

### **TP III DE MICROBIOLOGIE ALIMENTAIRE**

#### **Fabrication du yaourt et identification de sa flore microbienne.**

La fabrication du yaourt désigne un produit laitier coagulé obtenu par fermentation lactique grâce à l'action de 2 bactéries exclusives, *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*, sur le lait (pasteurisé ou concentré ou partiellement écrémé enrichi en extrait sec).

#### **1. Matériel et ingrédients**

- pots en verre avec leurs couvercles ;
- 2 récipients (Bicher ou autre) ;
- 1 spatule ;
- 1 L de lait (entier ou demi écrémé) maintenu à température ambiante avant ouverture ;
- 1 yaourt nature du commerce de consistance ferme (ou 1 sachet de 5 g de ferments lyophilisés) ;
- 3 à 8 cuillères à soupe de poudre de lait ;
- 1 thermomètre ;
- Plaque chauffante.

#### **2. Préparation**

Afin de mettre en évidence le rôle des microorganismes dans la transformation du lait en yaourt, vous pouvez préparer votre fabrication en remplissant des pots avec le mélange lait + yaourt du commerce et 1 pot contenant seulement du lait.

- Tout d'abord, il faut laver soigneusement les ustensiles et bien les rincer à l'eau chaude ou les stériliser ;
- chauffer ensuite le lait pendant quelques minutes jusqu'à une température voisine de 45 °C ;
- Dans un récipient, mettez le yaourt avec 3 à 8 cuillères à soupe de poudre de lait. L'ajout de poudre de lait épaissit le yogourt, le rend plus onctueux et augmente sa valeur nutritive, homogénéisez avec une cuillère pendant quelques minutes ;
- Mélanger le contenu des deux récipients et bien agiter ;
- Transvaser dans des pots en verre, les fermer et les placer dans un bain-marie réglé à 45°C, en vérifiant la température régulièrement (42-46°C maximum) ;
- les yaourts sont prêts au bout de 3 à 4 h d'incubation. Ils se conservent 3 semaines au réfrigérateur.

### **3. Observation au microscope optique**

Pour observer les microorganismes, qui interviennent dans la fabrication du yaourt, plusieurs étapes sont nécessaires :

#### **3.1. Étalement et séchage**

- A l'aide d'une öse bouclée, on prélève une goutte du yaourt, on la dilue dans un peu d'eau et on étale une goutte de la suspension en un film mince et régulier sur la surface d'une lame propre ;
- La fixation par la chaleur de la préparation est effectuée en tenant la lame, frottis sur le dessus, par une pince et la passer 3 à 4 fois dans l'air chaud au-dessus de la veilleuse d'un bec Bunsen. Attention à ne pas se brûler !

#### **3.2. Coloration au bleu de méthylène**

La coloration au bleu de méthylène est une coloration rapide, économique et d'usage courant.

- Sur le frottis fixé et refroidi, faire couler la solution de bleu de méthylène jusqu'à ce que toute la lame soit recouverte ;
- Laisser agir 1 minute ;
- Rincer abondamment la lame avec le jet d'une pissette d'eau distillée, ou à l'eau du robinet jusqu'à élimination des colorants en excès ;
- Sécher à l'air, ou encore sécher délicatement entre deux feuilles de papier-filtre fin (ou buvard), sans frotter.

#### **3.3. Observation microscopique**

Pour l'observation des bactéries contenues dans le yaourt, on utilise un objectif à immersion (x 100) et un oculaire x 10 (grossissement x1000).