



Année Universitaire : 2013-2014

Filière ingénieurs
Industries Agricoles et Alimentaires



Rapport de stage du projet de fin d'études
pour obtenir le diplôme d'Ingénieur d'Etat

Production du Kéfir au sein de la Coopérative Laitière du Maroc Oriental

Réalisé par:

MISBAH Asmae

Encadré par:

- Mme. ZEJLI Aicha : chef de département recherche et développement de la COLAIMO
- Mr. TAHRI JOUTI Mohammed Ali : professeur à la faculté des sciences et techniques de Fès (FST)

Présenté le 25 juin 2014 devant le jury composé de:

- P^r. M.A. TAHRI JOUTI
- P^r. K. MISBAHI
- P^r. S. HALOTI

Stage effectué à : la Coopérative Laitière Maroc Oriental (COLAIMO)



Liste de tableaux

Tableau 1 : Fiche d'identification de la COLAIMO (P : 2).

Tableau 2 : Gamme des produits de la COLAIMO (P : 4).

Tableau 3 : Composition générale du lait de vache (P : 6).

Tableau 4 : Composition moyenne du lait de différentes espèces animales (P : 6).

Tableau 5 : Composition chimique des grains de kéfir d'origines diverses (P : 19).

Tableau 6 : résultats des analyses physico-chimiques des deux échantillons du lait cru (P:32).

Tableau 7: Normes des paramètres physico-chimiques du lait de vache (P : 33).

Tableau 8: Gamme étalon pour mesurer le taux d'éthanol présent dans le Kéfir (P : 40).

Tableau 9: Résultats des paramètres physico-chimiques des échantillons du Kéfir conservés au froid (P : 43).

Tableau 10 : Résultats de la mesure du paramètre pH des échantillons de Kéfir gardés à la température ambiante (P : 45).

Tableau 11 : Paramètres physico-chimiques du lait utilisé pour la préparation (P : 50)

Tableau 12 : Résultats des paramètres physico-chimiques des deux types de Kéfir 1 et 2 (P: 51).



Liste des abréviations

COLAIMO : Coopérative Laitière du Maroc Oriental.

C° : Degré Celsius.

CCL : Centre de Collecte de Lait.

°D : Degré Dornique.

DLC : Date Limite de Consommation.

ESD : Extrait Sec Dégraissé.

g : Gramme.

h : heure.

IR : Indice de Réfraction.

Jrs : Jours.

l : Litre.

MG : Matière Grasse.

T° : Température.

TA : Test d'Alcool.

TE : Test d'Ébullition.

TI : Test d'Inhibition.

t : Temps.

U : Unité



Liste des figures

- Figure 1** : Organigramme de la COLAIMO (P : 3).
- Figure 2** : Schéma général des opérations préliminaires et du traitement de lait (P : 7).
- Figure 3** : Diagramme de fabrication du Leben (P : 11).
- Figure 4** : Diagramme de fabrication du yaourt ferme et du yaourt brassé (P : 12).
- Figure 5** : Étapes essentielles de transformation du lait en fromage (P : 13).
- Figure 6** : Grains de Kéfir du lait (P : 15).
- Figure 7** : Grains de Kéfir de fruits (P : 16).
- Figure 8** : Illustration d'un grain de kéfir en grossissement de 7000X (P : 17).
- Figure 9** : Procédé de fabrication du Kéfir (P : 22).
- Figure 10** : Thermolactodensimètre (P : 28)
- Figure 11** : Butyromètre (P : 30)
- Figure 12** : Sachet des grains de Kéfir reçu (P : 37)
- Figure 13** : Solution mère des grains de Kéfir réhydratés (P : 38).
- Figure 14** : Echantillons du Kéfir préparés (P : 39).
- Figure 15** : Centrifugation du lait UHT et séparation du culot et de surnageant (P : 41).
- Figure 16** : Courbe et droite étalon de la variation de l'indice de réfraction en fonction des concentrations en éthanol (P : 42).
- Figure 17** : Courbe qui représente l'évolution de la variation du pH en fonction du temps (P : 44).
- Figure 18** : Courbe qui représente l'évolution de l'acidité Dornique en fonction du temps (P : 44).
- Figure 19** : Courbe qui représente la variation du taux d'alcool en fonction du temps (P : 44).
- Figure 20** : Courbe qui représente la variation du pH en fonction du temps (P : 45).
- Figure 21** : Les sachets des grains de Kéfir 1 et 2 (P : 50).



Introduction

Actuellement, le monde entier est en train de subir les conséquences de la crise financière et cherche à la surmonter avec un minimum de dégâts. Au Maroc, au niveau du secteur de l'industrie laitière, en plus de la crise dont il n'a pas été épargné, celui-ci connaît l'intensification de la concurrence avec l'arrivée de nouveaux acteurs.

Dans cette perspective et dans le but de conserver leur position et de maintenir leurs parts de marché, les entreprises laitières doivent développer de nouveaux produits en les adaptant aux évolutions de consommation.

Il s'agit donc, d'innover des formules exclusives, d'apporter de nouveaux arômes, d'améliorer la qualité visuelle (emballage, couleur...) et la qualité nutritionnelle telle que l'incorporation de probiotiques. Parmi les produits laitiers probiotiques, le kéfir, qui présente des bienfaits sur la santé humaine et utilisé pour lutter contre diverses maladies.

Le kéfir est un lait fermenté acidifié, légèrement gazéifié, contient peu d'alcool, de couleur blanchâtre et de consistance crémeuse.

Il est obtenu après fermentation du lait par des grains de kéfir, culminent une association symbiotique de bactéries lactiques, acétiques et de levures.

Ces grains sont, une production spontanée, qui ressemble à des petits choux-fleurs, sont remplacés par des levains lyophilisés contenant des souches pures isolées du kéfir, conduisant à un produit de qualité supérieure.

C'est dans ce sens que la Coopérative Laitière du Maroc Oriental, envisage l'intégration d'un nouveau produit à sa gamme diversifiée, le lait fermenté kéfir.

Cette fabrication est la première de son genre à l'échelle industrielle marocaine. Ce qui relève l'intérêt de ce projet de fin d'études.

Nous nous sommes intéressés, d'une part, à réaliser des essais de fermentation à petite échelle, du lait par les grains de kéfir, ces essais ont été conduits au sein de la Coopérative Laitière du Maroc Oriental et au laboratoire de la Faculté des Sciences et Techniques de Fès.

Nous avons, d'autre part, suivi la variation de certains paramètres physico-chimiques du lait fermenté kéfir.



Description de l'établissement d'accueil

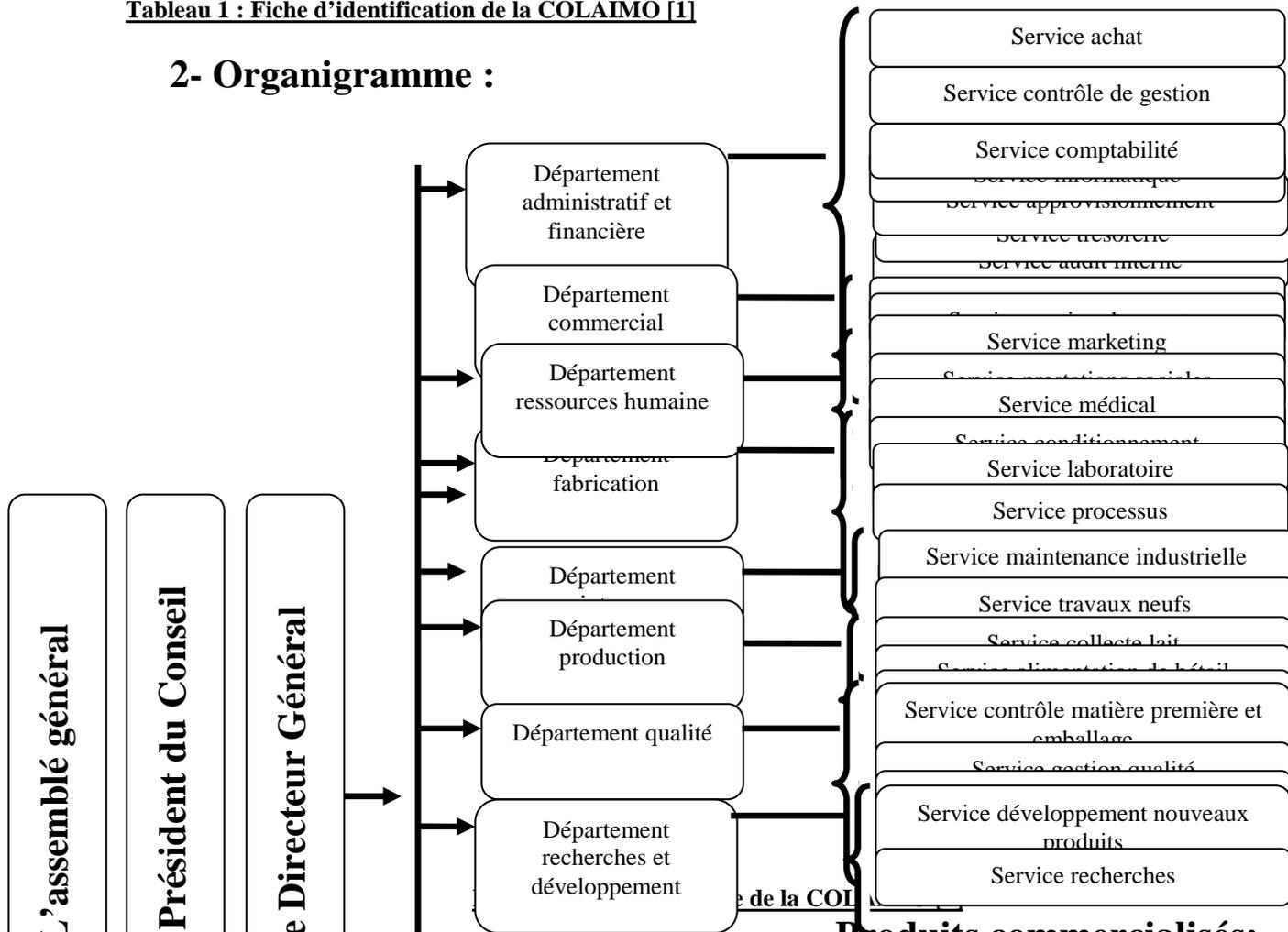
1- Informations générales :

Nomination	Coopérative Laitière du Maroc Oriental
Signe commercial	COLAIMO
Forme juridique	Coopérative
Superficie	38850 m ²
Siège social et usine	Route El Aounia
B.P (Boite Postal)	3133 Takadoum Oujda
Tel	05 36 74 03 66/ 05 36 74 11 59.
Fax	05 36 74 12 87
E-mail	Colaimo2@menara.ma
Capital	21 698 850 DH
Date de création	13 Novembre en 1953.
Date de démarrage	1956
Coopérateurs	3500
Effectif du personnel	324
Activité principale	Traitement et commercialisation du lait et ses dérivés
Activité secondaire	fabrication d'aliment de bétail



Tableau 1 : Fiche d'identification de la COLAIMO [1]

2- Organigramme :



Produits commercialisés:

se importance de l'innovation, la COLAIMO met à la disposition de ses
na s produits diversifiés qui répondent à leurs besoins et qui sont les suivants :

Tableau 2 : Gamme des produits de la COLAIMO [1]

Produits	
Lait pasteurisé (sachet ½ l et carton ½ l)	



Leben pasteurisé (sachet ½ l et carton ½ l)
Beurre frais (1 Kg, ½ Kg, ¼ Kg)
Yaourts à boire
Yaourts brassés
Yaourts fermes

Partie bibliographique



A. TECHNOLOGIE LAITIÈRE

I- Généralités sur le lait :

1- Définition :

- **Définition générale :**

Le lait est le produit élaboré par les glandes mammaires des femelles de mammifères après la naissance du jeune [10].

- **Définition légale :**

Le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne doit contenir de colostrum. Celui-ci est le produit sécrété par la mamelle la 1^{ère} semaine après le part. C'est un liquide visqueux, acide, salé, jaune et à odeur amère. Il est très riche en anticorps et en matières grasses (50-60g/l) et en vitamine A [10].

2- Composition chimique :

Le lait est un mélange complexe, composé d'une :

- **Phase continue:** solution aqueuse (sucres, protéines hydrosolubles, minéraux, vitamines hydrosolubles).
- **Phase dispersée:** matières grasses, vitamines liposolubles, colloïdes, caséines).

Le tableau 3 décrit la composition générale du lait de vache, qui varie selon [2] :

- La race.
- L'âge.



- L'alimentation.
- La période de lactation.
- La saison.

Tableau 3 : Composition générale du lait de vache [3]

Constituants majeurs	Variations (%)	Valeur moyenne (%)
Eau	85,5-89,5	87,5
Matière grasse	2,1-5,5	3,7
Protéines	2,9-5,0	3,2
Glucides	3,6-5,5	4,6
Minéraux	0,7-0,9	0,8
Constituants mineurs : enzymes, vitamines, pigments, cellules diverses, gaz		

Un autre facteur influant sur la composition du lait est l'espèce animale. On peut voir au tableau 4 la composition de différentes espèces animales.

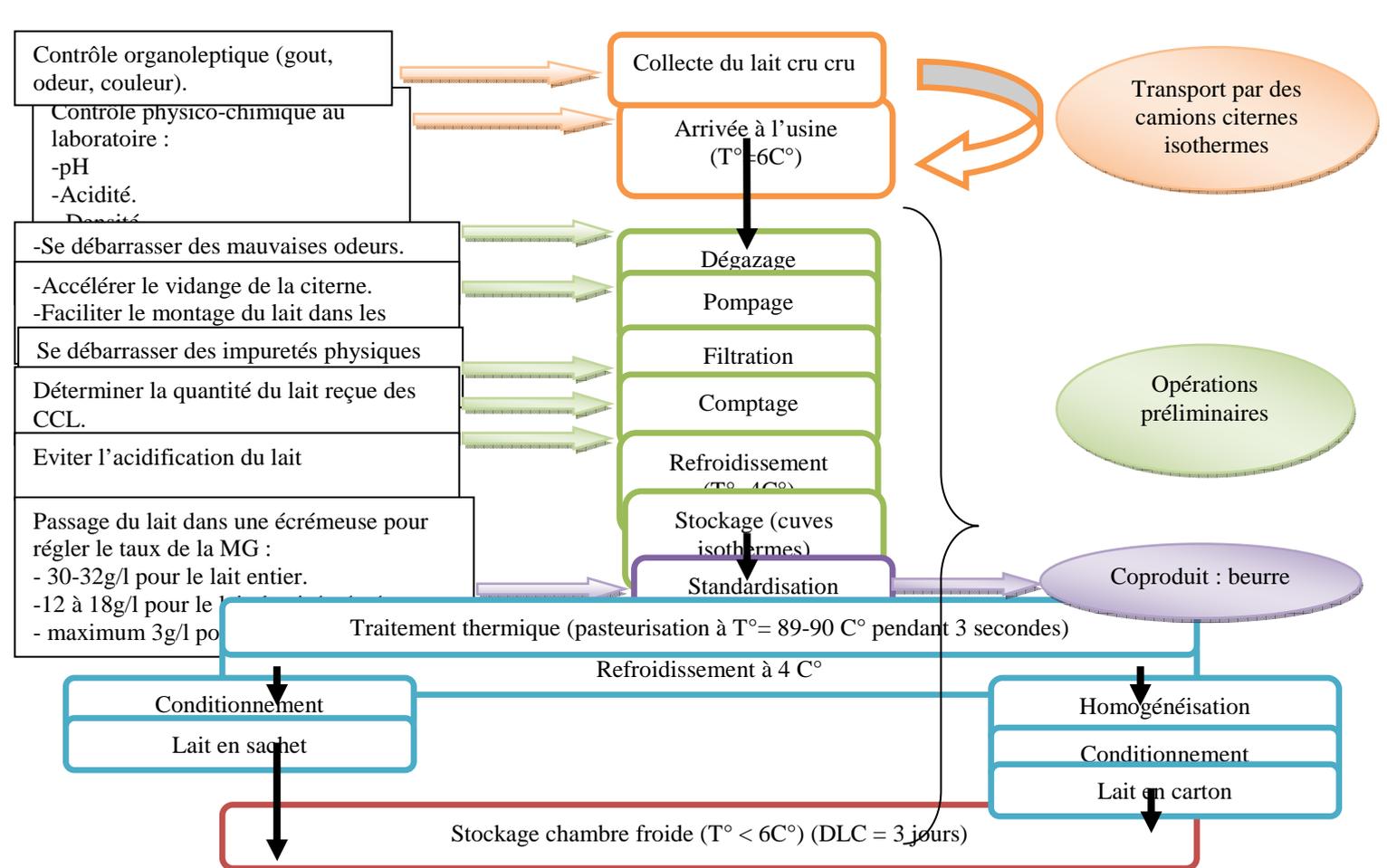
Tableau 4 : Composition moyenne du lait de différentes espèces animales [3]

Animaux	Eau (%)	Matière grasse (%)	Protéines (%)	Glucides (%)	Minéraux (%)
Vache	87,5	3,7	3,2	4,6	0,8
Chèvre	87,0	3,8	2,9	4,4	0,9
Brebis	81,5	7,4	5,3	4,8	1,0
Chamelle	87,6	5,4	3,0	3,3	0,7
Jument	88,9	1,9	2,5	6,2	0,5

II- Industrie et transformation laitière :

1- Opérations préliminaires et traitement du lait :

Le lait cru, collecté et transporté vers l'usine, subit différentes opérations (figure 2) avant sa commercialisation ou son utilisation dans la fabrication des dérivés fermentés.





2- Fermentation du lait :

Une large gamme de produits laitiers fermentés est commercialisée à travers le monde. Ces produits diffèrent par leur matière première, leur flore microbienne, leur technologie, leur texture, leur goût et leur durée de conservation.

2-1- Ferments lactiques :

Un ferment lactique est une préparation comprenant un grand nombre de micro-organismes (une seule espèce ou plusieurs), qui est ajoutée au lait pour produire un aliment fermenté en accélérant et en orientant son processus de fermentation.

La production des ferments lactiques est fondée sur la technique de la « culture pure », c'est-à-dire que, chaque colonie microbienne se compose de cellules qui proviennent toutes de la même cellule. Ceci assure que les cultures ne sont pas un mélange de différents micro-organismes inconnus et elles peuvent donc être dénombrées et exploitées pour produire des réactions biochimiques [5].

a- Taxonomie des microorganismes utilisés comme ferments lactiques:

- **Levures :** sont des micro-organismes largement utilisés aux procédés de production de produits laitiers notamment les fromages, et pour la production de certains laits fermentés (*Candida kéfir*, *Torulopsis kéfir*). Les levures interviennent essentiellement par production d'éthanol [5].
- **Moisissures:** sont utilisées également pour la production d'une large gamme de fromages. Les espèces les plus couramment utilisés sont *Penicillium camemberti*, *Penicillium roqueforti* [5].
- **Bactéries lactiques :** utilisées dans l'industrie laitière sont restreints à cinq genres principaux : *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Pediococcus* [5].

b- Qualité et critères de sélection des ferments lactiques :

La sélection des ferments lactiques s'appuie sur de nombreux critères afin de répondre à la fois aux spécifications demandées par l'utilisateur et aux contraintes imposées par le producteur.

Cette sélection s'appuie sur de nombreux critères qui relèvent habituellement des [5] :

- **Fonctionnalités technologiques :**

- Activité acidifiante.



- Activité post-acidifiante.
 - Métabolisme des sucres.
 - Activité gazogène.
 - Activité antimicrobienne.
 - Production de composés d'arômes.
 - Propriétés protéolytiques et peptidasiques.
 - Propriétés lipolytiques.
- La sélection d'un ferment fait généralement appel à plusieurs de ces propriétés simultanément.

• **Performances :**

Les bactéries devront répondre à certaines des spécificités suivantes :

- Résistance aux bactériophages.
- Tolérance aux inhibiteurs de la croissance, tels que les antibiotiques.
- Résistance aux traitements mécaniques (centrifugation, ultrafiltration).
- Aptitude à la congélation ou à la lyophilisation.
- Aptitude à la conservation (congelée ou lyophilisée) pendant plusieurs mois.
- Comportement en présence d'oxygène.
- Tolérance au chlorure de sodium (pour les productions fromagères).
- Tolérance au saccharose (cas des laits fermentés sucrés).
- Tolérance à l'acidité.
- Tolérance aux températures élevées (fabrications fromagères thermophiles).
- Compatibilité avec d'autres souches.
- Facilité d'emploi.

• **Propriétés probiotiques :**

Lors de la sélection des ferments probiotiques, outre les caractéristiques précédentes, il faut prendre en compte certaines spécificités liées à leur activité probiotique. Ces spécificités correspondent essentiellement à des propriétés de résistance lors du passage dans l'estomac, dans le duodénum et dans l'intestin.

Les probioiques possèdent d'énormes bienfaits sur la santé.

Les principales propriétés recherchées sont les suivantes :

- Résistance aux acides (acides gastriques).



- Résistance aux sels biliaires.
- Aptitude à adhérer aux parois intestinales.
- Production de substances antimicrobiennes (bactériocines).
- Activité immunostimulante.
- Activité antioxydante.

- **Critère de sécurité :**

Les bactéries susceptibles d'être produites et utilisées comme ferments lactiques ne doivent évidemment pas présenter de caractère pathogène et/ ou générer des substances toxiques. C'est le cas de la plupart des espèces de bactéries lactiques, qui possèdent le statut GRAS (*Generally Recognized As Safe*), à l'exception de certains entérocoques.

Les préparations de ferments commerciaux doivent, en outre, être exemptes de substances infectieuses ou susceptibles de provoquer des problèmes d'hygiène. Elles ne doivent pas contenir de contaminants tels que des coliformes,

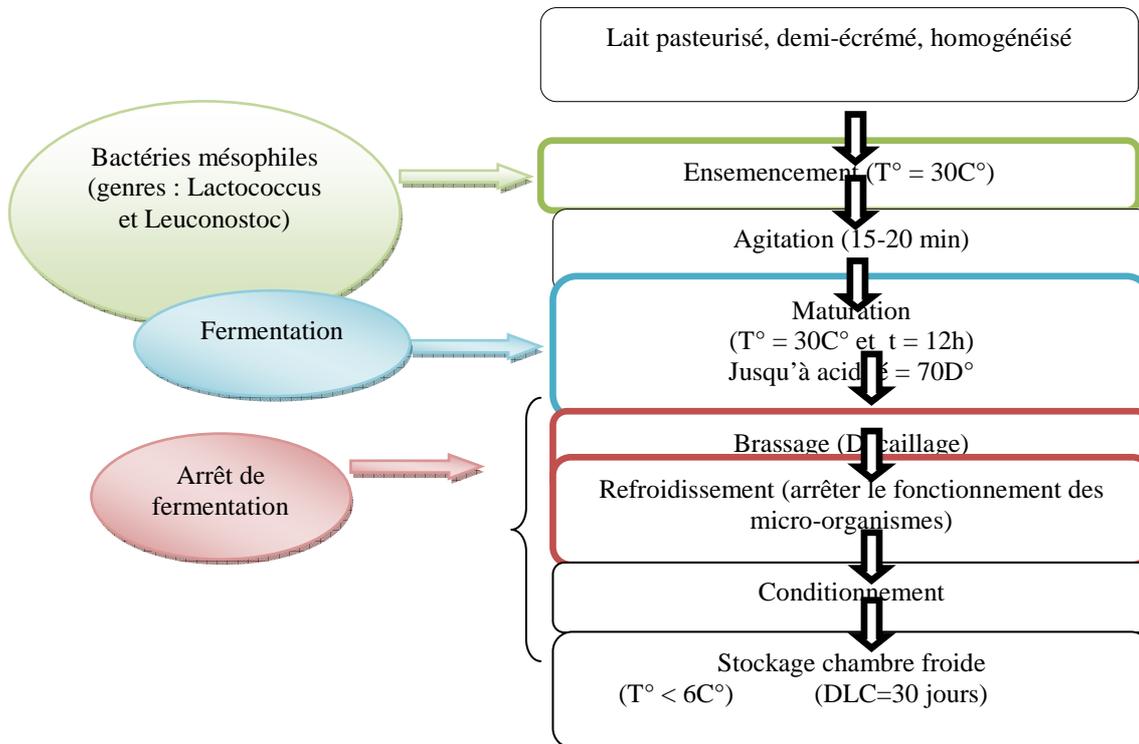
2.2- Laites fermentés :

Les laits fermentés les plus consommés au Maroc sont : le leben, les yaourts et les fromages.

a- Leben :

Sa préparation artisanale est simple, le lait est coagulé spontanément par les micro-organismes qui se trouvent de façon naturelle dans le lait à température ambiante et dure 24 à 48 h selon la saison. Le barattage qui lui succède dure 30 à 40 minutes. A la fin du barattage, on ajoute généralement un certain volume d'eau (environ 10 % du volume du lait), chaude ou froide, suivant la température ambiante, de façon à ramener la température de l'ensemble à un niveau convenable au rassemblement des grains de beurre [5].

Le leben est produit également à l'échelle industrielle selon les étapes mentionnées sur la figure 3.

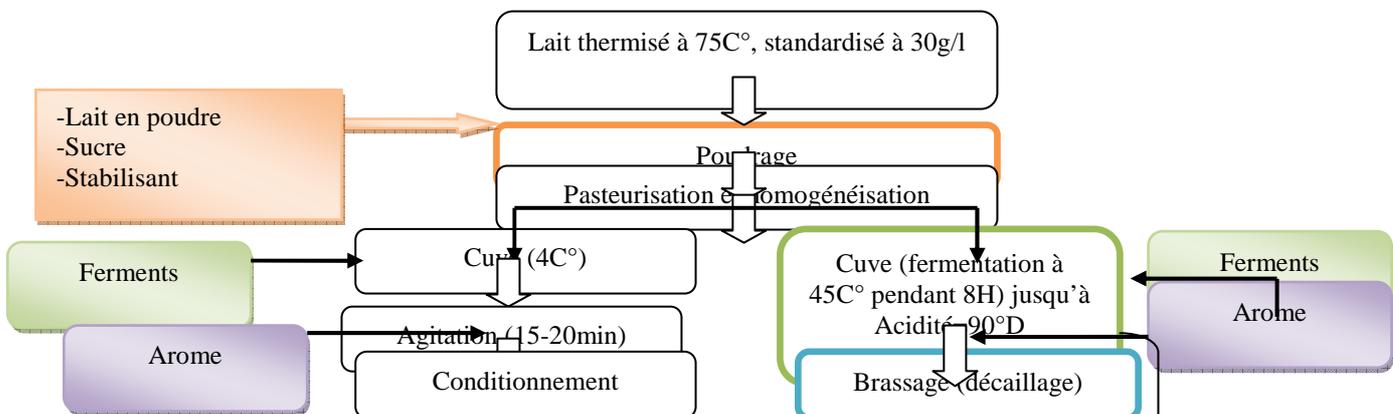


b- Yaourts :

Le yaourt est un lait fermenté obtenu exclusivement par la coagulation du lait sous l'action de deux bactéries : *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* [5].

Le yaourt existe en trois types:

- Yaourt ferme.
 - Yaourt brassé.
- Selon les étapes de la figure 4.



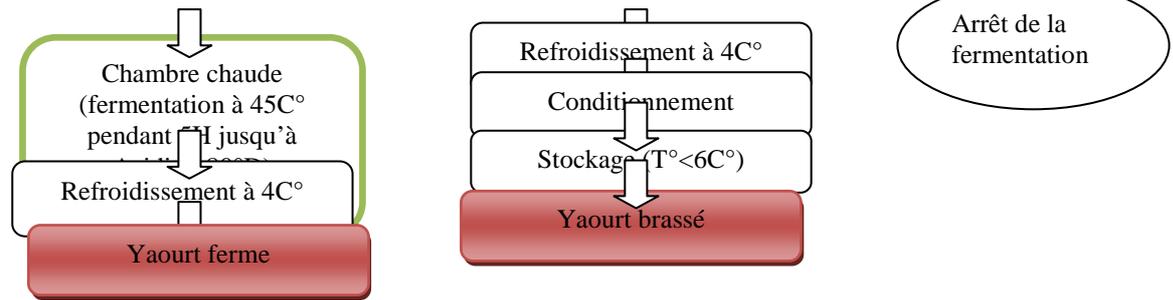


Figure 4 : Diagramme de fabrication du yaourt ferme et du yaourt brassé [4]

-Yaourt à boire :

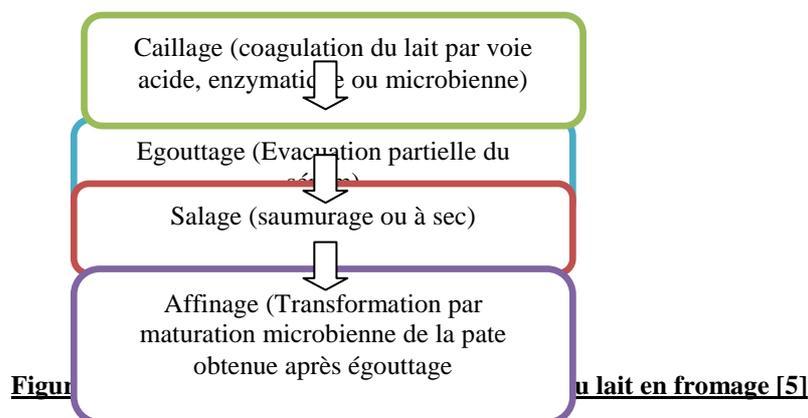
Il se différencie du yaourt brassé par son :

- Etat liquide.
- L'utilisation du lait demi-écrémé à 18g/l au lieu du lait entier à 30g/l.
- L'absence de la poudre du lait dans le mélange [4].

c- Fromages :

Le but de l'industrie fromagère est de transformer le lait en un produit d'utilisation prolongée et de goût différent grâce à diverses actions microbiennes et enzymatiques.

La transformation du lait en fromage comporte quatre étapes essentielles (Figure 5). Dans le cas d'un fromage frais, la fabrication est terminée après l'égouttage.





Il existe environ 4000 variétés de fromages dans le monde, toutes élaborées en quatre étapes selon un même procédé. Les interventions particulières que l'on effectue à certaines étapes déterminent telle ou telle variété. Par conséquent, on a pu classer les fromages en un nombre restreint de catégories de fromages [5] :

- Fromages à pâte fraîche.
- Fromage à pâte ferme.
- Fromage à pâte molle.
- Fromages à pâte persillée.
- Fromages fondus.

→ Il existe d'autres produits laitiers fermentés, autres que ceux cités jusqu'à présent, à titre d'exemple le « Kéfir » qui fait le sujet du chapitre suivant.

B. TECHNOLOGIE DU KEFIR

I- Généralités :

Le kéfir (parfois képhir ou encore selon les origines keefir, kephir, kewra, talai, mudu kekiya, milkkefir ou búlgaros) est une boisson issue de la fermentation du lait ou de jus de fruits sucrés.

En tant qu'aliment vivant, fournissant certains oligoéléments et de nombreuses espèces de micro-organismes, il est considéré comme un probiotique et utilisé pour ses propriétés diététiques (flore, transit, etc.).

La boisson obtenue est légèrement gazeuse (présence de CO₂) et contient un peu d'alcool, ce taux est très faible comparé aux fermentations alcooliques les plus courantes, et le degré alcoolique se situe aux alentours de 1 %. Il peut varier suivant la durée de la fermentation.

Il ne faut pas confondre la dénomination « kéfir » qui désigne le produit obtenu avec les « grains de kéfir » qui sont des amalgames de micro-organismes formant des « grains » plus ou moins friables dont on se sert pour ensemercer la boisson.



Un proche parent du kéfir est le kombucha. Il s'agit d'une autre culture à base d'organismes unicellulaires, originaire de Chine et se présentant sous forme d'une membrane gélatineuse permettant la fermentation de boissons sucrées, traditionnellement du thé noir sucré [11].

1- Historique :

L'histoire du kéfir remonte à quelques siècles mais les premiers écrits qu'on a retrouvé date de 1866. Ils furent rédigés par le docteur Jogin de la Société Médicale du Caucase. Celui ci relate des témoignages de bergers caucasiens qui s'aperçurent que certains laits qu'ils transportaient dans leurs outres fermentaient et ils se transformaient en yaourt liquide, au goût aigrelet et légèrement mousseux. En nettoyant les outres, ils trouvèrent des petits grains opaques de la taille d'un grain de riz et de couleur blanchâtre. Ces grains ressemblaient à de minuscules choux-fleurs.

Ce yaourt liquide était appelé « Kéfir » et les petits grains blancs « grains de kéfir ». Le mot Kéfir vient du mot turc « Keif » qui veut dire se sentir bien.

Les bergers du Caucase découvrirent que ce yaourt liquide avait des vertus nutritionnelles et thérapeutiques exceptionnelles. En buvant régulièrement du kéfir, ils constatèrent qu'ils étaient en meilleure forme et qu'ils étaient moins souvent malades [12].

2- Définitions :

Il existe deux types de Kéfir :

a- Kéfir de lait :

C'est une boisson de couleur blanchâtre, de consistance plus ou moins crémeuse, mousseuse, acidifiée et légèrement alcoolisée. Obtenue après la fermentation du lait par de petits grains de couleur blanchâtre, ressemblants à de minuscules choux-fleurs (Figure 6) [13].

Les grains de kéfir sont un assemblage complexe de micro-organismes qui croissent en symbiose.



Figure 6 : Grains de Kéfir du lait [13]

b- Kéfir de fruits (ou kéfir des eaux) :

Le kéfir de fruits est une boisson doucement pétillante, désaltérante, légèrement acidulée et peu sucrée que l'on consomme de préférence bien fraîche.

Obtenue après la fermentation de l'eau sucrée, parfois en présence de morceaux de fruits, par des petits grains translucides (Figure 7), appelés grains de kéfir de fruits.

Pour se développer, ils utilisent le sucre mis dans de l'eau ; en se multipliant, ils fabriquent un peu d'acide et de gaz [14].



Figure 7 : Grains de Kéfir de fruits [11]

3- Production et consommation mondiale :

Dans les pays de l'Est, le kéfir est le lait fermenté le plus populaire. Chiffrée, la consommation annuelle moyenne de kéfir en Union Soviétique était estimée à quelque 5 litres par personne dans les années 80.

En 1997, les seuls Moscovites en auraient consommé quotidiennement 400 tonnes, ce qui équivaut à environ 16 litres par personne et par an.

Dans ces pays, la demande en kéfir en justifiait une production à l'échelle industrielle. En 1981, des laiteries roumaines produisent jusqu'à 100 000 litres de kéfir par jour, tandis que certaines de laiteries polonaises en produisaient respectivement 22 et 32 millions de litres en 1982 et en 1988. Aujourd'hui, de grands groupes laitiers investissent dans des lignes locales de production de kéfir. Pour tenir compte des habitudes alimentaires locales, le yaourt au bifidus actif que l'on connaît chez nous a été réinterprété et ainsi devenu un lait fermenté de type kéfir pour le marché russe. Le kéfir est connu en d'autres pays encore, notamment en Europe et aux États-Unis. Ils s'emblent que hors des frontières de l'Union Soviétique, la production du kéfir soit le plus souvent limitée à une échelle domestique ou artisanale [7].

II- Aspect microbiologique :

1- Structure des grains de Kéfir :

Les grains de kéfir sont des masses gélatineuses, irrégulières, de taille variable. À l'état frais, ils sont blanchâtres et rappellent les inflorescences de la chou fleur.

À l'état sec, ce sont des masses dures, jaunes ou rouges, au sein desquelles se trouvent les micro-organismes du kéfir dont la vitalité dépend des conditions de dessèchement et de conservation des grains.

Observés en microscopie électronique, les grains de kéfir révèlent la présence de bactéries et de levures étroitement associées à une certaine matrice spongieuse (figure 8).

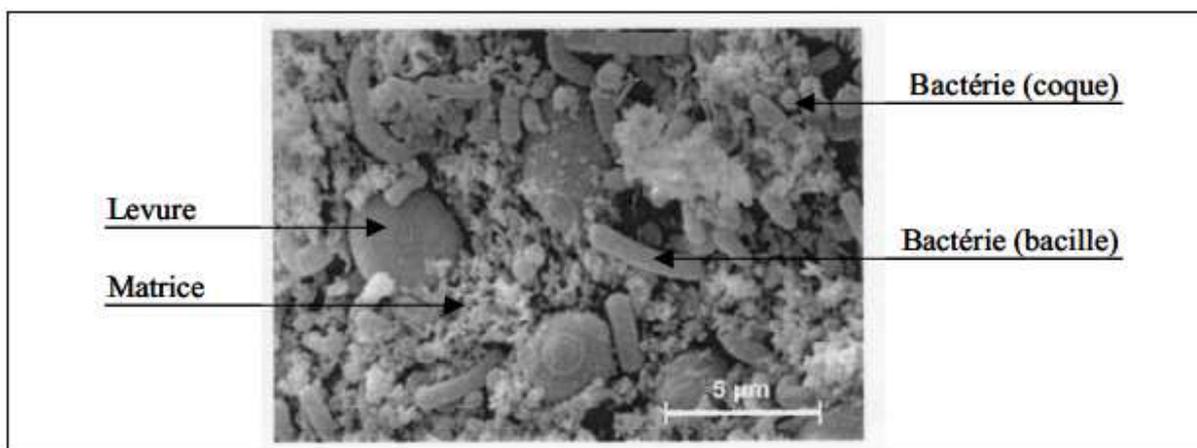


Figure 8 : Illustration d'un grain de kéfir en grossissement de 7000X [7]



Ces observations relèvent une absence d'agencement structuré entre les bactéries et les levures. Tous les auteurs s'accordent à dire que certains observent une plus grande concentration de levures à la surface d'un grain et une plus grande concentration de bactéries à l'intérieur du grain, d'autres observent le contraire [7].

2-La microflore des grains de kéfir et son évolution durant la fermentation :

Les études publiées sur la composition microbienne de grains de kéfir mettent en lumière une microflore complexe, souvent composée de plusieurs espèces de bactéries et de levures, parfois associées à d'autres micro-organismes (annexe 1).

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

- Au genre *Lactobacillus*, qui inclut les espèces homofermentaires (*Lb. acidophilus*, *Lb. crispatus*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. gallinarum*, *Lb. gasseri*, *Lb. helveticus*, *Lb. kefirano-faciens*).
- Au genre *Lactobacillus* et 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* (*S.thermophilus*) ainsi qu'aux genres hétérofermentaires *Leuconostoc* (*Ln.mesenteriodes* et *Ln.lactis*) et *Weissella* (*W.viridescens*).

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*.

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 contaminants : *Acinetobacter sp.*, *Bacillus sp.*, *Enterobacter sp.*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas sp.* et *Sphingobacterium sp* [7].



→ Chaque groupe microbien, suivant ses propriétés physiologiques, prédomine pendant une phase différente de la préparation du kéfir [6] :

- **Les streptocoques lactiques mésophiles** produisent de l'acide lactique au début de la fermentation.
- **Ensuite, le développement des lactobacilles** augmente l'acidité qui diminue la population des streptocoques.
- **Les leuconostocs** se multiplient plus lentement.
- **Les levures et les bactéries acétiques** se développent plus tardivement par rapport aux bactéries lactiques.

3- Composition chimique des grains de kéfir :

Les données relatives à la composition chimique des grains de kéfir traduisent une substance essentiellement constituée d'eau, dont la fraction non aqueuse contient principalement des sucres et des protéines.

La composition chimique globale des grains de kéfir d'origines diverses est donné dans le tableau 5 :

Tableau 5 : Composition chimique des grains de kéfir d'origines diverses [6]

Pays d'origine	Eau	Mat. sèche	Composition de la matière sèche			
			Mat. grasse	Prot. ⁽²⁾	SENA ⁽³⁾	Cendres
URSS	89,5	10,5	2,8	30,3	59,3 (40,1)	7,6
Yougoslavie	88,9	11,1	4,3	31,4	57,2 (42,1)	7,2
Yougoslavie	90,0	10,0	3,5	34,5	55,0 (40,1)	7,0
Bulgarie	90,6	9,4	3,5	34,4	53,4 (35,8)	8,7

(1) Tous les résultats sont exprimés en %.
(1) All the results are expressed in percent.
(2) Protéines.
(2) Proteins.
(3) Substances extractibles non azotées. Entre parenthèses figurent les estimations des sucres réducteurs, après hydrolyse sous conditions acides.
(3) Nitrogen free extract. Between brackets the reducing sugars after acid hydrolysis.



La matrice des grains de kéfir contient un polysaccharide spécifique, jamais isolé d'un autre substrat et nommé pour cette raison « kéfirane », c'est un polysaccharide soluble dans l'eau qui a la particularité de gélifier en présence d'alcool.

III- Préparation du Kéfir :

Il existe plusieurs moyens de production du kéfir. Actuellement, les études sont menées par les scientifiques afin de mettre au point des techniques modernes de production du kéfir avec les mêmes caractéristiques que le kéfir traditionnel.

1- Préparation artisanale :

Traditionnellement, le lait est fermenté à partir des grains de Kéfir en masse, déjà séparés d'une préparation préalable.

-Onensemence, dans un bocal en verre (non métallique) contenant ½ litre de lait :

- Cru (préalablement bouilli ou non).
- Lait U.H.T entier, demi-écrémé ou écrémé (l'utilisation d'un lait entier donne un kéfir plus crémeux).
- Ou même du lait en poudre reconstitué.

-Par les grains, selon des proportions variables en fonction du goût désiré :

- A raison de 2 à 10%.
- Un dosage de 10g à 50g pour un ½ litre de lait (soit une moyenne de 30g de grains par ½ litre de lait).
- Correspond à 2 ou 3 cuillères à soupe de grains par ½ litre de lait.

-Onincube le bocal inoculé à la température ambiante (20 à 25C°) et à l'abri de la lumière pendant 18 à 24 heures.

-De temps en temps on remue doucement pour homogénéiser l'ensemble (pas indispensable, mais cela donne un kéfir bien mousseux).

-Lors du début de la fermentation, on ne doit pas fermer le bocal pas le couvercle, car la fermentation est aérobie, et donc de préférence recouvert d'une mousseline, ou d'un tulle, pour éviter la poussière et les insectes ainsi pour échapper le CO₂ produit.



- Au bout de 24h environ (36 h maximum), le lait doit avoir coagulé et les grains remontés à la surface.
- On sépare les grains avec une petite passoire en plastique, et on remet le lait fermenté au réfrigérateur jusqu'à consommation (sa durée de vie est de 3 jours au réfrigérateur).
- Les grains seront utilisés immédiatement pour une autre opération.
- Si on désire conserver ces grains pour une longue durée, la méthode la plus simple est la congélation. On doit rincer soigneusement les grains à l'eau non chlorée puis les égoutter dans une passoire en plastique et enfin on les laisse sécher sur un papier absorbant durant quelques minutes et puis on les place dans un sac en plastique, on les saupoudre de lait déshydraté (lait en poudre) afin de les recouvrir, on ferme le sac et on le place dans le congélateur.
- Pour réactiver les grains congelés, on les trempe quelques minutes dans l'eau froide, on les rince abondamment à l'eau non chlorée pour éliminer le lait en poudre et on les place dans du lait à température ambiante dans les proportions suivantes : 1/3 de grains pour 2/3 de lait (réactivation des grains), pendant 24 heures [16].

2-

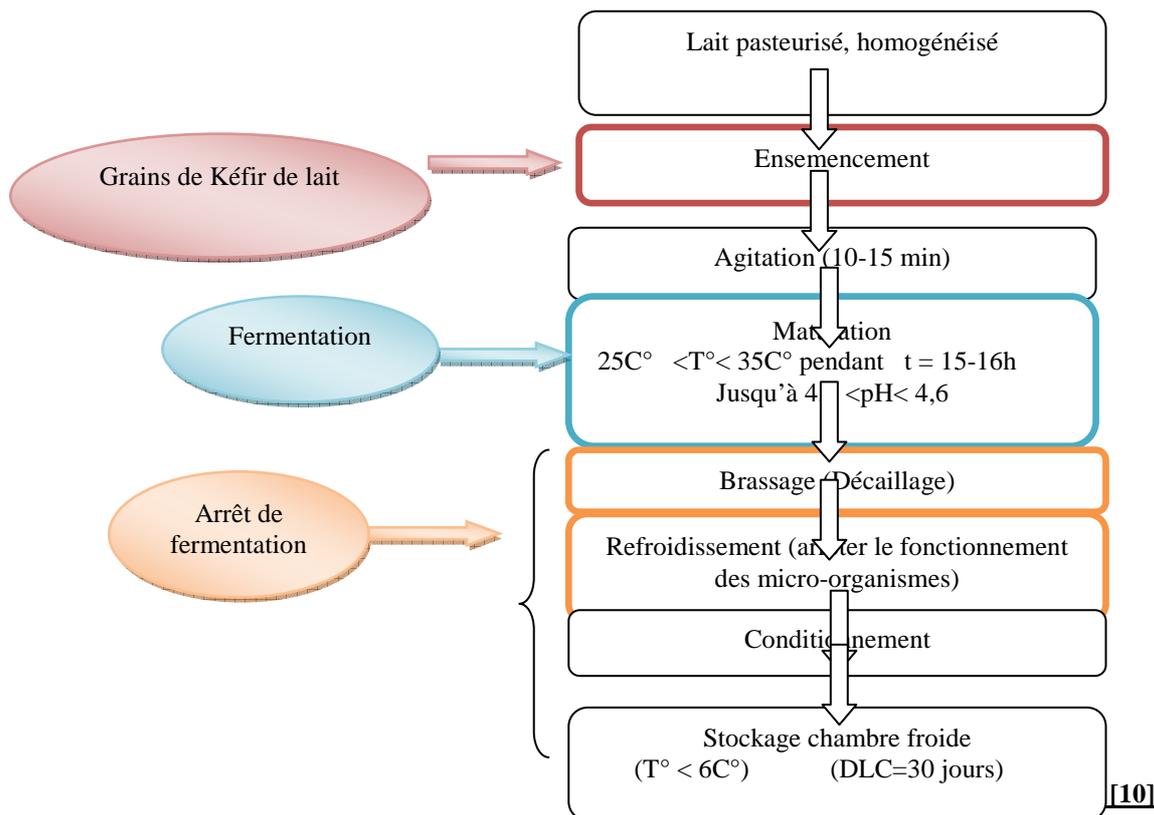
Préparation

industrielle :

Pour l'industrie, la production de kéfir selon la méthode traditionnelle n'est pas indiquée étant donné qu'elle nécessiterait beaucoup trop de grains de kéfir, ce qui pose des problèmes tant sur le plan de la production que sur le plan qualitatif.

Par ailleurs, le goût de levure prononcé du grain de kéfir traditionnel est mal perçu par de nombreux consommateurs. C'est pourquoi en Europe occidentale, le grain de kéfir est en général remplacé par une culture commercialisée. Les produits de l'industrie sont plus doux et le goût de levure y est moins prononcé, en même temps que leur teneur en alcool est plus faible que celle du kéfir de production traditionnelle [8].

Le kéfir est produit à l'échelle industrielle selon les étapes mentionnées sur la figure 9.





IV- Composition chimique :

La composition chimique du kéfir dépend de l'origine et de la composition des grains de kéfir et des laits utilisés. Quatre composés présentent des variations: la matière grasse, l'acide lactique, l'alcool et le CO₂.

- **Le taux de matière grasse** : dépend de l'origine du lait utilisé (de vache, de brebis, de chèvre ...) et du choix du fabricant (lait entier, écrémé ou partiellement écrémé [6]).
- **Le taux d'acide lactique** : rapporté varie entre 6 et 10g/l par suite des différentes méthodes de préparation et de la microflore utilisée [6]. Ainsi, ce taux ne doit pas être inférieur à 6g/l [9].
- **Le taux d'alcool** : varie considérablement entre 0,01 % et 1 % [6].

Remarque :

On a trouvé que le kéfir industriel en Allemagne renfermait moins de 0,01 % d'alcool. Bien inférieur à ce que l'on rapporte dans la littérature.

Le kéfir industriel en Europe de l'Est contient un taux d'alcool de 0,01 à 0,04 % et le produit traditionnel de 0,03 à 1 %.

On peut donc supposer que, dans divers pays, la variabilité de la composition du kéfir reflète des différences éventuelles du processus de fabrication [6].

- **Le taux de CO₂** : dépend du procédé appliqué et varie entre 0,08 % et 0,2 % [6].

La valeur calorique du kéfir varie suivant sa composition :

- Au lait entier, il fournit environ 64 calories par 100 g.
- Au lait à 2 % de M.G, il fournit 53 calories par 100 g.
- Au lait écrémé, il fournit 36 calories par 100 g [17].



V- Qualité nutritionnelle du Kéfir :

Selon la littérature médicale et scientifique russe le kéfir est favorable pour prévenir et guérir de nombreux troubles de santé [18] :

- Ulcère d'estomac.
- Asthme.
- Catarrhe bronchique.
- Pneumonie.
- Troubles de la vésicule biliaire.
- Inflammations chroniques des intestins.
- Maladies de la vessie.
- Troubles nerveux.
- Urticaires et d'eczémas.

Partie pratique



A. Etude des paramètres physico-chimiques du lait cru :

Ces analyses consistent à déterminer à la fois, les paramètres biochimiques du lait et sa composition élémentaire, de ce fait, permettent d'avoir une idée sur sa qualité, sa capacité à subir les opérations ultérieures et de découvrir les fraudes dont cet aliment peut être l'objet.

I- Matériel et méthodes :

Les analyses suivantes ont été effectuées sur deux échantillons de lait cru.

1- Mesure du pH :

Principe :

Nous avons utilisé un pH mètre à électrode étalonné par le responsable métrologie.

Mode opératoire :

-Nous avons mis un volume de lait dans un bêcher.



- Nous avons introduit l'électrode du pH mètre dans le bêcher.
-Une fois la valeur s'est équilibré nous avons lu directement sur l'écran la valeur affichée du pH.

2- Mesure de l'acidité :

Principe :

Naturellement le lactose contenu dans le lait se dégrade progressivement par les bactéries en acide lactique, ce dernier faisant augmenter le taux d'acidité Dornique dans le lait.

C'est un indicateur de fraîcheur. Moins le lait est frais, plus il contient d'acide lactique.

Mode opératoire :

- Nous avons pris 10ml du Lait + 3 gouttes de phénophtaléine.
-Nous avons réalisé un titrage par la solution de NaOH (N/9) jusqu'à l'apparition de la couleur rose pale (zone de virage).
-Et puis, nous avons déterminé l'acidité en degré Dornic °D par la formule suivante :

$$C_0 = (C_1 \times V_1 \times M_{ac.lact}) / V_0$$

Avec : C_0 : Concentration du lait en acide lactique (g/l).

V_0 : Volume de lait (10ml).

C_1 : Concentration en mol/l de la soude (0,111 mol/l).

V_1 : Volume de la soude versé (ml).

$M_{ac.lact}$: Masse Molaire de l'acide lactique (91g/mol).

C_0 est exprimée en g/l de l'acide lactique présent dans le lait, et sachant que :

1°D \rightarrow 0,1 g/l de l'acide lactique.

On aura :

$$D = C_0 / 0,1$$

3- Mesure de la densité :

Principe :

La densité du lait est le rapport de la masse volumique du lait sur celle de l'eau. Le test permet de détecter s'il y a mouillage du lait ou non.

Mode opératoire :

-Nous remplissons le lait dans une éprouvette puis nous trempons le thermolactodensimètre (figure 10) et quand il prend son équilibre, nous lisons la valeur de « la densité lue DI » et la valeur de la température.

Figure 10 : thermolactodensimètre

-Et puis nous déterminons la
suivante :

$$DC = DI \pm (| T - 20 |)$$

- Si $T^{\circ} > 20$ on met le
- Si $T^{\circ} < 20$ on met le
- Si $T^{\circ} = 20$ on aura $Dc = DI$



densité corrigée par la formule

Densité corrigé
Densité lue
Température du
lait

signe +
signe -



4- Test d'alcool :

Principe :

Ce test nous permet d'avoir une idée sur la charge microbienne et d'apprécier la qualité du lait. Si le lait est mélangé avec l'alcool, fait des grumeaux (floculation), il sera instable à l'ébullition. C'est parce que les germes vont transformer le lactose en acide lactique, le milieu sera légèrement acide et donc les protéines seront instables. En ajoutant l'alcool cette instabilité des protéines est traduite par l'apparition de grumeaux.

Mode opératoire :

- Dans un tube à essai on met 2 ml du lait.
- Nous ajoutons 2 ml d'alcool de 76° puis on agite le tube manuellement.
- Nous déterminons, par la suite, visuellement s'il y a apparition des grumeaux (test positif) ou absence des grumeaux (test négatif).
- Si le test est positif avec l'alcool 76° nous passons à l'alcool 72° et puis l'alcool 68° jusqu'à ce que le test soit négatif.
- Nous notons le type d'alcool ou le test était négatif.

5-

Test

d'ébullition :

Principe :

Si le lait contient une charge microbienne importante, cette dernière va transformer le lactose du lait en acide lactique, conduisant à sa coagulation une fois chauffé. Donc, si ce lait passera au pasteurisateur il va coaguler. Pour prévenir ce problème un test d'ébullition doit avoir lieu.

Mode opératoire :

- Nous portons un échantillon de lait dans un tube à essais dans un bain-marie à 100C°.
- Après 10 minutes, nous observons visuellement s'il y a formation d'un coagulum le test est dit « positif », s'il y a absence de coagulum le test est « négatif ».

6- Test d'inhibition :



Principe :

Nous avons utilisé un récepteur (de nature enzymatique) nommé « Béta star » pour la recherche rapide, dans le lait, de résidus actifs d'antibiotiques de la famille des beta-lactames (pénicillines, céphalosporines) utilisés dans la prévention et le traitement des maladies infectieuses des femelles laitières et en particulier les mammites.

Ces récepteurs forment avec cette famille d'antibiotiques des complexes récepteurs-antibiotiques qui ne peuvent pas être retenus par une bandelette chromatographique.

Mode opératoire :

- Nous avons mis 50 μ l de lait dans un cône qui contient 25 μ l du récepteur.
- Incubation à 47,5°c pendant 3 min.
- Nous avons plongé une bandelette dans le cône pendant 2 min.
- Nous faisons la lecture de la bande.

Lors de la première étape d'incubation, les antibiotiques béta-lactamines, s'ils sont présents, se lient au récepteur.

Pendant la seconde étape, trempage de la bandelette, les récepteurs qui ne sont pas liés aux antibiotiques sont retenus par la bandelette, donnant ainsi une coloration rouge.

Donc en cas de présence de la béta-lactames en excès, cette dernière se lie à tous les récepteurs qui existent, en formant des complexes récepteur-antibiotique qui ne peuvent être retenus par la bandelette et donc aucune coloration n'apparaît, ou bien apparition d'une couleur rose très claire.

7- Test de la matière grasse :

Principe :

On dissout les caséines et les phosphates insolubles du lait par l'ajout de l'acide sulfurique concentré, puis par l'adjonction d'une petite quantité d'alcool amylique, on facilite la séparation de la matière grasse qui s'effectue sous l'influence de la chaleur et de la force centrifuge.

Mode opératoire :

- Nous prenons 11 ml de lait.
- Nous ajoutons 10 ml d'acide sulfurique concentré.
- Puis 1 ml d'alcool.
- Le tout est mis dans le butyromètre (figure 11), on le ferme bien, on homogénéise et on centrifuge (1000 tours/min pendant 5 min à 55C°).
- La graduation du butyromètre indique en grammes la quantité de matière grasse contenue dans 100 cm³ de lait (c'est-à-dire dans 0,1 l de lait) et par une règle de trois, on détermine le nombre de grammes d'acide lactique par 1 litre de lait.



Figure 11 : Butyromètre

8- Mesure de l'extrait sec dégraissé :

Principe :

L'extrait sec dégraissé correspond à l'ensemble des composants de la matière sèche à l'exception des matières grasses.

Mode opératoire :

- Nous pesons une capsule métallique (inox) vide et on note sa masse (mc).
- Nous mettons 5ml du lait dans la capsule (me).
- Nous mettons la capsule contenant du lait dans le bain-marie à 100C° pendant 30 min.
- Nous l'avons mis dans l'étuve (103C°) pendant 3h.
- Nous l'avons mis au dessiccateur (contient le gel de silice) pour enlever l'humidité pendant 20 min et on pèse le poids final (Pf).



-Nous calculons l'extrait sec dégraissé selon les formules suivantes :

$$\text{EST} = (\text{Pf} - \text{mc}) / \text{me}$$

$$\text{ESD} = (\text{EST} \times \text{d}) - \text{MG} / \text{d} - (\text{MG} \times 0,001)$$

II- Résultats :

Les résultats de la mesure des paramètres physico-chimiques du lait cru sont présentés dans le tableau suivant :



Tableau 6 : résultats des analyses physico-chimiques des deux échantillons du lait cru

	pH	Acidité (°D)	Densité	TA	TE	TI	ESD	MG (g/l)
E1	6,55	15,0	1,031	72° ⁽⁻⁾	(-)	(-)	88,4	32,5
E2	6,45	16,0	1,032	72° ⁽⁻⁾	(-)	(-)	87,7	29,5

→ On remarque que les valeurs qui correspondent aux deux échantillons du lait sont proches les unes aux autres.



III- Discussions :

Avant toute constatation, les valeurs trouvées doivent être comparées à celles de la norme (tableau 7) :

Tableau 7: Normes des paramètres physico-chimiques du lait de vache [4]

Paramètres	Normes
pH	6,4-6,8
Acidité	14-16°D
Densité	1,028-1,033
TA	72°(-) ou 68°(-) mais doit être confirmé par un TE
TE	négatif
TI	Négatif
MG	30-45g/l
ESD	86-95

-Nos résultats démontrent que pour l'échantillon 1 tous les paramètres sont conformes.

-Concernant l'échantillon 2, les résultats trouvés sont conformes sauf la teneur en MG=29,5g/l de lait qui est inférieure à la valeur exigée par la norme. Dans ce cas, un mélange de ce lait avec un autre qui contient une teneur élevée en matière grasse est suffisant pour résoudre le problème.

En fait, la standardisation (une étape ultérieure) est capable, grâce à une écrémeuse, de corriger la teneur finale de la MG, en tenant compte du type de lait qu'on désire produire (lait écrémé, demi-écrémé).

Décisions :

- Les deux échantillons de lait cru analysés sont des laits frais acceptés.
- Autorisation de la décharge des camions citernes.
- La capacité de ces laits à subir les opérations et traitements ultérieures est confirmée.



IV- Limitations de l'étude :

Mon travail effectué au laboratoire de la COLAIMO concernant la matière première (lait cru) présente la limitation suivante:

- Une étude de la qualité du lait aurait été meilleure si les analyses étaient effectuées pendant une période prolongée sur une large gamme d'échantillons du lait cru. Cela, me permettra d'avoir un spectre élargi de résultats et donc les données seront plus représentatives. Cependant, il ne m'a pas été possible de réaliser cette expérience en raison de l'interdiction d'accès des stagiaires au laboratoire d'une manière fréquente.

B. Etude des paramètres physico-chimiques du lait fermenté kéfir :

I- Matériel et méthodes :

1- Fermentation du lait UHT par les grains de Kéfir :

Pour réaliser cette expérience nous avons utilisé comme ingrédients :

- **Grains de Kéfir :**

C'est une « culture lactique avec levure », importée par « CHR Hansen » ; une entreprise destinée à la fabrication d'ingrédients pour l'industrie laitière.

Le sachet reçu (figure 12) comporte 100 U de ferments sous forme lyophilisée, qui doivent être réhydratés pour les revivifier.

Toute information concernant ces grains est disponible sur le certificat délivré par le fournisseur (annexe 2).

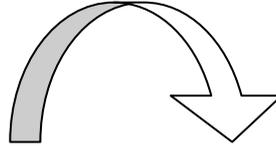


Figure 12: Sachet des grains de Kéfir

recu [10]

• **Lait UHT :**

C'est un lait stérilisé par traitement à haute température, dans le but de s'assurer que les ingrédients de départ ne présentent aucune

contamination et pour pouvoir faire un suivi du produit fini sans risque d'altération.

a- Réhydratation des grains de Kéfir :

Il s'agit d'une revivification des grains de Kéfir lyophilisés, par réhydratation dans le lait. Pour se faire nous avons procédé de la façon suivante :

- Nous avons fait sortir la culture du congélateur juste avant leur emploi.
- Nous avons désinfecté le dessus du sachet à l'eau de javel.
- Nous avons fait ouvrir le sachet et on l'a versé directement dans un erlenmeyer contenant 1l du lait UHT et un barreau magnétique.
- Nous avons porté l'erlenmeyer sur un agitateur pendant 15min pour une distribution homogène de la culture.
- Cette solution préparée est appelée « Solution mère » (figure 13).



Figure 13 : Solution mère des grains de Kéfir réhydratés

b- Préparation des échantillons du lait fermenté Kéfir :

Il s'agit en un premier temps de calculer la dose nécessaire pour l'ensemencement :

-Selon le certificat délivré par le fournisseur (annexe 2) on a 50U sert à fermenter 500 l du lait, cela revient à dire que 100U sert à fermenter 1000 l du lait.

-Or, nous avons réhydraté précédemment 100U dans 1 l de lait pour préparer la solution mère. Cette dernière sert donc à fermenter 1000 l de lait.

-Dans cette expérience nous n'avons fermenté que 3 l de lait UHT, par la règle de trois on a déterminé le volume de la solution mère nécessaire pour l'ensemencer.

$$\begin{array}{l} 1 \text{ l de la solution mère (100U)} \quad \rightarrow \quad 1000 \text{ l de lait} \\ X \text{ l de la solution mère} \quad \quad \quad \rightarrow \quad 3 \text{ l de lait} \end{array} \quad \left. \vphantom{\begin{array}{l} 1 \text{ l de la solution mère (100U)} \\ X \text{ l de la solution mère} \end{array}} \right\} X = 3 \text{ l} / 100 \text{ l} = 0,003 \text{ l} = 3 \text{ ml}$$

-Donc, dans un bocal nous avons versé 3 l du lait UHT et nous avons ajouté 3 ml de la solution mère.

-Après mélange, nous avons versé le laitensemencé dans 12 erlenmeyers de 250 ml, ce qu'on appellera par la suite échantillons de Kéfir.

-Nous avons fermé les erlenmeyers qui contiennent les échantillons par du parafilm (figure 14).



Figure 14 : Echantillons du Kéfir préparés

-Nous avons mis les échantillons à l'incubateur réglé à 30C° pendant 16h (barème température/temps est proposé sur le certificat du fournisseur).

-Nous avons fait sortir l'erlenmeyer n° :1 après un séjour de 14h à l'incubateur (pour mesurer son pH dans le but de savoir si la maturation est atteinte).



- Une fois les 16h sont terminées, nous avons fait sortir tous les autres erlenmeyers de l'incubateur.
- Nous les avons mis sous agitation pour assurer le décaillage.
- Par la suite, on a mis 9 erlenmeyers (n° :2 jusqu'à n° :10) au réfrigérateur pour arrêter la fermentation tandis que 2 erlenmeyers (n° :11 et n° :12) ont été gardé à la température ambiante.

2- Suivi de certains paramètres physico-chimiques du Kéfir:

Les mesures des paramètres physico-chimiques des échantillons de Kéfir préparés ont été réalisé sur :

- **Les 9 échantillons conservés au réfrigérateur :**

Nous avons fait sortir chaque jour un échantillon du réfrigérateur, pendant une période de 8 jours, pour mesurer ses paramètres (pH, acidité, taux d'alcool). Dans le but d'étudier la stabilité du Kéfir si les conditions de stockage sont bien respectées (le froid- l'étanchéité).

- **Les 2 échantillons gardés à la température ambiante :**

Nous avons mesuré le pH des 2 échantillons gardés à la température ambiante pendant 8 jours. Dans le but de savoir l'évolution de la fermentation si les conditions de stockage ne sont pas respectées.

- a- **Mesure du pH et de l'acidité :**

De la même façon qu'auparavant.

- b- **Détermination du taux d'alcool :**

La méthode qu'on a utilisé pour mesurer le taux d'alcool fait appel à une gamme étalon composées de 6 tubes et puis nous avons mesuré l'indice de réfraction de chaque tube (tableau 8).

Tableau 8: Gamme étalon pour mesurer le taux d'éthanol présent dans le Kéfir

Tubes	1 (témoin)	2	3	4	5	6 (éthanol pur)
-------	------------	---	---	---	---	-----------------

Surnageant du lait UHT (ml)	10	9,95	9,9	9,85	9,8	0
Ethanol pur (ml)	0	0,05	0,1	0,15	0,2	10
Volume final (ml)	10	10	10	10	10	10
Concentration en éthanol (%)	0	0,5	1	1,5	2	100
Indice de Réfraction (à 25C°)	1,3420	1,3428	1,3432	1,3437	1,3440	1,3594

Avant la préparation de cette gamme étalon, on a centrifugé des petites quantités du lait UHT dans une centrifugeuse (6250 tours/min pendant 16min) pour séparer le culot du surnageant (figure 15) ce dernier qui sera utilisé pour préparer la gamme étalon.



Figure 15 : Centrifugation du lait UHT et séparation du culot et de surnageant

Principe et mode opératoire :

Dans cette expérience, la boisson qu'on veut déterminer son degré alcoolique est le Kéfir, préparée à partir du lait.

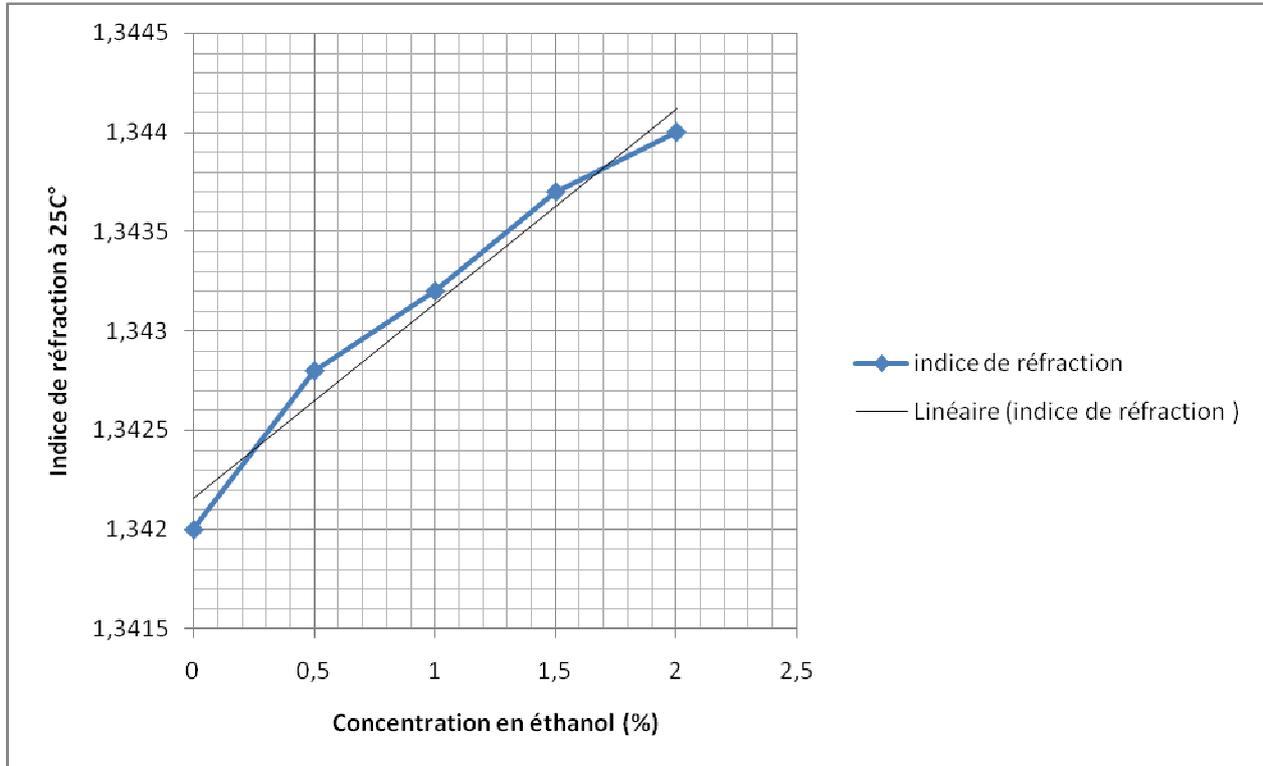
Cette matière première, qui est le lait sert comme solution de base dans laquelle on va ajouter des concentrations croissantes d'alcool éthylique et lire leurs indices de réfraction par un réfractomètre.

Or, le lait n'étant pas limpide, peut fausser la lecture. Pour résoudre ce problème on a centrifugé le lait pour se débarrasser de sa phase solide et n'utiliser que sa phase liquide, qui contient principalement de l'eau, un milieu où l'alcool est miscible.



→ La droite étalon tracée est la suivante :

Figure 16 : Représentation graphique de la variation de l'indice de réfraction en fonction des concentrations en éthanol :



On a mesuré par la suite l'indice de réfraction des échantillons de Kéfir, et par extrapolation sur la droite précédente on a pu déterminer approximativement leurs taux d'éthanol.

II- Résultats et discussions :

1- Résultats :

1.1- Les paramètres physico-chimiques des échantillons de Kéfir gardés au froid :



Les paramètres physico-chimiques qu'on a mesurés pendant 8 jours, sur les échantillons de kéfir conservés au froid sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 9: Résultats des paramètres physico-chimiques des échantillons du Kéfir conservés au froid :

	pH	Acidité (°D)	IR	Taux d'alcool
E1 (après 14H dans l'incubateur)	4,61	---	---	---
E2 (t_0 =juste après maturation/ 16H dans l'incubateur)	4,55	77	1,3424	0,25
E3 (t_1 =1jrs au réfrigérateur)	4,57	77	1,3424	0,25
E4 (t_2 =2jrs)	4,53	78	1,3423	0,1
E5 (t_3 =3jrs)	4,55	77	1,3425	0,3
E6 (t_4 =4jrs)	4,53	78	1,3426	0,5
E7 (t_5 =5jrs)	4,50	79	1,3420	0
E8 (t_6 =6jrs)	4,54	78	1,3425	0,3
E9 (t_7 =7jrs)	4,55	78	1,3427	0,6
E10 (t_8 = 8jrs)	4,55	77	1,3425	0,5

Après avoir enregistré ces données, on a tracé les courbes qui représentent l'évolution des paramètres : pH, acidité, taux d'alcool mesurés en fonction du temps :

- **L'évolution du pH en fonction du temps :**

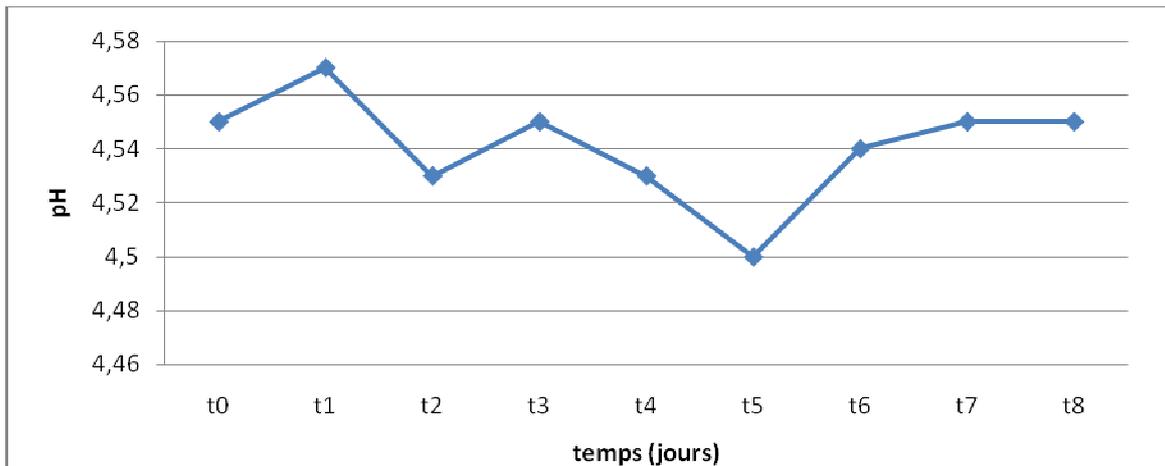


Figure 17 : Courbe qui représente l'évolution de la variation du pH en fonction du temps :

- **L'évolution de l'acidité en fonction du temps :**

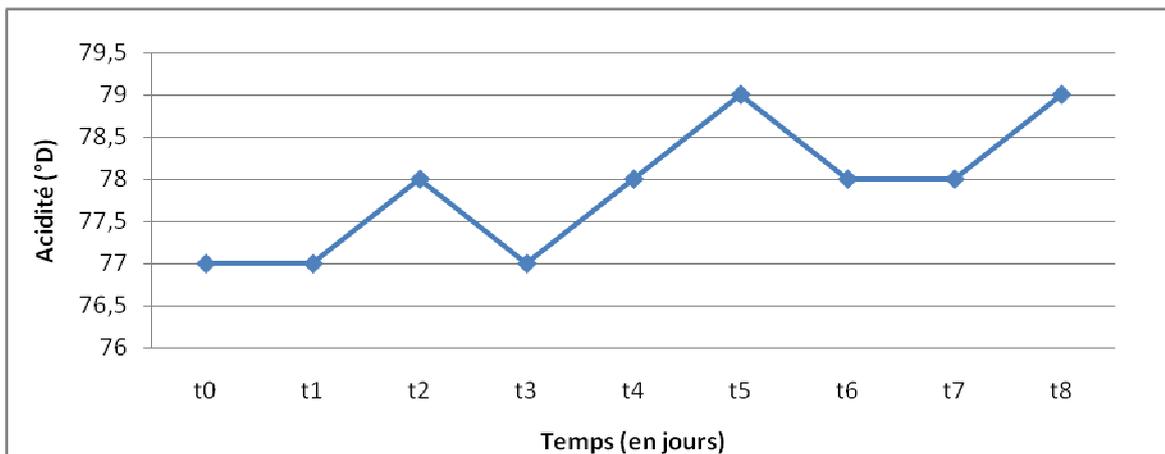


Figure 18 : Courbe qui représente l'évolution de l'acidité Dornique en fonction du temps

- **L'évolution du taux d'alcool en fonction du temps :**

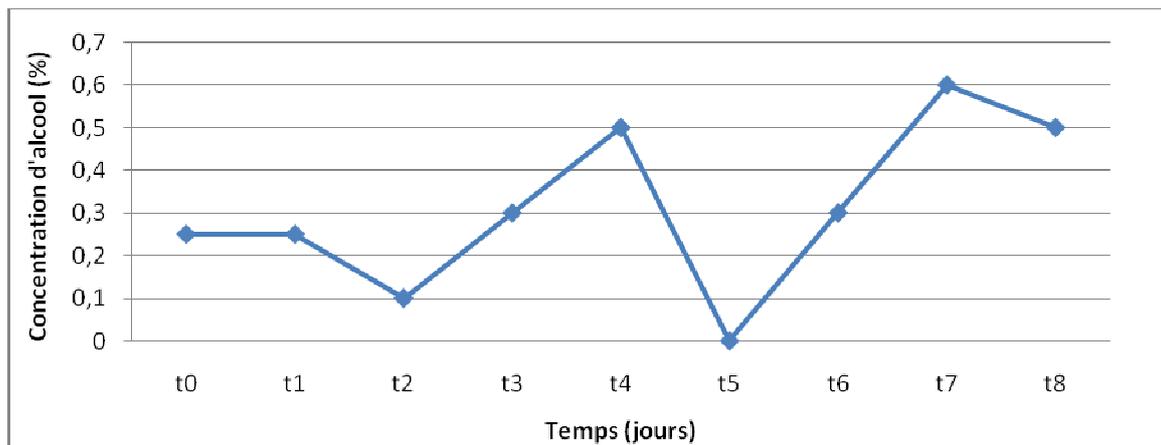


Figure 19 : Courbe qui représente la variation du taux d'alcool en fonction du temps

1.2- Les paramètres physico-chimiques des échantillons de Kéfir gardés à la température ambiante :

Les valeurs du pH des échantillons de Kéfir gardés à la température ambiante, qu'on a mesuré pendant 8 jours, sont regroupées dans le tableau suivant :

Tableau 10 : Résultats de la mesure du paramètre pH des échantillons de Kéfir gardés à la température ambiante :

pH	4,61	4,55	4,51	4,50	4,49	4,47	4,55	4,77	4,98	5,29
Temps (jours)		t ₀	t ₁	t ₂	t ₃	t ₄	t ₅	t ₆	t ₇	t ₈

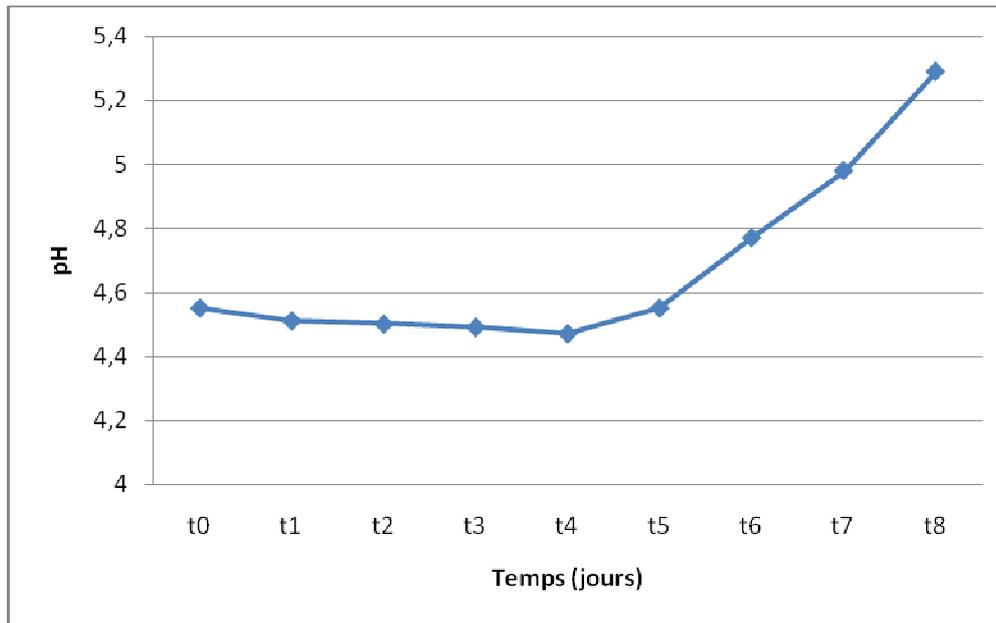


Figure 20 : Courbe qui représente la variation du pH en fonction du temps :

1- Discussions :

2.1- Principaux constats :

a- Echantillons conservés au froid :

- **Le pH :**
- A t_0 (après 16H d'incubation à 30C°), le pH est à 4,55 si on compare cette valeur aux données mentionnées sur la courbe du certificat délivré par le fournisseur des grains de Kéfir (annexe 2, p 2/4) on trouve la même chose (pH=4,5 après 16H d'incubation à 30C°).



– Pendant un stockage des échantillons de Kéfir au froid, pendant 8 jours, le pH varie entre 4,50 et 4,57, ce qui montre qu'il reste stable. Cela signifie la fermentation s'est arrêté par le biais du respect de la chaîne de froid.

• **L'acidité :**

– Pendant un stockage des échantillons de Kéfir au froid pendant 8 jours, l'acidité est comprise entre 77 et 79°D (ou bien 7,7 et 7,9 g d'acide lactique par litre du Kéfir). Si on compare ces résultats avec les normes (l'acidité du Kéfir est comprise entre 6 et 10 g/l [6]) on constate que nos échantillons sont toujours inclus dans cet intervalle.

– La variation de l'acidité de 77 à 79°D, reflète une stabilité de cette grandeur durant toute la période de 8 jours au réfrigérateur. Cela signifie que la flore lactique, au froid, ne transforme plus le lactose en acide lactique.

• **Le taux d'alcool :**

– Pendant un stockage des échantillons de Kéfir au froid pendant 8 jours, le taux d'alcool varie entre 0,25 et 0,6 %. Si on compare ces résultats avec les normes (le taux d'alcool du Kéfir industriel varie entre 0,01 et 1% [6]) on constate que nos échantillons sont inclus dans cet intervalle.

– On remarque des fluctuations des valeurs concernant le taux d'alcool produit dans le Kéfir. Cela est dû, probablement, à l'activité des levures responsables de la fermentation alcoolique, qui sont actives même à des basses températures. Ou bien, la présence de plusieurs substances dans le Kéfir qui peuvent influencer les résultats de la lecture des indices de réfraction.

b- Echantillon gardé à la température ambiante:

– Le pH du Kéfir gardé à la température ambiante, reste stable, entre 4,50 et 4,55 pendant les 2 premiers jours, ce qui indique qu'il garde toujours sa fraîcheur.



-
- Par la suite, il commence à diminuer jusqu'à 4,47. Cette diminution du pH se traduit par l'augmentation des acides dans le milieu, par le biais des microorganismes, qui, leur fonctionnement est accéléré puisque la chaîne de froid n'est pas appliquée.
 - Après 5 jours, le pH commence à augmenter pour atteindre 5,29 au bout de 8 jours. Normalement, on s'attendait à ce que le pH continue à diminuer, or ce résultat inattendu peut être interprété par les suppositions suivantes :
 - Peut être il y a présence des bactéries qui, pour survivre, consomment les acides comme substrats, rendant ainsi le milieu pauvre en acides ce qui entraîne une augmentation du pH.
 - Peut être il y a présence de bactéries qui font appel à des réactions biochimiques, dont les produits sont des sels (bases) qui vont s'attacher aux acides, faisant diminuer l'acidité du milieu et par conséquent augmentation du pH.

2.2- Limitations de l'étude:

- Les résultats du taux d'alcool mesurés par la méthode de la gamme étalon, ne peuvent être qu'une approximation, puisque l'indice de réfraction n'est pas lié directement à la molécule d'éthanol, mais plusieurs substances (lactose...) présentes dans le milieu, peuvent influencer les résultats. On l'a choisi que pour se sauver et avoir comme même une idée sur la production de la fameuse molécule « Ethanol » pour des raisons religieuses liées au consommateur marocain.



Il aurait été plus précis d'utiliser une chromatographie en phase gazeuse, cependant il ne m'a pas été pratique de réaliser cette expérience en raison de l'indisponibilité du matériel nécessaire pour ce genre de travail.

- On n'a pas pris en compte le volume du CO₂ dégagé pendant la mesure des paramètres physico-chimiques, en raison de l'indisponibilité des équipements nécessaires.
- Une étude comparative des échantillons de Kéfir qui se différencient par le choix de la matière première (lait entier, lait écrémé, lait demi-écrémé) aurait été intéressante, chose qu'on n'a pas pu réaliser, parce qu'on était limité par le temps (on a reçu les ferments en une date tardive).
- Une étude plus approfondie, concernant les grains de Kéfir de lait aurait donné une valeur ajoutée à ce travail, et qui consiste non seulement en un isolement et identification des espèces formant ces grains, mais aussi en un suivi de leur cinétique de croissance ainsi que leur pouvoir fermentaire. Cette étude était limitée par le temps et l'indisponibilité du matériel nécessaire.

C. Concrétisation du projet au laboratoire de la COLAIMO :

I- Matériel et méthodes :

1- Fermentation du lait demi-écrémé par deux types de Kéfir et mesure de ses paramètres :

-On a utilisé deux types de Kéfir 1 et 2 (figure 21). Le Kéfir 2 sert comme secours si le Kéfir 1 présente un problème.



Figure 21 : Les sachets des grains de Kéfir 1 et 2

- Le lait utilisé est de type demi-écrémé à 12,6 g/l de la matière grasse, préparé dans la salle pasteurisation de la COLAIMO et analysé par les opérateurs du laboratoire qui nous on donné les résultats suivants :

Tableau 11 : Paramètres physico-chimiques du lait utilisé pour la préparation

pH	6,71
Acidité	15 °D
Densité	1,0296
TA	72°(-)
TE	(-)
TI	(-)
MG	12,6 g/l
ESD	88,1
IR	9

- Dans un flacon de 2l, on a mis 2l du lait demi-écrémé et on a ajouté une toute petite quantité des grains de Kéfir 1 par le bout d'une spatule.
- Dans un autre flacon de même capacité, on a mis 2l de lait demi-écrémé et on a ajouté une petite quantité des grains de Kéfir 2.
- On a agité manuellement les flacons.



- On les a mis à l'incubateur réglé à 30C°.
- Après 16h de fermentation, on a fait sortir les flacons.
- On les a agités manuellement pour casser le caillé formé.
- On a pris un volume de chaque échantillon pour mesurer leurs pH et leurs acidités.

II- Résultats et discussions :

1- Résultats :

Après une fermentation des deux types de Kéfir, qui a durée 16h à l'incubateur on a trouvé les résultats suivants :

Tableau 12 : Résultats des paramètres physico-chimiques des deux types de Kéfir 1 et 2

	Kéfir 1	Kéfir 2
pH	4,6	4,56



Acidité	77	77
---------	----	----

2- Discussions :

2.1- Principaux constats :

- Après une fermentation qui a duré 16h à l'incubateur, les deux types de Kéfir donne des valeurs de pH et d'acidité qui sont conformes aux normes [6] et sont proches aux valeurs trouvées aux laboratoires de la FST.
- On a remarqué que le flacon du Kéfir 2 contient plus de bulles de gaz (CO_2) que le flacon du Kéfir 1. Donc le Kéfir 1 est plus adéquat pour l'industriel, car il ne va pas présenter un risque de gonflement de l'emballage lors du stockage.

2.2- Limitations de l'étude :

- Une étude plus précise aurait été possible, qui consiste à faire un suivi de tous les paramètres physico-chimiques et également une recherche des germes d'appréciation, de contamination et d'altération. Cette étude ne m'a pas été possible en raison de l'absence d'un laboratoire recherche et développement à la COLAIMO qui pouvait être à notre disponibilité pendant une longue durée.
- Une étude plus concluante aurait été possible, qui consiste à faire des essais à l'échelle pilote puis à l'échelle industriel. Or, ceci n'était pas pratique à la COLAIMO, puisqu'elle ne dispose pas de l'équipement pilote et l'essai industriel ne peut se réaliser que suite à une autorisation par la direction. Cette dernière ne peut se lancer dans ce projet que si le produit existe déjà sur le marché, elle refuse de prendre le risque en disant qu'elle est suiveur des entreprises qui ont un poids plus lourd et qui peuvent convaincre le consommateur par des moyens de publicité.

Conclusion générale

De l'ensemble des résultats, nous avons constaté que le lait fermenté Kéfir, garde sa qualité physico-chimique, si les conditions de stockage sont bien respectées. Cela a été déduit suite à la stabilité des valeurs du pH qui variaient entre 4,50 et 4,55 et aux valeurs de l'acidité Dornique qui variaient entre 77 et 79°D, pendant une durée de huit jours au réfrigérateur.



De plus, on peut conclure que les grains de Kéfir importés, étaient capables de donner un lait fermenté Kéfir avec les caractéristiques recherchées par la Coopérative Laitière du Maroc Oriental et exigées par la norme internationale.

De ce fait, nous avons réussi à valider le projet à l'échelle laboratoire par le département recherches et développement de la coopérative.

L'étape suivante sera une concrétisation de ce produit à l'échelle industrielle pour se permettre à mesurer d'autres paramètres, tel que la date limite de consommation (DLC) et la qualité microbiologique.

Perspectives

Cette étude mérite d'être complétée par le développement d'une stratégie qui vise à rénover ce produit en matière de :

- La texture, qui sera améliorée en la renforçant par l'ajout d'un stabilisant et/ou du lait en poudre, dans le but de créer des « yaourts Kéfir » de plusieurs types : à boire, ferme ou brassé.
- La composition en matière grasse, qui consiste à utiliser les trois types de lait : entier, demi-écrémé, écrémé, dans le but de cibler des populations bien définies (ceux qui suivent un régime alimentaire pauvre en matières grasses, les diabétiques...).
- L'emballage, qui doit non seulement préserver la qualité du produit à consommer, mais qui doit attirer l'attention du consommateur comme étant un nouveau produit sur le marché marocain.

Références bibliographiques

[1] : rapports de stage précédents.

[2] : Michel A.Wattiaux/ L'Institut Babcock pour la Recherche et le Développement International du Secteur Laitier/ Université du Wisconsin à Madison.

[3] : Carole L.Vignola, éditrice scientifique/œuvre : science et technologie du lait.

[4] : Coopérative Laitière du Maroc Oriental COLAIMO.



- [5] : Mémoire présenté en 2013 par : mlle. LEKSIR Choubaila, pour l'obtention du Diplôme de Magistère en Sciences Alimentaires Option Biotechnologie Alimentaire/ Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires (INATAA)/ titre : Caractérisation et contrôle de la qualité de ferments lactiques utilisés dans l'industrie laitière algérienne.
- [6] : Athéna ZOURARI et E.M. ANIFANTAKIS/ Laboratoire de Technologie laitière, Ecole Supérieure d'Agriculture d'Athènes, Grèce/ Titre : Le kéfir Caractères physico-chimiques, microbiologiques et nutritionnels. Technologie de production. Une revue
- [7] : Ninane véronique (2008)
- [8] : Auteurs : Karin Wehrmüller, Alexandra Schmid, Barbara Walther/ Station de recherche Agroscope Liebefeld- Posieux ALP, Berne/ Swissmilk/ Juillet-août 2009.
- [9] : NORME CODEX POUR LES LAITS FERMENTÉS/ CODEX STAN 243-2003.
- [10] : CHR HANSEN/ FD-DVS eXact KEFIR 1/ Information Produit/ Version : 2 PI-EU-FR 28-11-2013.

Références web-graphiques:

- [11] : http://wiki.scienceamusante.net/index.php?title=Le_lait
- [12] : <http://fr.wikipedia.org/wiki/K%C3%A9fir>
- [13] : <http://www.layourte.com/Historique.htm>
- [14] : <http://www.layourte.com/kefidulait.htm>
- [15] : http://www.cfaitmaison.com/kefir_fruits/kefirfr_intro.html
- [16] : <http://www.layourte.com/kefideleau.htm>
- [17] : http://www.cfaitmaison.com/kefir_lait/fabriquer.html
- [18] : http://www.cfaitmaison.com/kefir_lait/benefices.html
- [19] : <http://www.masantenaturelle.com/chroniques/sante/kefir.php>



Sommaire

Introduction	5
Partie 1: Description de l'établissement d'accueil	
1- Informations générales :	6
2- Organigramme :	8
3- Produits commercialisés:	8
Partie 2: Partie bibliographique	
A. TECHNOLOGIE LAITIERE	9
I- Généralités sur le lait :	10
1- Définition :	10
2- Composition chimique :	10
II- Industrie et transformation laitière :	12
1- Opérations préliminaires et traitement du lait :	12
2- Fermentation du lait :	13
2-1- Ferments lactiques :	13
2.2- Lait fermentés :	15
A. TECHNOLOGIE DU KEFIR	18
I- Généralités :	18
1- Historique :	19
2- Définitions :	19
3- Production et consommation mondiale :	20
II- Aspect microbiologique :	21
1- Structure des grains de Kéfir :	21
2- La microflore des grains de kéfir et son évolution durant la fermentation :	22
3- Composition chimique des grains de kéfir :	23
III- Préparation du Kéfir :	24
1- Préparation artisanale :	24
2- Préparation industrielle :	25
IV- Composition chimique :	27
V- Qualité nutritionnelle du Kéfir :	28
Partie 3: partie pratique	



A.	Etude des paramètres physico-chimiques du lait cru :	29
I-	Matériel et méthodes :	29
1-	Mesure du pH :	29
2-	Mesure de l'acidité :	30
3-	Mesure de la densité :	30
4-	Test d'alcool :	32
5-	Test d'ébullition :	32
6-	Test d'inhibition :	32
7-	Test de la matière grasse :	33
8-	Mesure de l'extrait sec dégraissé :	34
II-	Résultats :	35
III-	Discussions :	37
IV-	Limitations de l'étude :	38
B.	Etude des paramètres physico-chimiques du lait fermenté kéfir :	38
I-	Matériel et méthodes :	38
1-	Fermentation du lait UHT par les grains de Kéfir :	38
2-	Suivi de certains paramètres physico-chimiques du Kéfir:	42
II-	Résultats et discussions :	44
1-	Résultats :	44
1.1-	Les paramètres physico-chimiques des échantillons de Kéfir gardés au froid :	44
1.2-	Les paramètres physico-chimiques des échantillons de Kéfir gardés à la température ambiante :	47
2-	Discussions :	48
2.1-	Principaux constats :	48
2.2-	Limitations de l'étude:	50
C.	Concrétisation du projet au laboratoire de la COLAIMO :	51
I-	Matériel et méthodes :	51
1-	Fermentation du lait demi-écrémé par deux types de Kéfir et mesure de ses paramètres :	51
II-	Résultats et discussions :	53
1-	Résultats :	53
2-	Discussions :	54
2.1-	Principaux constats :	54



2.2- Limitations de l'étude :	54
Conclusion générale	54
Perspectives	55
Références bibliographiques	55

Filière Ingénieurs Industries Agricoles et Alimentaires



Résumé

Nom et prénom : MISBAH Asmae

Année Universitaire : 2013-2014

Titre : Production du Kéfir au sein de la Coopérative Laitière du Maroc Oriental

L'industrie agro-alimentaire, d'une manière générale, doit faire face à un problème important, la compétition entre les différentes entreprises. L'industrie laitière, en particulier, puisqu'elle a connu l'accroissement de l'implantation de nouvelles usines et petites unités.

Pour remédier à ce problème, de nombreuses recommandations sont concevables. On cite, la création et l'innovation de nouveaux produits pour attirer l'attention de consommateur en termes de qualité marchande, organoleptique et nutritionnelle.

En matière d'innovation, les tendances actuelles s'orientent vers « la nutrition-santé » en ciblant les besoins nutritionnels de certaines populations. Les probiotiques représentent le bon exemple.

Parmi ceux-ci, le Kéfir, un lait fermenté acidifié, légèrement alcoolisé et gazéifié. Consommé régulièrement, il apporte des bienfaits sur la santé humaine.

Dans ce cadre, la Coopérative Laitière du Maroc Oriental, a décidé de mettre le pas dans la fabrication industrielle d'un nouveau produit qu'elle va incorporer à sa gamme. Il s'agit du dit « Kéfir ». Ce qui fait le sujet de ce projet de fin d'études, qui consiste à réaliser des essais de fermentation, à l'échelle laboratoire, du lait par des grains lyophilisés. Et d'un autre côté suivre certains de ses paramètres physico-chimiques.



En conclusion les résultats relèvent une stabilité de la qualité du lait fermenté Kéfir en métrisant les conditions de stockage.

Mots clés : Industrie laitière, compétition, innovation, probiotiques, Kéfir, santé, fermentation, grains lyophilisés, paramètres physico-chimiques, stabilité, conditions de stockage.