 8 semaines a réduit de manière significative la progression de l'hyperglycémie et du stress oxydatif induits par la streptozotocine chez les rats **(Kong and Hendrich, 2012)**. Le kéfir a un index glycémique faible à modéré et son index insulinémique est élevé. **(Kesenkaş et al., 2017)**

2.7 Réduction du cholestérol

L'effet de réduction du cholestérol des bactéries peut s'expliquer par la diminution de la quantité considérable de cholestérol en l'hydrolysant en acides biliaires dans l'intestin qui sont ensuite excrétés. Dans une recherche déterminant la relation entre le cholestérol sérique et la microflore intestinale chez le nouveau-né, dans tous les cas, les valeurs de cholestérol les plus basses étaient significativement liées à un nombre élevé de Lactobacilles dans les selles. Les chercheurs ont noté que les taux de cholestérol sérique les plus bas sont probablement associés au plus grand nombre de micro-organismes actifs. **(Harrison et Peat, 1975)**

Une étude indique que le taux de cholestérol sérique des rats a diminué lorsqu'ils ont été nourris avec du lait fermenté contenant le LAB (*Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Streptococcus lactis subsp. diacetylactis*, *S. salivarius subsp. thermophilus*, *Leuconostoc cremoris*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *L. delbrueckii subsp. lactis*, *L. acidophilus*, *L. casei* et *Lactobacillus helveticus*) et la levure (*S. cerevisiae*), qui existe également dans le kéfir. **(Tamai et al., 1996)**

Vujcic et al., 1992 six types de grains de kéfir provenant de différentes régions étaient capables d'assimiler le cholestérol du lait incubé à 20°C pendant 24 heures (réductions allant jusqu'à 62,5%), incubé et stocké à 10°C pendant 24 heures (réductions allant jusqu'à 69,8%), et incubé et stocké à 10°C pendant 48 heures (réductions allant jusqu'à 84,2%). Les auteurs ont affirmé que leurs résultats indiquaient que les grains de kéfir avaient un système enzymatique dégradant le cholestérol.

Bien que certaines études indiquent l'effet de réduction du cholestérol du kéfir transporté chez l'animal ou *in vitro*, il n'existe pas encore d'études pour démontrer que la consommation de kéfir a des effets hypocholestérolémiantes chez l'homme. **(Rattray, F. P. and O'Connell, M. J., 2011)**

Outre ces avantages pour la santé, le kéfir est connu comme un antioxydant naturel, un stimulant cérébral, un anti-stress, un anti-inflammatoire et un agent antidiabétique. Il aide également à maintenir la santé du cœur, joue un rôle essentiel dans la bronchite et l'asthme, accélère le métabolisme, fournit des vitamines et des minéraux à l'organisme et protège celui-ci contre les effets nocifs des radiations et d'autres polluants toxiques. (**Gaware et al., 2011; Matsuu et al., 2003**)

Chapitre III

Matériel et méthode

1 Obtention de la souche du kéfir

Les graines de kéfir utilisées dans cette expérimentation ont été obtenues grâce à un contact familial. L'identification de l'origine de la souche est une tâche délicate, du fait que les graines peuvent être élevées à jamais dans du lait et trainent longtemps entre les familles et par conséquent ; personne ne sait où est-ce qu'elles ont été produites la première fois. L'échantillon a été prélevé dans un bocal en verre stérile selon les règles d'hygiène.

2 Lieu d'étude

Notre étude a été menée au laboratoire de microbiologie de la faculté de science de la nature et de la vie de Sidi Bel Abbès.

3 Culture de kéfir et prélèvement des échantillons

La culture des graines de Kéfir a été réalisée selon les recommandations des personnes qui l'ont déjà utilisé ; sauf que notre procédé a déroulé dans des conditions d'asepsie afin d'éviter toute contamination extérieure. En effet, dans un flacon préalablement autoclavés, 7 g de graines de kéfir a été émergé dans 100 ml de lait UHT (**figure 4**).



Figure 4: Mise en culture des graines de kéfir

Afin de répondre à notre problématique du départ, trois préparations ont été réalisées dans les mêmes conditions ; et chaque une est incubée à température ambiante pendant 24h, 48h et 72h respectivement (**figure 5**). Après écoulement du temps de chaque période, des échantillons ont été prélevés et destinés immédiatement aux différentes analyses physico-chimiques et microbiologiques.



Figure 5: lait de kéfir (24h, 48h, 72h)

4 Méthodes d'analyses

4.1 Analyses physiques

4.1.1 Couleur

Le lait est habituellement un liquide de coloration blanc-jaunâtre. Cette coloration résulte du mélange de micelles de phosphocarséinate de calcium, de globules gras et de deux pigments : le carotène contenu dans la phase grasse et responsable de la coloration jaune. Le lait peut présenter des colorations anormales accidentelles dues à des microorganismes de contaminations (coloration bleue, verte ...) (**Codou Latyr FALL, 1997**).

Dans ce présent travail, nos échantillons ont été observés minutieusement après chaque période d'incubation afin de relever tout changement potentiel de couleur.

4.1.2 Odeur et saveur

L'odeur et la saveur sont des sensations qui varient généralement en fonction des individus, du fait des différences importantes dans l'acuité des sens. D'une manière générale, le lait normal présente un goût sucré et salé du au lactose et chlorure (Codou Latyr FALL, 1997). Nous avons déterminé le goût du lait de kéfir par dégustation et l'olfaction. Chaque un de nous, y compris nos encadrants, a fait le test et a noté ses constats afin d'en tirer une appréciation plus concluante.

4.1.3 Densité

La densité est le rapport entre la masse d'un volume de lait et celle d'un même volume d'eau. Elle est définie comme étant la masse volumique du lait. Pour se faire, 10 ml du lait de kéfir a été pesé en utilisant une balance de précision. La masse obtenue est divisée sur la masse du même volume d'eau. Le rapport ainsi obtenu est la densité. La même procédure a été faite en utilisant du lait frais pour servir comme témoin.

4.2 Analyses chimiques

4.2.1 Détermination de l'acidité en degré Dornic

Le principe de la technique est basé sur la neutralisation de l'acidité du lait par titrage volumétrique à l'aide d'une solution de soude et un indicateur coloré : phénolphtaléine. Le degré Dornic (°D) est une unité de mesure d'acidité du lait du nom de M. Dornic, ancien directeur de l'école nationale d'industrie laitière de Mamirolle, dont 1°D correspond à 0,1 g d'acide lactique par litre de lait.

À l'aide d'une pipette graduée, nous prélevons 10 ml de lait auxquels nous ajoutons 2 à 3 gouttes de phénolphtaléine à 1 %. Nous procédons au titrage par NaOH (N/9) jusqu'à l'apparition d'une couleur rose clair qui indique la fin du titrage (**figure 6**). L'acidité en degré Dornic est égale au volume de NaOH consommé multiplié par 10.

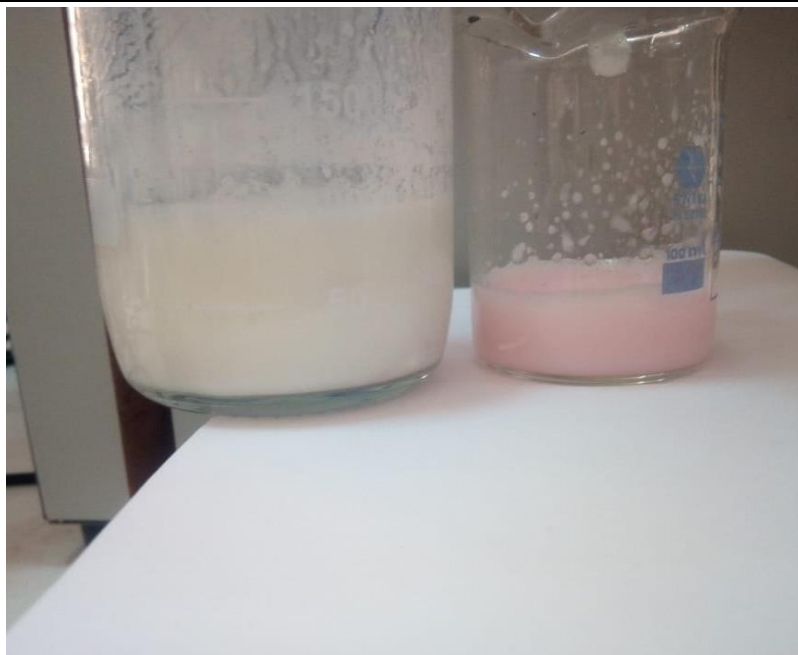


Figure 6: Couleur obtenue au point d'équilibre

4.2.2 Dosage des phénols totaux

Le dosage des phénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit dès 1965 par Singleton et Rossi. Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 750 nm est proportionnel à la quantité de polyphénols (**Boizot and Charpentier, 2006**).

Un volume de 200 μ l du lait est introduit dans des tubes à essai, le mélange (1ml du réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois et 0,8 ml de carbonate de sodium à 7.5%) est additionné. Les tubes sont agités et conservés durant 30 minutes à la température ambiante. L'absorbance est mesurée à 765 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre Jenway 6504 UV/VIS.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en milligramme par millilitre du lait.

4.3 Analyse biologique (dénombrement des germes totaux)

Pour déterminer le nombre d'organismes présents dans le lait, la numération standard sur plaque « *standard plate count (SPC)* » est universellement utilisée. Elle est relativement facile à réaliser et donne d'excellents résultats. Nous pouvons également utiliser cette technique de base pour calculer le nombre d'organismes dans une culture bactérienne. C'est à cet égard que cette technique est mise en place. La procédure consiste à diluer les organismes avec une série d'eau stériles. En général, trois bouteilles seulement sont nécessaires, en utilisant la procédure de dilution indiquée dans la **figure 7**, une dilution finale de 1 :1 000 000 se produit dans le blanc C. (Benson, 2002)

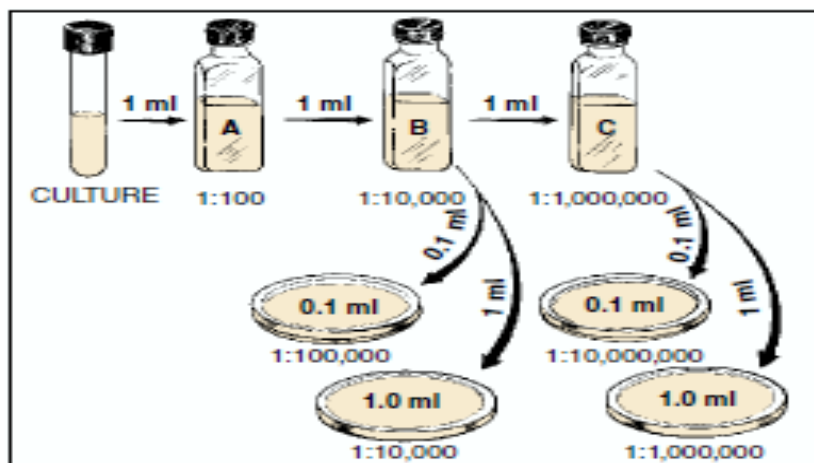


Figure 7: Procédure de dilutions

Matériel et méthodes

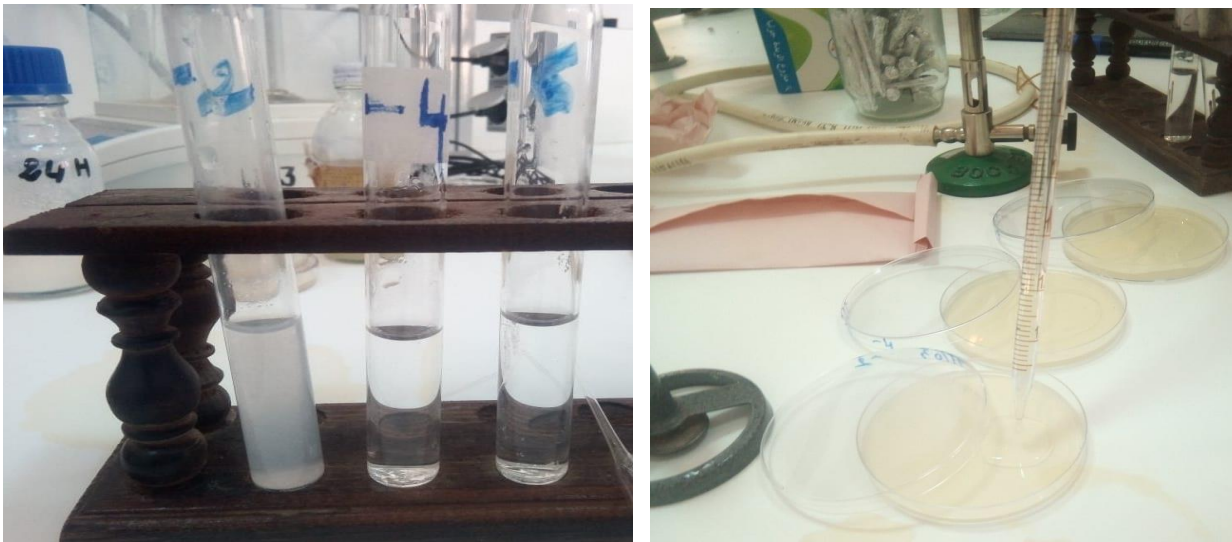


Figure 8: ensemencement des dilutions sur le milieu GN

À partir des blancs B et C, un millilitre (1 ml) d'organismes dilués sont transférées dans des boîtes de Pétri préparées préalablement avec une couche (4 mm épaisseur) de gélose nutritive (**Figure 8**), et ensuite faire des mouvements circulaires et de vas et vient pour répartir le liquide sur toute la surface.

Les plaques sont incubées par la suite pendant 24 heures à 37 °C (**figure 9**). Après incubation, celles qui contiennent entre 30 et 300 colonies sont sélectionnées pour le comptage. À partir de ce comptage, il est facile de calculer le nombre d'organismes par millilitre de la culture originale.



Figure 9: Incubation des boites

Le comptage se fait par le calcul du nombre de colonies bien individualisées dans la boîte puis le multipliez par le facteur de dilution. Par exemple : Si on compte 220 colonies sur

Matériel et méthodes

la boîte de la dilution 1 :1.000.000 ; le nombre de microorganismes est de $2,2 \times 10^8$ / ml du lait de kéfir.

Chapitre IV

Résultats et discussion

1 Propriété physique

Le lait de kéfir est plus préféré selon son aspect physique.

1.1 Couleur

D'après nos observations, la couleur du kéfir est restée inchangée par rapport à celle du lait, sauf qu'à 72h il y avait un très léger jaunissement qui apparait, dont on ignore son origine. Il peut s'agir de la matière grasse du fait que le lait utilisé est partiellement écrémé.

1.2 Saveur

Après dégustation des trois échantillons du lait de kéfir. Les résultats montrent que :
Kéfir 24h : est un liquide de saveur douce, peu acide et peu alcoolisé.

Kéfir 48h : a un goût de crème acidifiée.

Kéfir 72h : très aromatique, riche en CO₂ et très acide et alcoolisé.

D'après ce qui a été rapporté dans la bibliographie, la saveur du kéfir dépend beaucoup de sa composition. En effet, un lait entier donnera un kéfir plus épais et onctueux qu'un lait écrémé (**Veronique, 2008**). Son odeur et sa flaveur seront plus crémeuses, plus douces et moins acides (**Muir et al., 1999**).

Les principaux défauts courants du kéfir sont attribués au goût (semblable à celui du babeurre) et à l'arôme (très levé). Ce dernier défaut peut être causé par *S. cerevisiae*, car il fermente fortement et se multiplie rapidement en l'absence d'oxygène ; ce défaut s'accompagne souvent un arôme semblable à celui du vinaigre ou du solvant. (**Tamime and Society of Dairy Technology, 2006**).

En ce qui concerne notre appréciation, on pense le goût du kéfir de 24h et plus acceptable, ou plutôt bon, car il ne ressemble à aucun autre lait fermenté. On pense également que ce goût ne représente pas un défaut pour nous (Algériens), du fait que notre peuple apprécie le babeurre. Les saveurs du kéfir 48 h et 72 h sont un peu gênantes à cause de l'acidité élevée.

1.3 Densité

Concernant la densité, la valeur moyenne de lait témoin est estimée à 1.04. Durant les trois périodes de fermentation, les valeurs de la densité du lait de kéfir ont tendance à diminuer de 0.96 de 1er jour à 0.92 de 3ème jours de la période de fermentation (**Figure 10**).

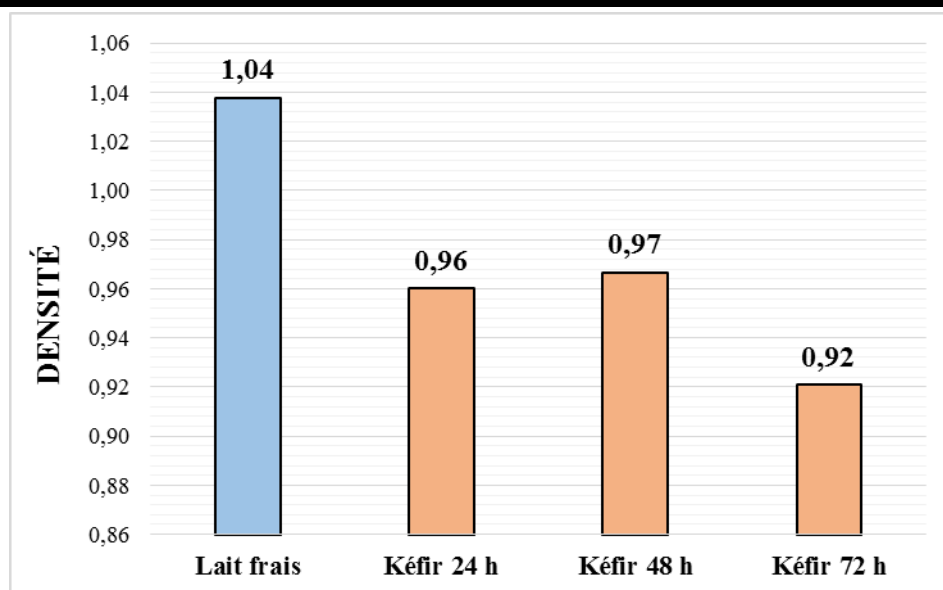


Figure 10: Evolution de la densité

La diminution de la densité au cours de fermentation des trois échantillons du lait de kéfir peut-être expliquer par la transformation du lactose en acide lactique par les bactéries lactique se trouvant dans le milieu, que ce soit par les homofermentaires ou par les hétérofermentaires, cependant ces dernières produisent en plus de l'acide lactique, l'éthanol, l'acide acétique et le CO₂.

La production du gaz CO₂ (**figure 11**) au cours la fermentation, et qui occupe le volume dans le produit diminue et par conséquent la masse volumique et c'est à partir de là que la densité diminue. (Sofiane et Djamaï, 2013)

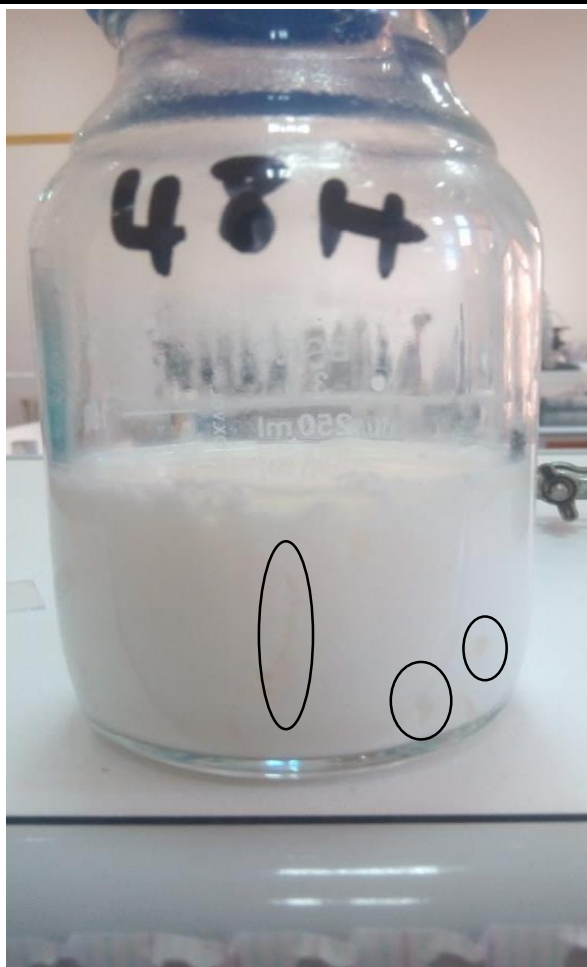


Figure 11 : Bulles de gaz dans le lait (Bouziza et Chabbi, 2020)

2 Propriété chimique

2.1 Acidité titrable en degré Dornic

L'acidité du lait de kéfir augmente avec le temps, la transformation du lactose en acide lactique permet d'avoir un indicateur du degré de conservation. L'acidité titrable mesurée a été de 97° Dornic, 141° Dornic et 196° Dornic pendant (24h, 48h et 72h) respectivement. On note une forte augmentation de l'acidité titrable du lait de kéfir par rapport à la moyenne d'acidité du lait UHT, les résultats sont représentés dans la figure (**figure 12**).

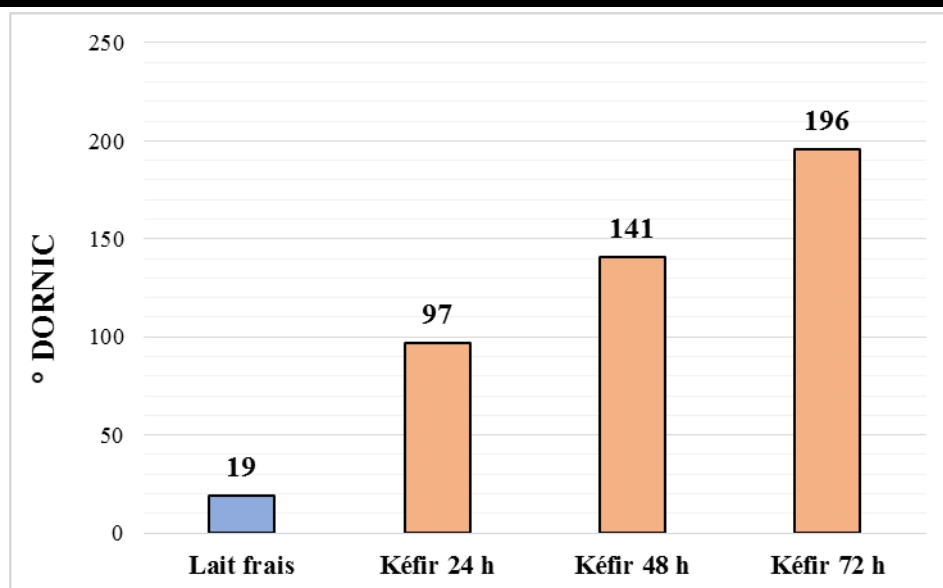


Figure 12: Evolution de l'acidité

La FAO précise des normes pour les produits destinés à la consommation. Elle définit parfois des minimums, des maximums, ou bien les deux à la fois, selon la nature du produit et sa composition. En effet, il existe une norme pour les produits laitiers fermentés dont le Kéfir figure parmi eux (réf : CODEX STAN 243-2003). Cette dernière exige que le kéfir doive contenir au moins 0.6 % d'acide lactique titrable, et ne précise aucun maximum. Mais, elle exige que le taux d'acidité soit mentionné sur l'étiquetage. Si l'on convertit les °Dornic de notre kéfir en pourcentage d'acide lactique, on aura 0.97%, 1.41% et 1.96% pour le kéfir 24h, 48h et 72h respectivement. Alors on peut dire que nos produits sont dans les normes et l'appréciation revient au consommateur.

L'augmentation de l'acidité s'explique par la présence des bactéries qui se trouvent aux grains de kéfir. Ces bactéries utilisent le lactose en le transformant en acide lactique. Les produits responsables de l'acidification du lait dans le kéfir sont fabriqués à partir de streptocoques lactiques. (Ninane et al., 2005)

2.2 Dosage des composés phénoliques

Les résultats du dosage révèlent que les concentrations des composés phénoliques dans les échantillons sont très faibles, sont représentés dans la **figure 13**. Les résultats montrent que la concentration des composés phénoliques varie entre 3.90 et 5.31 mg EAG/L.

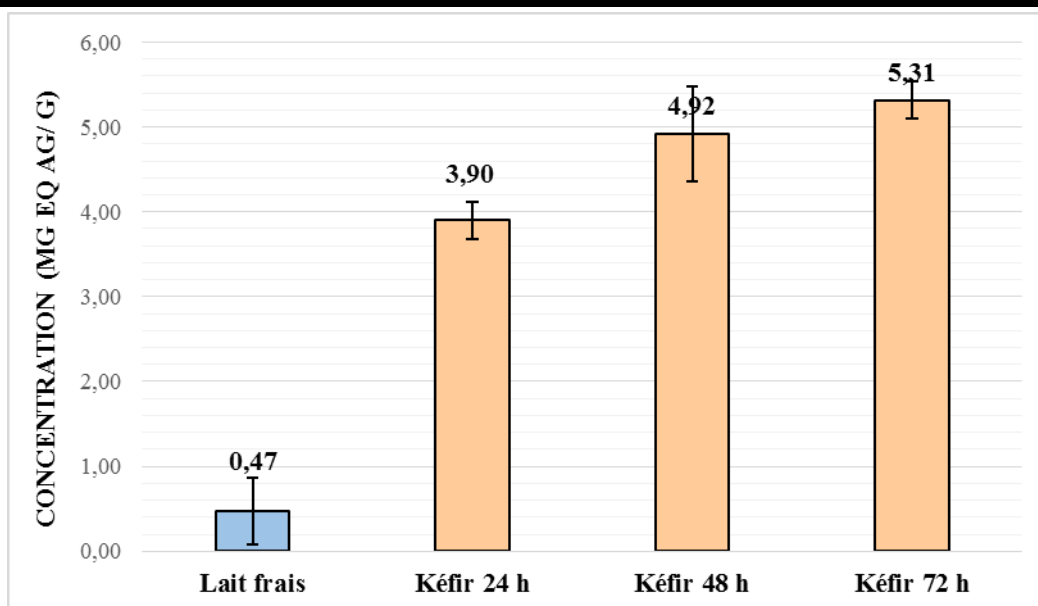


Figure 13: Evolution de la concentration des composés phénoliques (mg EAG/L)

Les analyses quantitatives des données ont été déterminées à partir de l'équation de la régression linéaire ($y = 0,0127x + 0,1405$ et $R^2 = 99\%$) de la courbe d'étalonnage de l'absorbance d'acide gallique en fonction de sa concentration.

Au regard de ces valeurs trop faibles, il est difficile de trancher qu'il s'agisse de composés aromatiques ou d'autres composés réducteurs, car le dosage de Folin-Ciocalteu présente certaines limites. En effet, il peut réagir avec l'acide aminée tyrosine et tryptophane des protéines, les sucres réducteurs comme le glucose et le fructose, l'acide ascorbique, l'acide tartrique et les sulfites (Boizot and Charpentier, 2006). En outre, aucun travail scientifique dans la bibliographie n'a évoqué la présence des polyphénols dans le kéfir.

3 Propriété biologique (dénombrement des germes totaux)

Les résultats des dénombrements d'analyse microbiologique effectuée sur les trois dilutions du lait de kéfir sont résumés dans le **tableau 1**.

Tableau 1 : résultats du dénombrement des germes totaux

	Nombre de colonies			
	Lait frais	Kéfir 24 h	Kéfir 48 h	Kéfir 72 h
D 1/100	0	Plus de 300	12	2
D 1/10000	0	61	0	0
D 1/1000000	0	0	0	0
Nombre de microorganismes / mL				
	/	6,1 x 10 ⁵	/	/

Résultats et discussion

D'après les résultats d'analyse obtenus durant la période expérimentale, il ressort que la flore totale présente dans le kéfir (24h) analysé est de $6,1 \cdot 10^5$ UFC/ml. Ce qui correspond au niveau enregistré par **(Irigoyen, 2005)**. Selon la norme de la FAO citée ci-dessus, la qualité microbiologique de notre produit répond au minimum de la flore totale exigé qui est de 10^5 UFC/ml. Quant au kéfir de 48h et 72h, notre analyse microbiologique a montré une absence des germes. Cela est dû vraisemblablement à un changement de la qualité des germes qui se développe après une longue période de fermentation, et qui peuvent être par exemple, une la flore mésophile ou aérobie totale, et peut être on n'était pas capable de les mettre en évidence à cause de nos conditions de fermentation et aussi de culture (temps et température d'incubation).

Selon la bibliographie, la flore microbienne d'une graine de kéfir est composée de bactéries lactiques ($\sim 10^8 \sim 10^9$ UFC .ml⁻¹), de levures ($\sim 10^5 \sim 10^6$ UFC. ml⁻¹), de bactéries acétiques ($\sim 10^5 \sim 10^6$ UFC.ml⁻¹), et probablement d'une moisissure. Le rapport entre la microflore du kéfir varie selon l'origine. **(Özer and Kirmaci, 2014)**. Les analyses microbiologiques permettent de vérifier que le produit ne présente pas de risque pour la santé du consommateur, en tenant compte des conditions de conservation, des habitudes de consommation.

Conclusion

Le but de cette étude était de comparer les propriétés physico-chimiques et biologiques du lait de kéfir en fonction des périodes de fermentation (24h, 48h et 72h). Les analyses physiques ont révélé qu'il y avait une différence considérable de saveur entre les échantillons produits, ainsi qu'une diminution de densité par la fermentation de lactose et le dégagement du CO₂. Les analyses chimiques ont révélé à leurs tours que l'acidité titrable augmente en fonction de la durée de fermentation due à la formation d'acide lactique, par ailleurs le teneur en composés phénoliques a été très faible.

Les résultats microbiologiques ont été différents. En effet, on a enregistré une charge microbienne de 6,1.10⁵ UFC/ml pour le lait de kéfir (24h) et une absence de cette dernière pour le lait de 48h et de 72h. Néanmoins, nos résultats répondent au minimum de la flore totale selon la norme du FAO.

Compte tenu de l'ensemble des résultats obtenus, il nous semble que le lait du kéfir doit être consommé après une fermentation de 24 h seulement, parce qu'il présente des saveurs moins fortes et acceptables d'une part, et pour éviter aussi toutes troubles gastriques dues à l'acidité élevé et/ou aux gaz d'autre part.

A la fin de ce modeste travail, nous espérons que la recherche et les études continueront dans les buts d'améliorer le suivi de la qualité du lait de kéfir, le mécanisme de formation des grains de kéfir et sa composition microbiologique par d'autres analyses organoleptiques, par l'étude du développement de la microflore lors du processus de formation d'un grain de Kéfir et aussi l'identification moléculaire et biochimique des souches isolées à partir du grain.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Les références bibliographiques sont citées selon le modèle « Elsevier-Harvard (with titles) » en utilisant logiciel de gestion des références ZOTERO

Lettre A

Abraham, A.G., De Antoni, G.L., 1999. Characterization of kefir grains grown in cows' milk and in soya milk. *J. Dairy Res.* 66, 327–333.

<https://doi.org/10.1017/S0022029999003490>

Ahmed, Z., Wang, Y., Ahmad, A., Khan, S.T., Nisa, M., Ahmad, H., Afreen, A., 2013. Kefir and Health: A Contemporary Perspective. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 53, 422–434.

<https://doi.org/10.1080/10408398.2010.540360>

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

<https://doi.org/10.1017/S002202990002759X>

Assadi, M.M., Pourahmad, R., Moazami, N., 2000. Use of isolated kefir starter cultures in kefir production 3.

Lettre B

Boizot, N., Charpentier, J.-P., 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier 4.

Bottazzi, V., Bianchi, F., 1980. A Note on Scanning Electron Microscopy of Micro-organisms associated with the Kefir Granule. *J. Appl. Bacteriol.* 48, 265–268.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1980.tb01225.x>

Boumediou, A., Addoun, S., 2017. ÉTUDE ETHNOBOTANIQUE SUR L'USAGE DES PLANTES TOXIQUES, EN MÉDECINE TRADITIONNELLE, DANS LA VILLE DE TLEMCEN (ALGÉRIE).

Bourrie, B.C.T., Willing, B.P., Cotter, P.D., 2016. The Microbiota and Health Promoting Characteristics of the Fermented Beverage Kefir. *Front. Microbiol.* 7.

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00647>.

Lettre C

- Cevikbas, A., Yemni, E., Ezzedenn, F.W., Yardimici, T., Cevikbas, U., Stohs, S.J., 1994. Antitumoural antibacterial and antifungal activities of kefir and kefir grain. *Phytother. Res.* 8, 78–82. <https://doi.org/10.1002/ptr.2650080205>
- Cheriti, A., Belboukhari, N., Hacini, S., 2005. SAVOIR TRADITIONNEL ET VALORISATION DES PLANTES MEDICINALES DU SUD OUEST ALGERIEN 6.
- Choi Seung-hoon, 2007. WHO International Standard terminology On traditional medicine In the Western Pacific region.
- Codou Latyr FALL, 1997. études des fraudes du lait cru: mouillage et écrémage 93.

Lettre D

- Daira, N.E.-H., Maazi, M.C., Chefrou, A., 2016. Contribution à l'étude phytochimique d'une plante médicinale (*Ammoides verticillata* Desf. Briq.) de l'Est Algérien. *Bull. Société R. Sci. Liège* 85, 16.

Lettre E

- Epelboin, A., 2002. Médecine traditionnelle et coopération internationale. *Bull. Amades Anthropol. Médicale Appliquée Au Dév. À Santé*.

Lettre f

- Furukawa N., Matsuoka A., Yamanaka Y., 1990. Effects of orally administered yogurt and kefir on tumor growth in mice. *Nippon Eiyo Shokuryo Gakkaishi* 43, 450–453. <https://doi.org/10.4327/jsnfs.43.450>

Références bibliographiques

Lettre G

- Garbers, I., Britz, T.J., Witthuhn, R.C., 2004. PCR-based dENATURING GRADIENT GEL ELECTROPHORETIC typification and identification of the microbial consortium present in Kefir grains. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 20, 687–693.
<https://doi.org/10.1007/s11274-004-2624-3>
- Garrote, G.L., Abraham, A.G., De Antoni, G.L., 2001. Chemical and microbiological characterisation of kefir grains. *J. Dairy Res.* 68, 639–652.
<https://doi.org/10.1017/S0022029901005210>
- Garrote, G.L., Abraham, A.G., De Antoni, G.L., 1997. Preservation of Kefir Grains, a Comparative Study. *LWT - Food Sci. Technol.* 30, 77–84.
<https://doi.org/10.1006/fstl.1996.0135>
- Gaware, V., Kotade, K., Dolas, R., Dhamak, K., Somwanshi, S., Nikam, V., Khadse, A., Kashid, V., 2011. THE MAGIC OF KEFIR: A REVIEW 11.
- Gill, H.S., 1998. Stimulation of the Immune System by Lactic Cultures. *Int. Dairy J.* 8, 535–544. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(98\)00074-0](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(98)00074-0)
- Guzel-Seydim, Z., Wyffels, J.T., Seydim, A.C., Greene, A.K., 2005. Turkish kefir and kefir grains: microbial enumeration and electron microscobic observation+. *Int. J. Dairy Technol.* 58, 25–29. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2005.00177.x>

Lettre H

- Hammiche, V., Maiza, K., 2006. Traditional medicine in Central Sahara : Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *J. Ethnopharmacol.* 105, 358–367.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.11.028>
- Hammiche, V., Merad, R., Azzouz, M., 2013. Phytothérapie traditionnelle en Algérie, in: *Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen, Collection Phytothérapie pratique.* Springer Paris, Paris, pp. 18–20. https://doi.org/10.1007/978-2-8178-0375-3_2
- Harrison, v. c, Peat, G., 1975. serum cholesterol and bowel flora in the newborn. *Am.J.clin nutr* 28, 1351–1355.

Hertzler, S.R., Clancy, S.M., 2003. Kefir improves lactose digestion and tolerance in adults with lactose maldigestion. *J. Am. Diet. Assoc.* 103, 582–587.
<https://doi.org/10.1053/jada.2003.50111>

Lettre I

Irigoyen, A., 2005. Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage. *Food Chem.* 90, 613–620.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.04.021>

Isolauri, E., Joensuu, J., Luomala, M., Vesikari, T., 1995. Improved immunogenicity of oral D x RRV reassortant rotavirus vaccine 3.

Lettre J

John, S., Deeseenthum, S., 2015. properties and benefits of kefir. *sci.technol* 37, 275–282.

Lettre K

Kesenkaş, H., Gürsoy, O., Özbaş, H., 2017. Kefir, in: *Fermented Foods in Health and Disease Prevention*. Elsevier, pp. 339–361. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802309-9.00014-5>

Kim, S.-H., Jo, S.-H., Kwon, Y.-I., Hwang, J.-K., 2011. Effects of Onion (*Allium cepa* L.) Extract Administration on Intestinal α -Glucosidases Activities and Spikes in Postprandial Blood Glucose Levels in SD Rats Model. *Int. J. Mol. Sci.* 12, 3757–3769.
<https://doi.org/10.3390/ijms12063757>

Kong, K.L., Hendrich, S., 2012. Glycemic Index, Insulinemic Index, and Satiety Index of Kefir. *J. Am. Coll. Nutr.* 31, 280–287.
<https://doi.org/10.1080/07315724.2012.10720435>

Kuo, C.Y., Lin, C.W., 1999. Taiwanese kefir grains: their growth, microbial and chemical composition of fermented milk. *Dairy Technol.* 54, 19–23.

Kwon, Y.-I., Apostolidis, E., Shetty, K., 2006. Anti-Diabetes Functionality of Kefir Culture-Mediated Fermented Soymilk Supplemented with *Rhodiola* Extracts. Food Biotechnol. 20, 13–29. <https://doi.org/10.1080/08905430500522055>

Lettre L

Lasme-Guillao, D., 2011. 1-Service de Néonatalogie centre hospitalier et universitaire de Yopougon 2- Service de Pharmacovigilance de l'UFR de médecine de Cocody 12.

Lindsay, R.C., Day, E.A., 1965. Rapid Quantitative Method for Determination of Acetaldehyde in Lactic Starter Cultures. J. Dairy Sci. 48, 665–669. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(65\)88318-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(65)88318-7)

Link-Amster, H., Rochat, F., Saudan, K.Y., Mignot, O., Aeschlimann, J.M., 1994. Modulation of a specific humoral immune response and changes in intestinal flora mediated through fermented milk intake. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 10, 55–63. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.1994.tb00011.x>

Liu, J.-R., Wang, S.-Y., Lin, Y.-Y., Lin, C.-W., 2002. Antitumor Activity of Milk Kefir and Soy Milk Kefir in Tumor-Bearing Mice. Nutr. Cancer 44, 183–187. https://doi.org/10.1207/S15327914NC4402_10

Lopitz-Otsoa, F., Rementeria, A., Elguezabal, N., Garaizar, J., 2006. Kefir: una comunidad simbiótica de bacterias y levaduras con propiedades saludables. Rev. Iberoam. Micol. 23, 67–74. [https://doi.org/10.1016/S1130-1406\(06\)70016-X](https://doi.org/10.1016/S1130-1406(06)70016-X)

Lettre M

Marshall, V.M., Cole, W.M., Brooker, B.E., 1984. Observations on the structure of kefir grains and the distribution of the microflora. J. Appl. Bacteriol. 57, 491–497. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1984.tb01415.x>

Matar, C., Valdez, J.C., Medina, M., Rachid, M., Perdigon, G., 2001. Immunomodulating effects of milks fermented by *Lactobacillus helveticus* and its non-proteolytic variant. J. Dairy Res. 68, 601–609. <https://doi.org/10.1017/S0022029901005143>

- Matsuu, M., Shichijo, K., Okaichi, K., Wen, C.Y., Fukuda, E., Nakashima, M., Nakayama, T., Shirahata, S., Tokumaru, S., Sekine, I., 2003. The Protective Effect of Fermented Milk Kefir on Radiation-induced Apoptosis in Colonic Crypt Cells of Rats. *J. Radiat. Res. (Tokyo)* 44, 111–115. <https://doi.org/10.1269/jrr.44.111>
- Muir, D.D., Tamime, A.Y., Wszolek, M., 1999. Comparison of the sensory profiles of kefir, buttermilk and yogurt. *Int. J. Dairy Technol.* 52, 129–134. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.1999.tb02854.x>
- Murofushi, M., Mizuguchi, J., Aibara, K., Matuhasi, T., 1986. Immunopotentiative effect of polysaccharide from Kefir grain, KGF-C, administered orally in mice. *Immunopharmacology* 12, 29–35. [https://doi.org/10.1016/0162-3109\(86\)90049-4](https://doi.org/10.1016/0162-3109(86)90049-4)

Lettre N

- Nielsen, B., Gürakan, G.C., Ünlü, G., 2014. Kefir: A Multifaceted Fermented Dairy Product. *Probiotics Antimicrob. Proteins* 6, 123–135. <https://doi.org/10.1007/s12602-014-9168-0>
- Ninane, V., Berben, G., Romnee, J.-M., Oger, R., 2005. Variability of the microbial abundance of a kefir grain starter cultivated in partially controlled conditions. *Biotechnol Agron Soc Env.* 4.

Lettre O

- Ortiz-Andrade, R.R., García-Jiménez, S., Castillo-España, P., Ramírez-Ávila, G., Villalobos-Molina, R., Estrada-Soto, S., 2007. α -Glucosidase inhibitory activity of the methanolic extract from *Tournefortia hartwegiana*: An anti-hyperglycemic agent. *J. Ethnopharmacol.* 109, 48–53. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.07.002>
- Özer, B., Kirmaci, H.A., 2014. FERMENTED MILKS | Products of Eastern Europe and Asia, in: *Encyclopedia of Food Microbiology*. Elsevier, pp. 900–907. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00123-3>

Références bibliographiques

Lettre P

- Perdigón, G., Fuller, R., Raya, R., 2001. Lactic Acid Bacteria and their Effect-on the Immune System 17.
- Powell, J.E., Witthuhn, R.C., Todorov, S.D., Dicks, L.M.T., 2007. Characterization of bacteriocin ST8KF produced by a kefir isolate *Lactobacillus plantarum* ST8KF. *Int. Dairy J.* 17, 190–198. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2006.02.012>
- Punaro, G.R., Maciel, F.R., Rodrigues, A.M., Rogero, M.M., Bogsan, C.S.B., Oliveira, M.N., Ihara, S.S.M., Araujo, S.R.R., Sanches, T.R.C., Andrade, L.C., Higa, E.M.S., 2014. Kefir administration reduced progression of renal injury in STZ-diabetic rats by lowering oxidative stress. *Nitric Oxide* 37, 53–60. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2013.12.012>

Lettre R

- Rattray, F. P., O’Connell, M. J., 2011. Fermented Milks/kefir
- Rea, M.C., Lennartsson, T., Dillon, P., Drinan, F.D., Reville, W.J., Heapes, M., Cogan, T.M., 1996. Irish kefir-like grains: their structure, microbial composition and fermentation kinetics. *J. Appl. Bacteriol.* 81, 83–94. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1996.tb03286.x>
- Rosa, D.D., Dias, M.M.S., Grześkowiak, Ł.M., Reis, S.A., Conceição, L.L., Peluzio, M. do C.G., 2017. Milk *kefir* : nutritional, microbiological and health benefits. *Nutr. Res. Rev.* 30, 82–96. <https://doi.org/10.1017/S0954422416000275>

Lettre S

- Sanders, M.E., 1993. Effect of Consumption of Lactic Cultures on Human Health, in: *Advances in Food and Nutrition Research*. Elsevier, pp. 67–130. [https://doi.org/10.1016/S1043-4526\(08\)60116-3](https://doi.org/10.1016/S1043-4526(08)60116-3)
- Shiomi, M., Sasaki, K., Murofushi, M., Aibara, K., 1982. ANTITUMOR ACTIVITY IN MICE OF ORALLY ADMINISTERED POLYSACCHARIDE FROM KEFIR GRAIN. *Jpn. J. Med. Sci. Biol.* 35, 75–80. <https://doi.org/10.7883/yoken1952.35.75>

Références bibliographiques

- Simova, E., Beshkova, D., Angelov, A., Hristozova, T., Frengova, G., Spasov, Z., 2002. Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them 1–6.
- Smolyansky, J., 2010. Probiotics: A Historical Perspective 3.
- Sofiane, A., Djamaï, B., 2013. Suivi des paramètres physico-chimiques de deux laits fermentés l'ben industriel et l'ben traditionnel 54.
- Sreedevi, P., Ijину, T.P., Anzar, S., Bincy, A.J., George, V., Rajasekharan, S., Pushpangadan, P., 2013. Ethnobiology, ethnobotany, ethnomedicine and traditional knowledge with special reference to India 11.

Lettre T

- takahashi, T., Nakagawa, E., yajima, T., Kuwata, T., 1998. effect of orally ingested bifidobacterium longum on the mucosal IgA response of mice to dietary antigens. *Biosci.Biotechnol.biochem* 6, 10–15.
- Takano, T., 2002. Anti-hypertensive activity of fermented dairy products containing biogenic peptides, in: Siezen, R.J., Kok, J., Abee, T., Schasfsma, G. (Eds.), *Lactic Acid Bacteria: Genetics, Metabolism and Applications*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 333–340. https://doi.org/10.1007/978-94-017-2029-8_22
- Tamai, Y., Yoshimitsu, N., Watanabe, Y., Kuwabara, Y., Nagai, S., 1996. Effects of milk fermented by culturing with various lactic acid bacteria and a yeast on serum cholesterol level in rats. *J. Ferment. Bioeng.* 81, 181–182. [https://doi.org/10.1016/0922-338X\(96\)87601-X](https://doi.org/10.1016/0922-338X(96)87601-X)
- Tamime, A.Y., Society of Dairy Technology (Eds.), 2006. *Fermented milks*, Society of Dairy Technology series. Blackwell Science/SDT, Oxford ; Ames, Iowa.
- Tejada-Simon, M.V., Lee, J.H., Ustunol, Z., Pestka, J.J., 1999. Ingestion of Yogurt Containing *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* to Potentiate Immunoglobulin A Responses to Cholera Toxin in Mice. *J. Dairy Sci.* 82, 649–660. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75281-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75281-1)
- Teruya, K., Yamashita, M., Tominaga, R., Katakura, Y., Tokumaru, S., Barnes, D., Shirahata, S., 2001. Fermented Milk, Kefram-Kefir Enhances Glucose Uptake into Insulin-Responsive Muscle Cells, in : Lindner-Olsson, E., Chatzissavidou, N., Lüllau, E. (Eds.), *Animal Cell Technology: From Target to Market*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 13–15. https://doi.org/10.1007/978-94-010-0369-8_4

Références bibliographiques

Turkmen, N., 2017. Kefir as a Functional Dairy Product, in: Dairy in Human Health and Disease Across the Lifespan. Elsevier, pp. 373–383. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809868-4.00029-7>

Lettre V

Veronique L, 2008. Caractérisation du consortium microbien d'un grain de kéfir.

Vinderola, G., Perdigon, G., Duarte, J., Thangavel, D., Farnworth, E., Matar, C., 2006. Effects of kefir fractions on innate immunity. *Immunobiology* 211, 149–156. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2005.08.005>

Vogel, H.G., 1991. Similarities between various systems of traditional medicine. Considerations for the future of ethnopharmacology. *J. Ethnopharmacol.* 35, 179–190. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(91\)90071-K](https://doi.org/10.1016/0378-8741(91)90071-K)

Vujcic, I.F., Vuli, M., Knyves, T., 1992. Assimilation of cholesterol in milk by kefir cultures 4.

Lettre W

Witthuhn, R.C., Schoeman, T., Britz, T.J., 2004. Isolation and characterization of the microbial population of different South African kefir grains. *Int. J. Dairy Technol.* 57, 33–37. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2004.00126.x>

Wszolek, M., Tamime, A.Y., Muir, D.D., Barclay, M.N.I., 2001. Properties of Kefir made in Scotland and Poland using Bovine, Caprine and Ovine Milk with Different Starter Cultures. *LWT - Food Sci. Technol.* 34, 251–261. <https://doi.org/10.1006/food.2001.0773>

Lettre Y

Yuan, H., Ma, Q., Ye, L., Piao, G., 2016. The Traditional Medicine and Modern Medicine from Natural Products. *Molecules* 21, 559. <https://doi.org/10.3390/molecules21050559>

Références bibliographiques

Lettre Z

Zourari, A., Zourari, A., Anifantakis, E.M., 1988. Le kéfir. Caractères physico-chimiques, microbiologiques et nutritionnels. Technologie de production. Une revue. *Le Lait* 68, 373–392. <https://doi.org/10.1051/lait:1988424>