

MICROORGANISMES EN ACTION : LE YAOURT



Le yaourt ou yoghourt est un produit fermenté d'origine animale à base de lait. Sa fabrication fait intervenir des bactéries lactiques dont l'action conduit à la formation d'acide lactique à partir du lactose ou sucre du lait et d'arômes. L'origine du mot date de 1798 et vient du turc yogurt, de yogurmak (pétrir). La fabrication maison du yaourt est facile, économique et permet d'obtenir du yaourt exempt de sucre ajouté et contenant des vitamines A et B.

1. Matériel et ingrédients

- 8 pots en plastique d'environ 150 ml avec leurs couvercles ;
- 2 récipients (pichet ou autre) ;
- 1 fouet ;
- 1 cuillère à soupe ;
- 1 L de lait UHT (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 « Yogourmet » achetés en épicerie, rayon réfrigéré) ;
- ½ verre de poudre de lait ;
- 1 thermomètre.

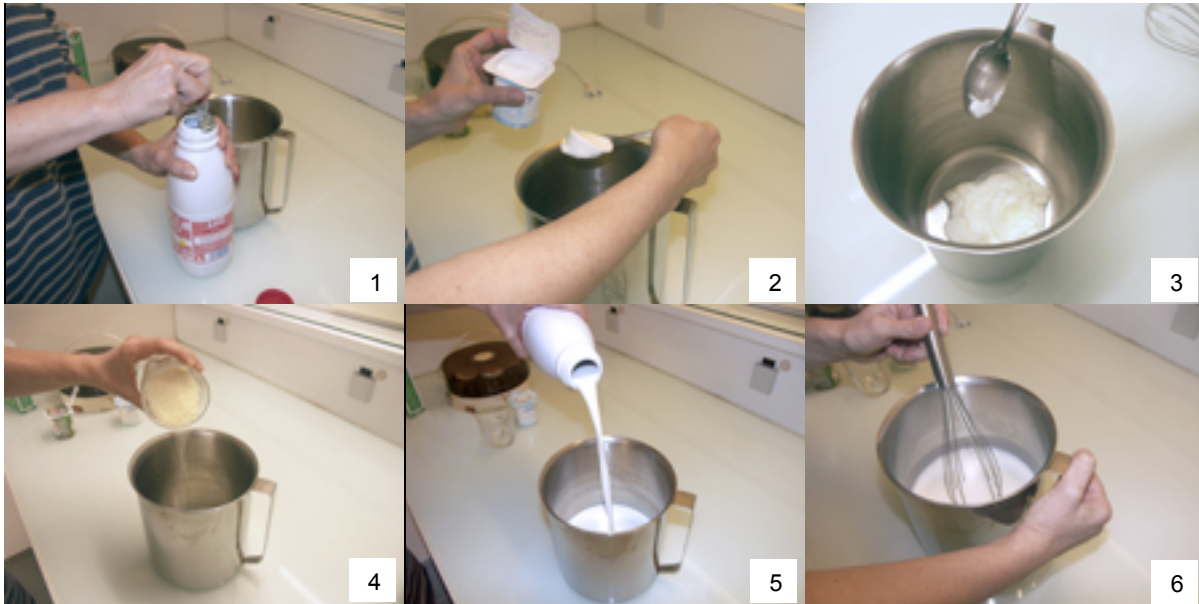


2. Préparation

Afin de mettre en évidence le rôle des microorganismes dans la transformation du lait en yaourt, vous pouvez préparer votre fabrication en remplissant 7 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.

- On chauffe ensuite le lait au four à micro-ondes pendant quelques minutes pour éviter de favoriser l'activation des ferments lactiques et éviter toute contamination.
- Laisser refroidir jusqu'à une température voisine de 40 °C¹.
- L'usage d'un thermomètre permet de contrôler l'ébullition et de connaître le moment exact de l'ajout du ferment.



- Ajouter 3 à 8 cuillères à soupe de poudre de lait écrémé. L'ajout de poudre de lait épaissit le yogourt, le rend plus onctueux et augmente sa valeur nutritive.
- Dans un récipient, dissoudre le lait en poudre dans un peu de lait tiède.
- Dans un second récipient, mélangez le reste de lait avec le yaourt, homogénéisez avec une cuillère pendant quelques minutes.
- Mélanger le contenu des deux récipients et bien agiter.

¹ Au-delà de cette température, les bactéries risquent d'être altérées.



- Transvaser dans 8 pots en verre, les fermer et les placer dans une yaourtière, en vérifiant la température régulièrement (42-46°C maximum).



- Si le lait n'a pas été chauffé au préalable, les yaourts sont prêts au bout de 5 à 6 h. d'incubation; 3 à 4 h. dans le cas contraire. Ils se conservent 3 semaines au réfrigérateur.

2.1. Remarques

La teneur du lait en matière grasse et en solides influence la texture, la saveur et la valeur nutritive du yaourt : du lait entier donne un yaourt plus ferme, plus savoureux, plus gras et plus énergétique qu'un yaourt fait à partir de lait écrémé.

Selon le type de yaourts, l'adjonction de sucre, colorants, arômes ou fruits, pulpe de fruits (dans la limite de 30 % en poids du produit fini) se fait avant ou après la fermentation.

Si le yaourt n'épaissit pas, plusieurs facteurs peuvent être en cause : yaourt du

commerce trop vieux, température de préparation trop haute ou trop basse, temps de préparation trop court ou faible teneur en extrait sec (poudre de lait).

3. Mettre en pratique les connaissances scientifiques

La fabrication du yaourt repose sur l'action de bactéries lactiques² sur les composants du lait qui conduit à l'obtention d'un coagulum³ de consistance plus ou moins ferme.

Un micro-organisme, en particulier une bactérie, produit par son activité cellulaire, des substances dont les propriétés trouvent des applications industrielles comme dans le cas de la fermentation lactique, par exemple. Cette activité cellulaire fait intervenir des enzymes qui agissent dans des conditions préférentielles de température, de pH et en présence de lactose plus ou moins abondant. Chaque micro-organisme est caractérisé par sa température optimale de croissance.

3.1. Rôle des microorganismes dans la transformation du lait en yaourt

- 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).
- En fin d'incubation, si le yaourt est aigre ou que le sérum se sépare, la préparation peut avoir été trop longue ou le refroidissement trop lent. Une température de préparation basse (42-44°C) favorise le développement du streptocoque et donc la production d'arômes ; une température plus haute (45-46°C) favorise le développement du lactobacille et donc la production d'acide.
- En fin de fabrication, on peut constater que rien ne s'est passé dans le pot non

² Bactérie utilisée dans la fabrication de yaourts et de fromages.

³ Masse de substance coagulée.

ensemencé (témoin) et conclure que les microorganismes apportés par le yaourt du commerce sont nécessaires à la transformation du lait en yaourt,

- Suivre le changement de texture du produit au cours de la fabrication en trempant délicatement une cuillère dans un pot ensemencé (toujours le même pour ne pas perturber le processus de caillage du lait dans les autres pots).



- Apprécier les changements de goût et de texture en comparant le lait et le yaourt maison.



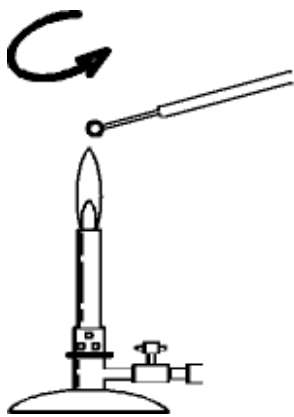
3.1.1. Observation au microscope optique

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

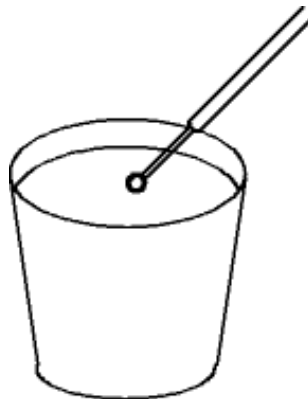
3.1.1.1. Étalement et séchage

- A l'aide d'une öse bouclée⁴, on prélève une goutte du yaourt maison, 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.

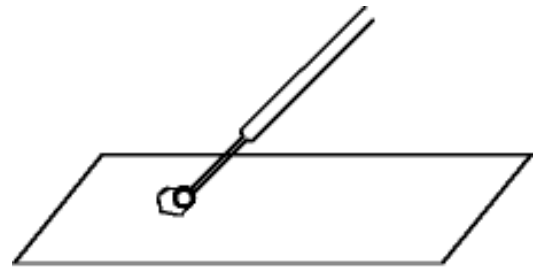
- La fixation par la chaleur de la préparation est effectuée en tenant la lame, frottis sur le dessus, par une pince et la passer 3 à 4 fois dans l'air chaud au-dessus de la veilleuse d'un bec Bunsen ou d'une lampe à alcool. Attention à ne pas se brûler ! Le séchage de la suspension peut éventuellement s'effectuer en posant la lame sur une platine chauffante réglée à 37°C.



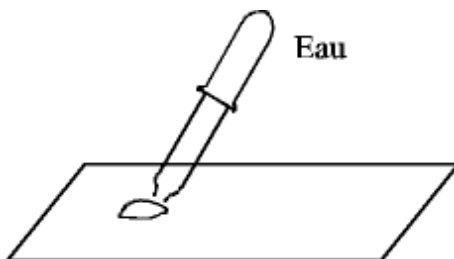
1. Stérilisation



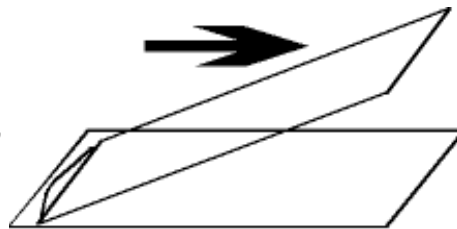
2. Prélèvement à l'aide d'une öse bouclée



3. Dépôt sur la lame



4. Réalisation du frottis



5. Fixation à la chaleur

⁴ Instrument en alliage de platine servant au prélèvement.

3.1.1.2. Coloration au bleu de méthylène

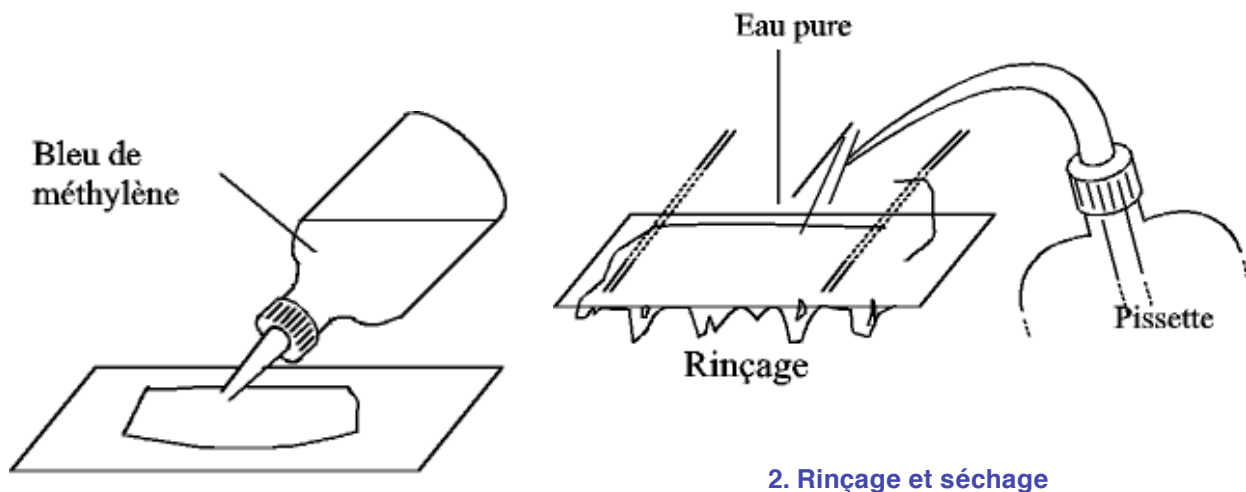
La coloration au bleu de méthylène est une coloration rapide, économique et d'usage courant.

- 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 sur une platine chauffante, ou encore sécher délicatement entre deux feuilles de papier-filtre fin (ou buvard), **sans frotter**.

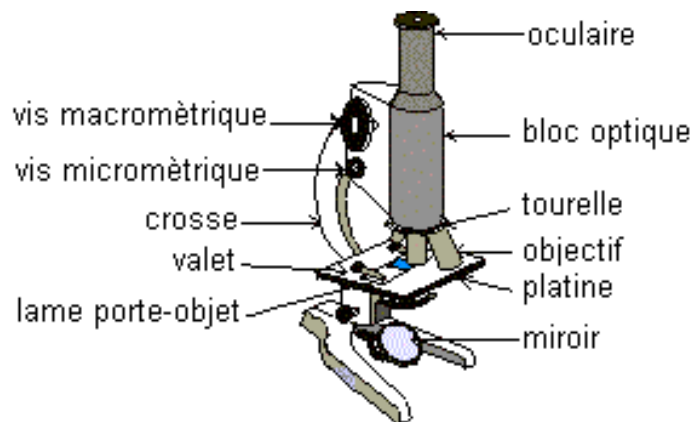


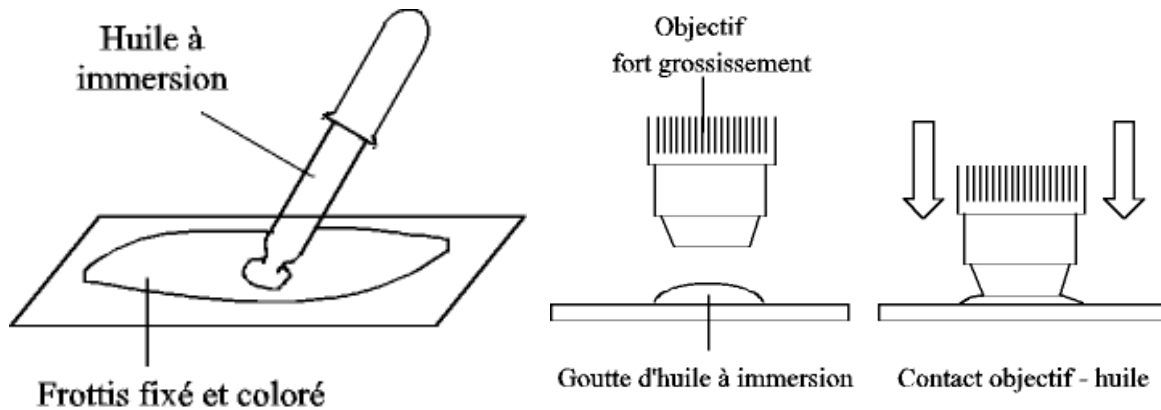
1. Coloration

2. Rinçage et séchage

Pour l'observation microscopique, il faut réaliser dans l'ordre les opérations suivantes :

- ✓ – Placer le microscope devant soi, la *crosse* vers soi.
- ✓ – Avant toute utilisation, vérifier qu'il ne manque aucune pièce au microscope, sinon le signaler immédiatement.
- ✓ – S'assurer que l'*objectif* le plus faible est mis en place.
- ✓ – Disposer la lampe de manière à recevoir le faisceau lumineux sur le *miroir*. En aucun cas la lampe ne doit toucher le miroir ou la platine, car vous pourriez vous brûler.
- ✓ – Pour s'assurer que le maximum de lumière traverse le *bloc optique*, regarder par l'*oculaire* en l'absence de toute préparation.
- ✓ – Placer la préparation sur la *platine*, la lamelle au-dessus de la *lame*, bien au centre du trou.
- ✓ – Mettre au point avec le plus faible grossissement : descendre, en regardant de côté, le tube à l'aide de la *vis macrométrique* au plus près de la lame et le remonter lentement en regardant dans l'oculaire jusqu'à ce que la préparation apparaisse nette.
- ✓ – L'observation est alors possible à plus fort grossissement, après avoir pris soin de bien centrer son sujet d'étude.





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

Note :

- S'assurer que la lamelle est propre, non mouillée, afin de ne pas salir les objectifs. Ne jamais appuyer dessus avec l'objectif qui ferait déborder du liquide ou qui briserait la lamelle.

- Le grossissement total est le produit de celui de l'oculaire par celui de l'objectif.

Pour observer les bactéries lactiques, on peut tout simplement prélever une petite quantité de yaourt que l'on dilue avec 1 ou 2 gouttes d'eau afin d'obtenir une suspension que l'on place entre lame et lamelle.

Cela donne un résultat moins esthétique, mais on l'obtient facilement et les élèves peuvent voir, d'une part, les changements physiques, sous forme d'amas de caséine, dus à la coagulation des protéines du lait⁵ et, d'autre part, " bouger " des files de streptocoques ou de lactobacilles sous l'effet de la chaleur de l'éclairage du microscope.

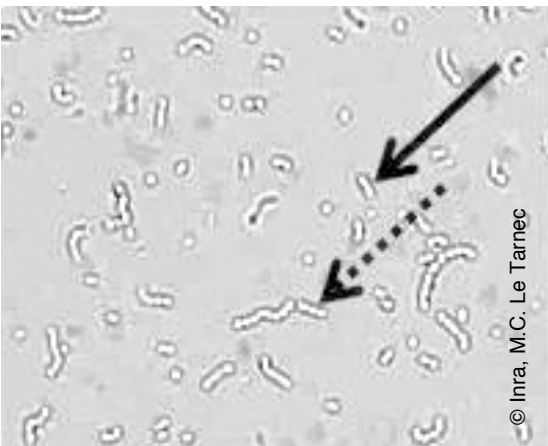
⁵ Un grossissement x 400 (40 x 10) est suffisant pour l'observation.

Effectivement, cela n'est pas toujours évident de réaliser une mise au point lors d'un état frais. Il faut déjà être sûr d'avoir réalisé une **bonne suspension**, ni trop dense, ni insuffisante.

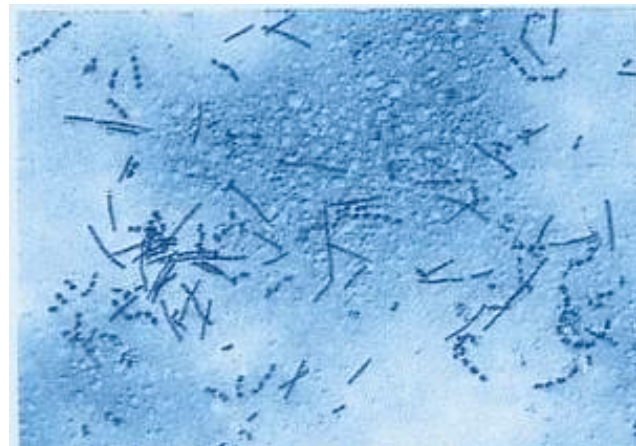
On observe 2 sortes de bactéries :

1 - **Les bacilles** : ce sont des bactéries en forme de bâtonnets, isolées ou attachées en file. Il s'agit de *Lactobacillus bulgaricus*. Elles sont immobiles car elles ne possèdent pas de cils⁶.

2 - **Les streptocoques** : il s'agit cette fois de bacilles en forme de petites boules (= coques) reliées en chaînettes plus ou moins longues (= streptocoques). La variété la plus fréquente dans le yaourt est *Streptococcus thermophilus*.



Observation microscopique de bactéries, à l'état frais, contenues dans le yaourt : *Streptococcus thermophilus* (flèche en pointillés) et *Lactobacillus bulgaricus* (flèche pleine).



Streptococcus thermophilus et *Lactobacillus bulgaricus* colorés au bleu de méthylène et observés au microscope

Note :

La coloration au bleu de méthylène est intéressante pour l'observation rapide des frottis, mais elle permet seulement l'étude de la morphologie des bactéries.

⁶ Ce sont des filaments extrêmement fins, invisibles au microscope optique qui aident les bactéries à se déplacer dans les milieux liquides et nutritifs.

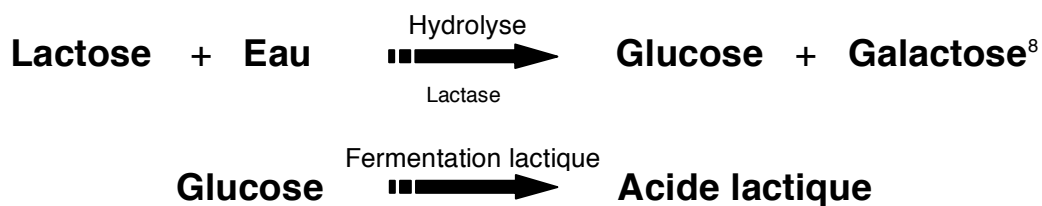
3.1.2. Biotechnologie : mode d'action de ces bactéries

Le yaourt est donc le produit du lait fermenté frais obtenu par le développement des bactéries lactiques *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*, qui doivent êtreensemencées simultanément et se trouver vivantes dans le produit fini.

3.1.2.1. Qu'est-ce que la fermentation lactique ?

La fermentation lactique est une réaction chimique entre des bactéries et du lait. Les ferments se développent au profit du lactose (glucide du lait) et ils provoquent ainsi la formation d'acide lactique qui fait lentement coaguler la caséine (protéine du lait). La fermentation est arrêtée par la mise au réfrigérateur.

En présence de lactase, enzyme sécrétée par les bactéries lactiques, le lactose est hydrolysé⁷ en glucose et galactose, puis le glucose est transformé à son tour en acide lactique selon les équations suivantes :



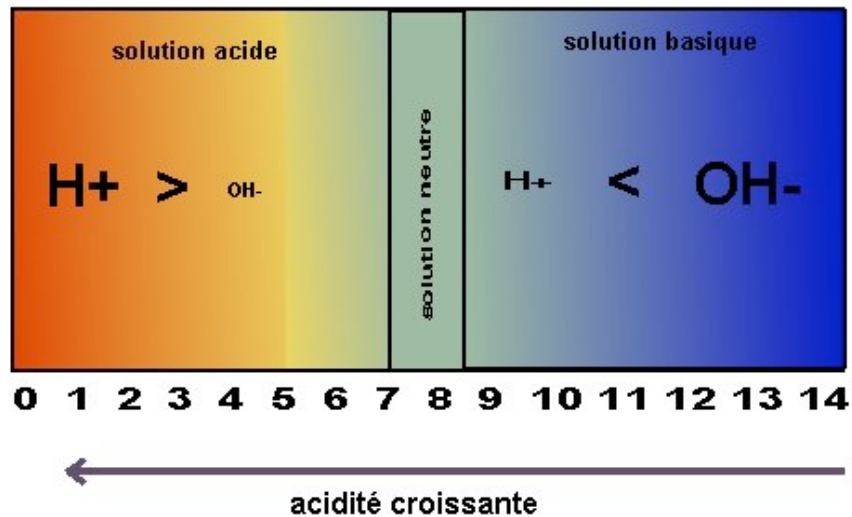
Cette réaction est favorisée à une température de 45°C. Plus on laisse le lait fermenter longtemps plus le pH diminue, car la quantité d'acide lactique augmente et la solution devient donc plus acide.

⁷ Décomposition chimique par ajout d'une molécule d'eau.

⁸ Le galactose est rejeté hors de la cellule.

3.1.2.2. Quel pH obtient-on au cours d'une fermentation ?

Le pH signifie " potentiel d'hydrogène ". Il sert à mesurer l'acidité d'un corps. La valeur du pH est comprise entre 0 et 14. C'est une grandeur sans unité.



Le papier pH permet une détermination approchée, simple et rapide, du pH d'une solution.

- Des bandelettes de papier sont imprégnées de plusieurs indicateurs colorés. Ces substances ont une coloration qui varie en fonction du pH.

- Lorsque le papier pH est mis en contact avec le yaourt maison, il prend une couleur jaune orange. Cette couleur correspond au pH indiqué par les ouvrages sur la fermentation qui est de 4.35 à 4.5.

- En revanche, lorsque le papier pH est mis en contact avec le lait nonensemencé de ferments lactiques, il prend une couleur gris verdâtre. Cette couleur correspond à un pH de 7 (neutre).

Ce phénomène peut être expliqué par le fait qu'au cours de la fermentation lactique, les bactéries utilisent le lactose contenu dans le lait et le produit résultant de cette fermentation lactique, l'acide lactique, favorise à une température voisine de 45 °C, la coagulation des protéines.

3.1.3. Transformation des glucides du lait : changements chimiques

Le lactose est présent exclusivement dans le lait et dans les produits laitiers. Son taux est de 45 g/L dans le lait de vache. On sait qu'il est composé de deux molécules : une de glucose et une de galactose. Pour pouvoir être absorbé par le système digestif, il doit être scindé en deux par une enzyme, la lactase.

Le lactose est, en effet, le produit nutritif des bactéries lactiques qui le transformeront en acide lactique. Une fois le milieu acidifié, les protéines du lait coagulent : c'est le caillé, base de notre science yaourtière.

Lorsqu'on veut détecter du glucose, l'utilisation des bandelettes réactives de type Glucostix® ou Clinistix® est un moyen très rapide et efficace : 1 à 2 minutes. Ces bandelettes sont spécifiques du glucose car elles fonctionnent avec une réaction enzymatique dont le résultat final est une coloration.

La coloration obtenue est donc comparée à celle de la gamme-étalon.



L'extrémité des bandelettes porte un support absorbant imprégné de 2 enzymes. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en glucose dans la solution testée, elle permet d'évaluer visuellement la concentration de glucose.

Note :

Toutes ces bandelettes étant coûteuses, il est recommandé de les couper en 2 dans le sens de la longueur et de programmer une utilisation minimale en le faisant en démonstration par exemple.

3.1.4. Intolérance au lactose et ses conséquences

La répartition mondiale de l'intolérance au Lactose démontre que tous les êtres humains ne naissent pas égaux face à ce sucre ! Près de 75 % de la population mondiale tolère mal le lait d'origine animale et ses dérivés. En effet, seulement 4 % de la population scandinave en souffre alors que l'incidence augmente à mesure que l'on gagne les régions du sud. La Belgique compte 10 à 20 % d'intolérants au lactose dans sa population, les pays du pourtour méditerranéen avancement des chiffres de l'ordre de 50 à 75 %, l'Afrique affichant quant à elle un taux étonnant de 80 % et l'Asie et l'Extrême-Orient connaissent une ampleur du phénomène inégalée avec 90 % d'intolérance dans la population.

Les personnes qui en souffrent présentent une déficience en lactase, une enzyme du système digestif qui permet de digérer le sucre du lait (lactose), et de le convertir en glucose et en galactose afin qu'il soit absorbé par l'intestin. On parle dès lors d'alactasie partielle ou totale selon que l'organisme concerné fabrique peu ou pas du tout de lactase. Cependant, il existe de rares cas d'intolérance congénitale au lactose.

À titre d'exemple, voici un tableau indiquant la teneur en lactose d'aliments courants

ALIMENT	PORTION	QUANTITÉ DE LACTOSE
Beurre	5 ml	0,05 g
Crème	15 ml	0,6 g
Cheddar et Suisse	28 g	0,4-0,6 g
Crème glacée (vanille)	125 ml	5 g
Yaourt	125 ml	6 g
Lait 2 %	250 ml	9-14 g

L'intolérance au lactose peut se déclarer à tout âge. Il semble que les adultes en soient le plus fréquemment victimes car les jeunes enfants, et les nourrissons en particulier, possèdent une quantité souvent importante de lactase leur permettant d'assimiler le lait maternel qui contient beaucoup de lactose. Il semblerait que l'alactasie de l'adulte et de l'adolescent résulte, du moins en partie, de la perte d'habitude de consommer de manière régulière des produits laitiers.

Le lactose qui n'est pas assimilé par l'intestin fermente et cause des douleurs abdominales, des crampes, des ballonnements, de la diarrhée, des flatulences ou de la nausée. Ces symptômes se manifestent généralement dans les deux heures qui suivent l'ingestion du lactose.

3.1.4.1. S'agit-il d'une allergie ? Ne pas confondre...

Les symptômes d'une allergie au lait sont provoqués par le système immunitaire, qui, en produisant de l'histamine⁹, défend le corps contre les **protéines** du lait qui a été ingéré. Les réactions allergiques surviennent, généralement, dans les minutes qui suivent l'ingestion d'un produit laitier.

L'intolérance au lactose n'entraîne pas ces symptômes parce que le système immunitaire n'est pas impliqué. Elle correspond à l'incapacité du corps à assimiler correctement un aliment, ce qui donne lieu à une réaction. Les symptômes qui se déclarent plus d'une heure après permettent, généralement, de conclure à une intolérance.

3.1.4.2. À chacun son lait !

Les personnes intolérantes au lactose ont à leur disposition des laits dont la teneur en lactose est réduite jusqu'à 90 %. Les laits de marque Lactaid® et Lacteeze®, réduits en lactose, peuvent être consommés sans risque. Des fromages et de la crème glacée à teneur réduite en lactose sont aussi disponibles.



Outre ces produits, on peut manger du fromage à pâte ferme ou des fromages vieilliss,

⁹ Médiateur chimique fabriqué par des cellules appartenant à une variété de globules blancs dans lesquels ce médiateur est stocké dans des granulations puis libéré dans certaines circonstances en particulier lors des réactions d'hypersensibilité.

ces derniers contiennent des quantités minimales de lactose car il a été en grande partie digéré par les enzymes bactériennes. On peut également consommer du yaourt, car les bactéries utilisées lors de sa préparation facilitent la digestion du lactose.

3.1.4.3. Digestion du lactose par la lactase

Cette manipulation aide à faire comprendre la spécificité de cette enzyme et son fonctionnement dans un milieu soumis à certaines conditions (prévoir quelques tubes à essai) :

- Dans un premier essai, mettre 2 gouttes de lait nonensemencé.
 - Dans un deuxième essai, ajouter 1 goutte de Lactaid® à 2 gouttes de yaourt fabriqué.
 - Dans un troisième essai, ajouter 1 goutte de Lactaid® à 2 gouttes de lait nonensemencé.
-
- Laisser agir pendant 3 minutes puis placer dans chacun des 3 milieux, d'abord une bandelette de Glucostix® puis un papier pH.
 - Observer et noter le changement de couleur des papiers réactifs.

Le tableau ci-dessous résume les transformations chimiques des sucres du lait sous l'influence des enzymes bactériennes mises en évidence par les papiers réactifs de pH et de Glucostix®.

Expérience	Glucostix®	pH
Lait nonensemencé	Pas de glucose	Neutre
Lait + bactéries lactiques (yaourt)	Glucose	Acide
Lait + Lactaid®	Glucose	Acide

4. Vous avez dit probiotique ?



Le terme probiotique date de 1965 et désigne des microorganismes vivants utiles qui colonisent la flore intestinale et vaginale. Leur présence permet notamment de contrer la prolifération des micro-organismes nuisibles qui peuvent, par exemple, provoquer des diarrhées infectieuses ou des vaginites. Les probiotiques contribuent également à la digestion des aliments. Plus particulièrement, il est établi que les produits laitiers fermentés comme le yaourt facilitent la digestion du lactose, notamment chez les personnes qui y sont intolérantes.

Les bactéries lactiques comptent parmi les principaux probiotiques. Leur nom générique vient du fait qu'elles ont la propriété de produire de l'acide lactique. Elles comprennent, notamment, les lactobacilles telle que *Lactobacillus bulgaricus*, les streptocoques telle que *Streptococcus thermophilus*, les bifidobactéries telle que *Bifidobacterium longum*.

Ce sont donc des bactéries de ce type qui servent généralement à la production du yaourt, de la choucroute, des légumes lactofermentés et du salami (*Lactobacillus plantarum*, extrait du levain à pain classique).

D'apparition plus récente, le lait fermenté au *Bifidobacterium longum* et *Lactobacillus acidophilus* présente des qualités thérapeutiques supplémentaires : ces micro-organismes, naturellement présents dans les intestins, jouent en effet un rôle important dans l'équilibre de la flore intestinale et la prévention du cancer du côlon. Avec l'âge, les bifidobactéries diminuent. Cet inconvénient peut être limité en intégrant dans l'alimentation des produits laitiers fermentés qui contiennent ces bifidobactéries vivantes. Les effets cliniques préventifs des probiotiques exercent une influence bénéfique sur l'équilibre de la flore intestinale, le système immunitaire et le bien-être en générale.

La plupart des bactéries ne survivent pas à l'environnement de l'estomac où les acides et enzymes décomposent les aliments. Les produits marqués Activia® sont un dessert lacté voisin des yaourts et renferment la bactérie probiotique *Bifidobacterium longum* qui a la particularité de survivre aux acides et enzymes gastriques. Elle aide à métaboliser les protéines et vitamines, à contrer les mauvaises bactéries et agit sur le transit intestinal.



Tableau récapitulatif des changements physiques et chimiques

Changement	Observation	Moyen utilisé
Physique	Coagulation des protéines du lait (caséines)	Microscope optique (état frais), fort grossissement (x 100 ou x 400)
Chimique	pH acide Présence de glucose	Papiers tournesol ou pH Glucostix®
Cause	Prolifération des bactéries : Début : Fin :	Microscope optique (état frais) : Objectif à immersion (x 400) Objectif à immersion (x 400)



BIBLIOGRAPHIE

❖ *Sites Internet :*

<http://www.ac-versailles.fr/default.asp>
<http://fr.ekopedia.org/Yaourt>
<http://www.servicevie.com/01Alimentation/>
<http://www.futura-sciences.com/>
http://www.recettes-et-terroirs.com/produit_detail-13-763-1.html
<http://fr.wikipedia.org/>
<http://vedaveda.com/francais/protege/base/0003.html>
<http://www.yoplait.fr/>
<http://www.accessexcellence.org/>
<http://www.ac-grenoble.fr/admin/index.htm>
<http://www.bioltrop.org/00-entete/frames.htm>
http://www.mymerhaba.com/fr/main/content.asp_Q_id_E_2318
<http://www.doctissimo.fr/html/nutrition/nutrition.htm>
<http://www.cniel.com/Publicat/SYNDIFRAIS/YLF.html>
<http://www.chu-rouen.fr/ssf/prod/probiotiques.html>

❖ *Ouvrages :*

- Les probiotiques c'est magique ! Danièle Festy. Leduc.S Editions.
- Bactéries lactiques et probiotiques. François-Marie Luquet et Georges Corrieu. Éditions TEC & DOC - Lavoisier.