

## Thème 2 – Chapitre 1 – Activité 3

### RÔLE DES BACTÉRIES LACTIQUES DANS LA FABRICATION DU YAOURT

Éléments de réponse



#### 1. ANALYSE DE LA MANIPULATION

##### 1.1.

La masse de lait écrémé en poudre à peser est :  $m = (5/100) \times 1000 = 50$  g de lait écrémé en poudre.

##### 1.2.

Concentration en *Lactobacillus bulgaricus* ( $L_b$ ) dans le pot 1 :

$$N_{L_1} = [(C_{Lb} \times V_{Lb}) / V_{pot1}] \text{ en UFC de } L_b \cdot mL^{-1} \text{ soit } N_{L_1} = (10^8 \times 1) / 200 = 5.10^5 \text{ UFC de } L_b \cdot mL^{-1}$$

Concentration en *Lactobacillus bulgaricus* ( $L_b$ ) dans le pot 2 :

$$N_{L_2} = [(C_{Lb} \times V_{Lb2}) / V_{pot2}] \text{ en UFC de } L_b \cdot mL^{-1} \text{ soit } N_{L_2} = (10^8 \times 2) / 200 = 1.10^6 \text{ UFC de } L_b \cdot mL^{-1}$$

##### 1.3.

Concentration en *Streptococcus thermophilus* ( $S_t$ ) dans le pot 1 :

$$N_{S_1} = [(C_{S_t} \times V_{S_t1}) / V_{pot1}] \text{ en UFC de } S_t \cdot mL^{-1} \text{ soit } N_{S_1} = (10^8 \times 1) / 200 = 5.10^5 \text{ UFC de } S_t \cdot mL^{-1}$$

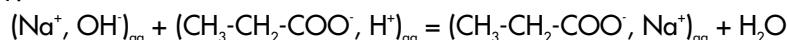
Concentration en *Streptococcus thermophilus* ( $S_t$ ) dans le pot 3 :

$$N_{S_3} = [(C_{S_t} \times V_{S_t3}) / V_{pot3}] \text{ en UFC de } S_t \cdot mL^{-1} \text{ soit } N_{S_3} = (10^8 \times 1) / 200 = 1.10^6 \text{ UFC de } S_t \cdot mL^{-1}$$

#### 2. SUIVI DE CROISSANCE

##### 2.1. Dosage de l'acidité Dornic

###### 2.1.1.



###### 2.1.2.

La soude (mono-base forte) réagit mole à mole avec l'acide lactique (mono-acide faible) donc à l'équivalence on peut écrire :  $n_{NaOH} = n_{a.lactique}$

$$\Rightarrow C_{NaOH} \times V_{NaOH} = (t_{a.lactique} / M_{a.lactique}) \times E_{lait}$$

$$\Rightarrow V_{NaOH} = (t_{a.lactique} \times E_{lait}) / (M_{a.lactique} \times C_{NaOH})$$

$$\Rightarrow V_{NaOH} = (0,1 \times 10.10^{-3}) / (90 \times 1/9) = 0,1.10^{-3} = 0,1 \text{ mL}$$

Ce qui démontre que 0,1 mL de soude Dornic neutralise 0,1 g d'acide lactique dans un litre de lait ou de caillé, comme 1 °Dornic correspond à 0,1 mL de soude Dornic, alors 1 °Dornic correspond également à 0,1 g d'acide lactique dans un litre de lait ou de caillé.

###### 2.1.3.

La quantité d'acide lactique en g dans un pot à  $t$ , correspond à l'acidité Dornic multipliée par 0,1 g d'acide lactique soit :

- $Q_{P_1} = 88 \times 0,1 = 8,8$  g d'acide lactique par litre de caillé, soit une teneur en acide lactique de 0,88 % dans le pot 1 ;
- $Q_{P_2} = 28 \times 0,1 = 2,8$  g d'acide lactique par litre de caillé soit une teneur en acide lactique de 0,28 % dans le pot 2 ;
- $Q_{P_3} = 36 \times 0,1 = 3,6$  g d'acide lactique par litre de caillé soit une teneur en acide lactique de 0,36 % dans le pot 3.

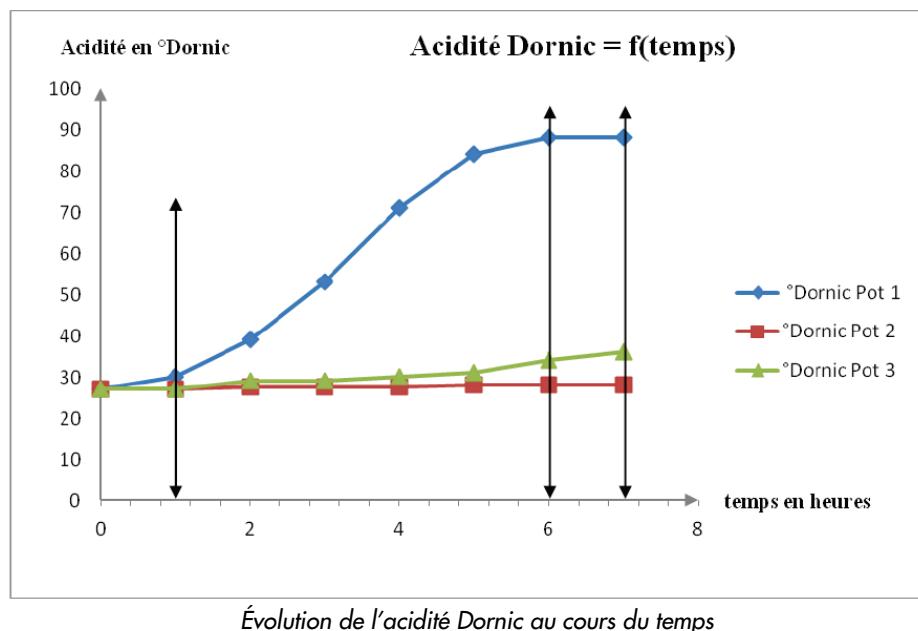
###### 2.1.4.

Seul le pot 1 a une teneur en acide lactique supérieure à 0,7 % (teneur minimale autorisée) donc seul le pot 1 répond à la définition française du yaourt en ce qui concerne ce paramètre.

### 2.1.5.

Voir la courbe : évolution de l'acidité Dornic au cours du temps (document 2 p. 95).

- De  $t_0$  à  $t_1$  l'acidité Dornic ne varie pas dans les 3 pots et reste à sa valeur initiale de 27 °Dornic.
- De  $t_1$  à  $t_6$  l'acidité Dornic augmente de façon très importante de 27 à 88 °Dornic dans le pot 1 ; par contre dans cet intervalle de temps, elle ne varie pas dans le pot 2 et augmente très faiblement de 27 à environ 30 °Dornic dans le pot 3.
- De  $t_6$  à  $t_7$  l'acidité Dornic reste stable à 88 °Dornic dans le pot 1 et à 27 °Dornic dans le pot 2, alors que dans cet intervalle de temps elle poursuit son augmentation de 30 à 36 °Dornic dans le pot 3.



### 2.1.6.

Sachant que l'acidité Dornic est proportionnelle à la quantité d'acide lactique, elle-même proportionnelle au nombre de micro-organismes, on peut, compte-tenu de l'évolution de l'acidité Dornic dans les 3 pots, faire les hypothèses suivantes :

- il y a eu croissance bactérienne dans les pots 1 et 3 et absence de croissance bactérienne dans le pot 2 ;
- il y a eu une croissance bactérienne plus importante dans le pot 1 que dans le pot 3.

## 2.2. Dénombrement des bactéries lactiques (*S. thermophilus* et *L. bulgaricus*) par la méthode de Breed

### 2.2.1.

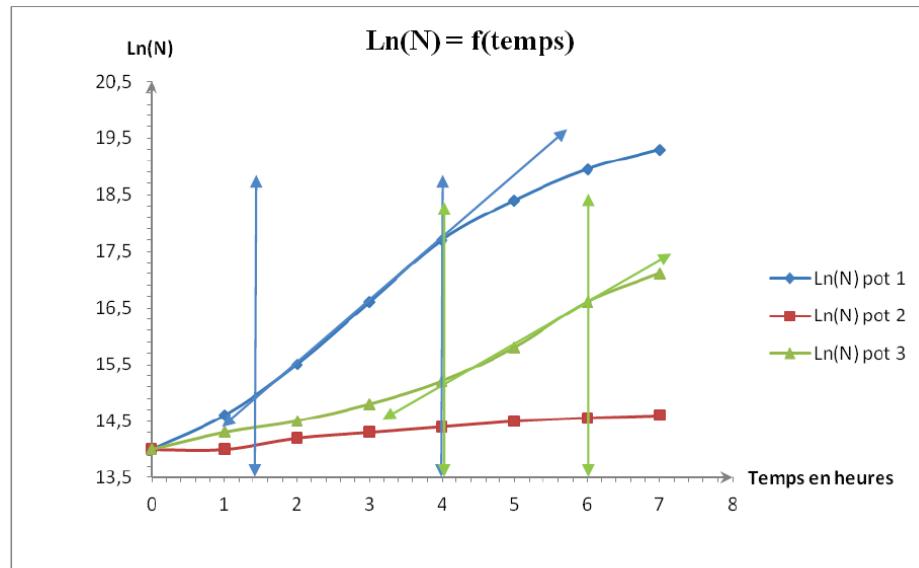
La surface d'un champ microscopique  $s = \pi \cdot r^2$  ou  $s = \pi \cdot (d / 2)^2$  donc  $s = 3,1416 \times (180 \cdot 10^{-4} / 2)^2$  en  $\text{cm}^2$ , soit  $s = 2,54 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2$ .

### 2.2.2.

Le nombre de champs microscopiques ( $n_c$ ) dans  $1 \text{ cm}^2$  est égal à  $n_c = (1 / 2,54 \cdot 10^{-4}) \approx 3930$  champs.

$N_{(Lb + St)} = [(64 \times n_c) / V_d] \times F_d$  avec  $V_d$  volume déposé sur la lame :  $10 \mu\text{L}$  soit  $1 \cdot 10^{-2} \text{ mL}$ , donc  $N_{(Lb + St)} = [(64 \times 3930) / 1 \cdot 10^{-2}] \times 10 = 2,5 \cdot 10^8 \text{ b.mL}^{-1}$  donc la concentration  $N_{(Lb + St)}$  fournie dans le tableau est exacte.

### 2.2.3.



Évolution du nombre de bactéries lactiques au cours du temps

Pour la courbe de croissance des bactéries lactiques du pot 1 (courbe bleue) on constate que :

- de  $t_0$  à  $t_{1,5}$  : la culture bactérienne est en phase d'accélération ;
- de  $t_{1,5}$  à  $t_4$  : la culture bactérienne est en phase exponentielle, l'augmentation du nombre de micro-organismes est proportionnelle au temps ;
- de  $t_4$  à  $t_7$  : la culture bactérienne est en phase de ralentissement.

Pour la courbe de croissance des bactéries lactiques du pot 2 (courbe rouge) on constate que :

de  $t_0$  à  $t_7$  : le nombre de microorganismes ne varie presque pas, la culture bactérienne reste en phase de latence, pendant toute la durée de l'expérience.

Pour la courbe de croissance des bactéries lactiques du pot 3 (courbe verte) on constate que :

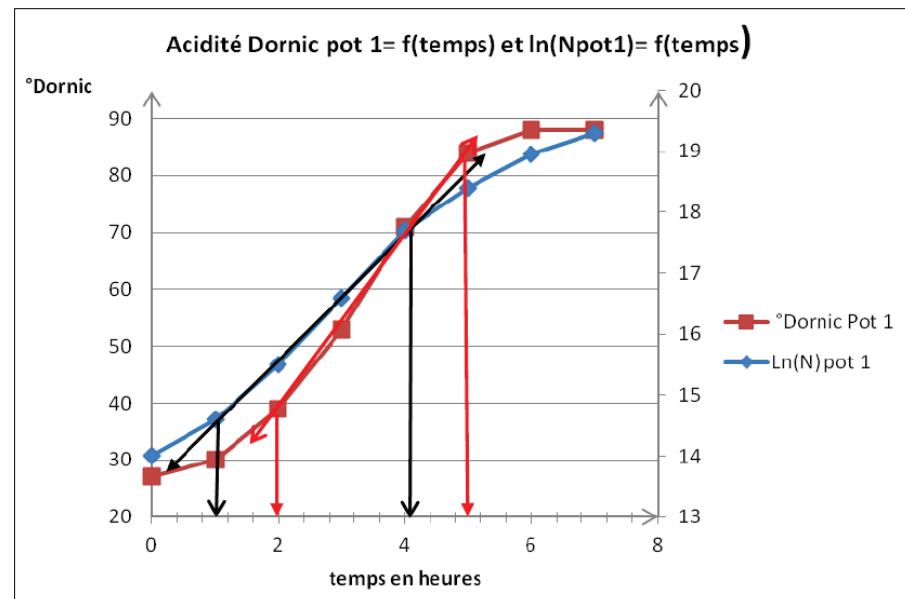
- de  $t_0$  à  $t_4$  : la culture bactérienne est en phase d'accélération ;
- de  $t_4$  à  $t_{6,5}$  : la culture bactérienne est en phase exponentielle, l'augmentation du nombre de microorganismes est proportionnelle au temps ;
- de  $t_{6,5}$  à  $t_7$  : la culture bactérienne est en phase de ralentissement.

### 2.2.4.

En traçant sur le même graphique la courbe acidité Dornic dans le pot 1 en fonction du temps et  $\ln(N_{\text{bactéries dans le pot 1}})$  en fonction du temps (voir document ci-dessous), on constate que :

- la phase exponentielle de croissance des bactéries dans le pot 1 a lieu entre 30 minutes et 4 heures d'incubation (flèches noires) ;
- l'acidité Dornic dans le pot 1 augmente de façon proportionnelle au temps, entre 2 heures et 5 heures d'incubation (flèches rouges).

On en déduit que l'acide lactique dosé lors de la mesure de l'acidité Dornic est majoritairement produit au cours de la phase exponentielle de croissance des bactéries ( $L_b$  et  $S_i$ ) contenues dans le pot 1, donc que l'acide lactique est un métabolite primaire.



## 2.2.5.

Pour répondre à la définition française du yaourt, le caillé doit contenir au moins 10 millions ( $1.10^7$  bactéries.g $^{-1}$ ) de bactéries vivantes par gramme de produit. À  $t_7$ , les pots 1 et 3 contiennent chacun plus de 10 millions de bactéries vivantes par gramme de produit puisque :

- pot 1 : on a  $N_{(Lb + Sb)} = 2,5 \cdot 10^8$  bactéries.mL $^{-1}$ ,
- pot 3 : on a  $N_{(Sb)} = 2,6 \cdot 10^7$  bactéries.mL $^{-1}$ ,

donc les pots 1 et 3 répondent à la définition française du yaourt en ce qui concerne le nombre de bactéries vivantes par gramme de produit.

Par contre à  $t_7$ , dans le pot 2 on a seulement  $N_{(Lb)} = 2,2 \cdot 10^6$  bactéries.mL $^{-1}$ , donc le pot 2 ne répond pas à la définition française du yaourt en ce qui concerne le nombre de bactéries vivantes par gramme de produit.

## 3. LA PROTO-COOPÉRATION

### 3.1.

À  $t_7$ , il y a  $2,5 \cdot 10^8$  bactéries.mL $^{-1}$  dans le pot 1 ensemencé avec les deux espèces de bactéries lactiques ( $L_b$  et  $S_b$ ), et seulement  $2,2 \cdot 10^6$  bactéries.mL $^{-1}$  dans le pot 2 ensemencé avec une espèce de bactérie lactique ( $L_b$ ). On constate donc qu'en absence de *Streptococcus thermophilus*, les *Lactobacillus bulgaricus* se multiplient très peu, puisque à  $t_0$  on avait  $1,2 \cdot 10^6 L_b \cdot mL^{-1}$  dans le pot 2 ; en absence des nutriments indispensables (exemple folates) et de l'acidification produits par *Streptococcus thermophilus*, les conditions ne sont pas favorables à la croissance des *Lactobacillus bulgaricus*.

À  $t_7$ , il y a  $2,5 \cdot 10^8$  bactéries.mL $^{-1}$  dans le pot 1 ensemencé avec les 2 espèces de bactéries lactiques ( $L_b$  et  $S_b$ ), et  $2,6 \cdot 10^7$  bactéries.mL $^{-1}$  dans le pot 3 ensemencé avec une espèce de bactérie lactique ( $S_b$ ). On constate qu'en absence de *Lactobacillus bulgaricus*, les *Streptococcus thermophilus* sont capables de se multiplier puisque à  $t_0$  on avait  $1,3 \cdot 10^6 S_b \cdot mL^{-1}$  dans le pot 3 ; il y a donc eu une multiplication par 20 de cette population bactérienne, mais l'augmentation du nombre de bactéries dans le pot 3 reste moins importante que dans le pot 1, où la population bactérienne mixte a été multipliée par 200. La croissance des *Streptococcus thermophilus* est donc bien stimulée par les acides aminés produits par l'hydrolyse des caséines du lait réalisée par la caséinase de *Lactobacillus bulgaricus*.

À  $t_7$ , il y a  $2,2 \cdot 10^6$  bactéries. $\text{mL}^{-1}$  dans le pot 2 ensemencé avec une espèce de bactérie lactique ( $L_b$ ) et  $2,6 \cdot 10^7$  bactéries. $\text{mL}^{-1}$  dans le pot 3 ensemencé avec une espèce de bactérie lactique ( $S_b$ ), alors qu'à  $t_0$  on avait  $1,2 \cdot 10^6 L_b \cdot \text{mL}^{-1}$  dans le pot 2 et  $1,3 \cdot 10^6 S_b \cdot \text{mL}^{-1}$  dans le pot 3. La croissance de *Lactobacillus bulgaricus* est donc plus affectée par l'absence de *Streptococcus thermophilus* que l'inverse. C'est donc l'espèce *Lactobacillus bulgaricus* qui retire le plus bénéfice du phénomène de proto-coopération.

### 3.2.

Si l'on compare l'acidité Dornic produite dans les 3 pots entre  $t_0$  et  $t_7$ , on obtient les résultats suivants :

- dans le pot 1 :  $(88 - 27) = 61$  °Dornic produits en 7 heures et multiplication de la population bactérienne ( $S_b + L_b$ ) par 200 ;
- dans le pot 2 :  $(28 - 27) = 1$  °Dornic produit en 7 heures et multiplication de la population bactérienne ( $L_b$ ) par 2 ;
- dans le pot 3 :  $(36 - 27) = 9$  °Dornic produits en 7 heures et multiplication de la population bactérienne ( $S_b$ ) par 20.

Sachant d'après les réponses données en 3.1. que c'est les *Lactobacillus bulgaricus* qui pâtissent le plus de l'absence de la culture mixte, en regardant les différences d'acidité Dornic dans les trois pots après 7 heures d'incubation, on peut faire l'hypothèse que c'est cette espèce bactérienne ( $L_b$ ) qui produit le plus d'acide lactique au cours de sa croissance, donc au cours de la transformation du lait en yaourt. Pour valider cette hypothèse il faudrait suivre la croissance de ces deux espèces bactériennes seules mais dans des conditions favorables à leur croissance et doser l'acidité Dornic produite après 7 heures d'incubation.