

TP12 Quelques manipulations concernant le genre Lactobacillus

1. Fabrication du yaourt

Principe : Le yaourt est obtenu par fermentation lactique du lait. Le lait, préalablement pasteurisé, est ensemencé avec un levain de bactéries lactiques, mélange de *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*.

Le levain peut-être acheté dans le commerce (les bactéries sont sous forme lyophilisées) ou simplement être obtenu par un yaourt déjà réalisé.

Technique :

- Chauffer un litre de lait à ébullition ; ceci est inutile si l'on se sert de lait pasteurisé
- Amener le lait à la température de 45°C
- Ajouter 15 g de lait écrémé en poudre (facultatif mais améliore la consistance)
- Ajouter un pot de yaourt nature (125mL) par litre de lait ; bien mélanger
- Répartir en pots
- Incuber 4h à 42°C

1. *Quelle est la transformation effectuée par les bactéries lactiques ? Pourquoi le yaourt a-t-il une consistance différente du lait ?*
2. *Pourquoi doit-on se servir de lait pasteurisé ?*
3. *Combien de fois les bactéries doivent se diviser pour que la concentration finale des bactéries lactiques soit la même que dans le yaourt de départ.*

2. Observation microscopique de la flore du yaourt

Observer un frottis de yaourt coloré au gram.

Estimer la proportion de lactobacilles et de streptocoques.

Comparer la flore avec celle d'un yaourt au bifidus.

3. Isolement de Lactobacillus

Réaliser les isolements puis sur les milieux suivants et dans les conditions suivantes :

Isolement sur GO	Atmosphère normale	Atm enrichie en CO ₂
Isolement sur gélose MRS	Atmosphère normale	Atm enrichie en CO ₂

Résultats; discussion.

4. Identification d'une souche de Lactobacillus

Gram et test enzymatique. Ensemencement sur micro-galerie API

Étudier les protocoles fournis des galeries API 50CH, dés ampoules CHL et CHB pour répondre aux questions :

Que signifie CH ? définir le terme assimilation.

L'assimilation d'un glucide dans un milieu peut être le fait d'une oxydation ou d'une fermentation : expliquer et indiquer le mode de lecture

Analyser la composition des ampoules CHL et CHB et comparer les.

Établir le lien entre les exigences nutritives des deux genres, leur métabolisme énergétique et l'utilisation des ces deux milieux.

Lecture de la galerie ; identification probabiliste.