Nous avons réalisé la pluri STAV en 1ère année (18h commun bio et chimie) ; les élèves n'avait pas encore manipulé en chimie et très peu en bio ; ils n'étaient donc pas du tout autonome devant leur protocole ; nous les avons guidé de A à Z avec découverte du matériel, observation/interprétation et conclusion ; la démarche scientifique est très difficile à enregistrer pour certains ; malgré tout on a réussi à fabriquer nos yaourts et les déguster (ça ils adorent !) ; dans l'ordre voici les 6 séances de pluri :

eau et sels minéraux (tests caractéristiques sur eau et sels puis sur lait)

lipide, protide, glucide (idem)

fabrication yaourt ...et dégustation le lendemain (pièce jointe)

contrôles chimiques yaourt (pièce jointe)

contrôles microbio yaourt

bilan transformation du lait

Guillemette Barbe, Legta de Coutance.

1ère STAV (pluri M7) 1h30	Thème 1 : DE LA MATIERE PREMIERE AU PRODUIT FINI

TP biochimie n°3 : **FABRICATION D'UN YAOURT**

UN PEU D'HISTOIRE

Originaire d'Asie, le yaourt serait né selon la tradition aux temps bibliques : révélé par un ange à Abraham, il aurait contribué à la longévité du patriarche.

Il apparaît vraiment en France vers 1542 sous François 1er qui aurait été guéri de troubles intestinaux grâce à un yaourt au lait de brebis offert par Soliman Le Magnifique.

Dans le sillage des découvertes de Louis Pasteur sur la fermentation lactique, de nombreux chercheurs s'intéressent aux microorganismes présents dans le lait : en 1902, deux médecins français, Rist et Khoury, isolent les bactéries présentes dans un lait fermenté égyptien ; Elie Metchnikoff (1845-1916) isole ensuite la bactérie spécifique du yaourt "le bacille bulgare", analyse l'action acidifiante du lait caillé et suggère une méthode de production sûre et régulière.

Au XXe siècle, dans la France de la Belle Epoque, le yaourt est proposé dans les pharmacies mais on le trouve également dans quelques crémeries ; sa fabrication industrielle débute en 1930 en France à l'initiative de Daniel Carasso ; il entre au dictionnaire en 1925.

1. DEFINITION REGLEMENTAIRE DU PRODUIT

Le décret n°88-1203 du 30 décembre 1988, relatif aux laits fermentés et au yaourt ou yoghourt réserve la dénomination yaourt ou yoghourt au "*lait fermenté obtenu, selon des usages loyaux et constants, par le développement des seules bactéries lactiques thermophiles spécifiques dites Streptococcus salivarius subsp. thermophilus et Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus qui doivent être ensemencées et se trouver vivantes dans le produit fini à raison d'au moins 10 millions de bactéries par gramme rapportées à la partie lactée*".

2. NORMES D'HYGIENE

❖ Pour respecter les normes d'hygiène et éviter toute contamination, il faut :

a) s'attacher les cheveux,
b) enlever les bijoux,
c) s'habiller d'une blouse propre,
d) se laver les mains,
e) désinfecter le plan de travail et s'assurer que le matériel est désinfecté.(galox derma sweet)

Faire chercher les élèves et numéroter dans l'ordre chronologique comme ci-dessus.

❖ PROTOCOLE DE FABRICATION

❖ Poser un bécher de 250 mL sur la balance et faire la tare.

❖ Dans une éprouvette graduée, prélever 200 mL de lait entier pasteurisé.

❖ Verser le lait dans le bécher et relever sa masse.

m_{lait} = ...g

❖ Peser 3% massique de poudre de lait dans un bécher.

Calcul de la masse de poudre de lait :

m_{poudre} = ...g

❖ Dans un autre bécher, peser 0,2 % de ferments lactiques lyophilisés à l'aide d'une balance de précision.

Calcul de la masse de ferments lactiques :

$m_{ferment}$ = ...g

- Chauffer doucement le lait à 45°C.
- Ajouter la poudre de lait au lait tiède et mélanger à la spatule.
- Pour récupérer les ferments, rincer avec un peu de votre lait tiède ces ferments, puis ajouter ce lait de rinçage dans le bécher contenant le lait tiède et la poudre de lait. Répéter l'opération trois fois.
- Peser un pot de yaourt vide étiqueté à vos initiales.

m_{pot} = ... g

- Faire la tare.
- Verser la moitié de la préparation bien mélangée dans ce pot.
- Peser le contenu du pot

$m_{prépa1}$ = ...g

- Répéter les opérations **9) 10) et 11) 12)** pour un deuxième pot.

$m_{prépa2}$ = ...g

- Placer vos pots à l'étuve à 43°C (durée de l'étuvage 4 h)
- Après le temps d'étuvage, fermer vos yaourts et les conserver dans un réfrigérateur.
- **Demain matin**, <u>avant la dégustation</u>, peser votre yaourt dans son pot, en déduire la masse de yaourt :

m(pot + yaourt) = ... g

m_{yaourt} = ... g

- Calculer le rendement de votre fabrication :

$$R = \frac{m_{yaourt}}{m_{prépa}} \times 100 = \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots$$

1ère STAV (pluri M7)	Thème 1 : DE LA MATIERE PREMIERE AU PRODUIT FINI

2h30 chaque TP+ 30 min mise en commun après les 2 séances

TP biochimie n°4 et 5 : contrôles physicochimiques et microbiologiques en cours de fabrication du yaourt

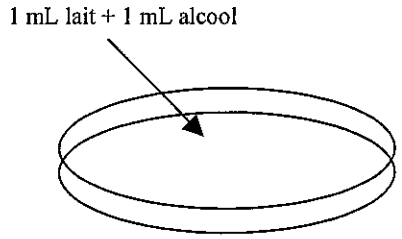
Préambule : le yaourt est un produit alimentaire précis (voir la définition sur la fiche précédente). Au cours de sa fabrication des contrôles sont réalisés pour garantir sa qualité.

Lors des séances de travaux pratiques, vous réaliserez des contrôles physicochimiques et des analyses microbiologiques.
Il vous est rappelé que vous devez respecter toutes **les règles d'hygiène et de sécurité au cours des TP**.

TP n°4 : **CONTROLES PHYSICO-CHIMIQUES**

1. CONTROLE DE STABILITE DU LAIT : test à l'alcool

Principe : Ce test très ancien permet de prévoir **la stabilité du lait lors du chauffage**. Si un lait précipite sous l'influence d'un alcool, ce lait sera aussi instable à la chaleur. Cela veut dire qu'il est altéré et que sa composition en matières protéiques et salines est anormale. On peut donc détecter de façon rapide des laits de mauvaise qualité chimique.



Mode opératoire : Verser dans une boite de Pétri, 1 mL de **lait cru** et 1 mL d'alcool à 75 %. Agitez lentement. Laissez reposer une minute.
Répéter le mode opératoire avec du **lait pasteurisé**.

Observation :
Solution reste liquide
Avec du lait cru, qques résidus, ne pas en tenir compte

Conclusion : *Les laits ne sont pas altérés ; bonne composition*

2. CONTROLES DE LA QUALITE PASTEURISEE DU LAIT

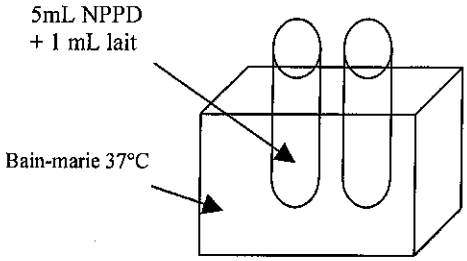
*La peroxydase et la phosphatase sont **deux enzymes produites par les acini mammaires de la vache** et se retrouvent dans **le lait**. Leur recherche est importante car elle permet de contrôler si le lait a été pasteurisé par chauffage. Elles servent d'indicateur pour vérifier l'application de ce traitement thermique.*

Rappels pasteurisation

21. Recherche de l'activité de la phosphatase dans le lait.

La phosphatase est une **enzyme thermolabile ;** elle est donc **détruite à la pasteurisation.**

Principe : La phosphatase transforme le paranitrophénylphosphate disodique (NPPD incolore) en milieu aqueux en nitrophénol (solution jaune) ; il se produit une hydrolyse de la liaison ester entre le phénol (ou un dérivé phénol) et un groupement phosphate. Vérifions si la pasteurisation a bien détruit la phosphatase.



Mode opératoire : Verser 5 mL de réactif (NPPD) dans 2 tubes à essai ; les placer au bain-marie pendant 1 minute puis ajouter 1mL de lait cru dans le premier tube et 1 mL de lait pasteurisé dans le deuxième ; laisser incuber à 37°C.
Faire une première lecture au bout de 30 minutes et, si besoin, une seconde au bout de 2 heures.

Observations :

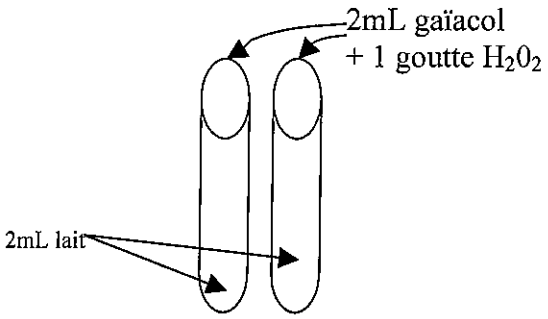
à t_0	à t_0 + 30 minutes	à t_0 + 2 heures
Cru : déjà jaune	*Jaune*	*Jaune*
Pasteurisé : blanc	*blanc*	*blanc*

Conclusion : *La phosphatase a bien été détruite au cours de la pasteurisation*

22. Recherche de l'activité de la peroxydase

La peroxydase est une enzyme **thermorésistante ; elle résiste à la pasteurisation.**

Principe : La peroxydase décompose le peroxyde d'hydrogène (ou eau oxygénée, formule H_2O_2) en libérant un atome d'oxygène. Cet oxygène se fixe alors sur le Gaïacol, qui devient rose saumon à l'état oxydé.



Mode opératoire : Introduire dans un tube à essai 2 mL de lait cru, dans un autre 2 mL de lait pasteurisé
Ajouter 2 mL de la solution de gaïacol et 1 goutte de peroxyde d'hydrogène dans chaque tube.
Agiter et garder les tubes dans la main pendant une minute environ.

Observation :*Coloration rose saumon dans les deux*

Conclusion :*La pasteurisation n'a pas détruit la peroxydase*

Par contre, la **de l'activité des deux enzymes**
peroxydase est détruite par chauffage pour le lait UHT !

23. Bilan sur la recherche

	Test de l'activité de la phosphatase	Test de l'activité de la peroxydase
Lait pasteurisé	*absente*	*présente*

Conclusion : *le lait utilisé pour faire les yaourts a été correctement pasteurisé*

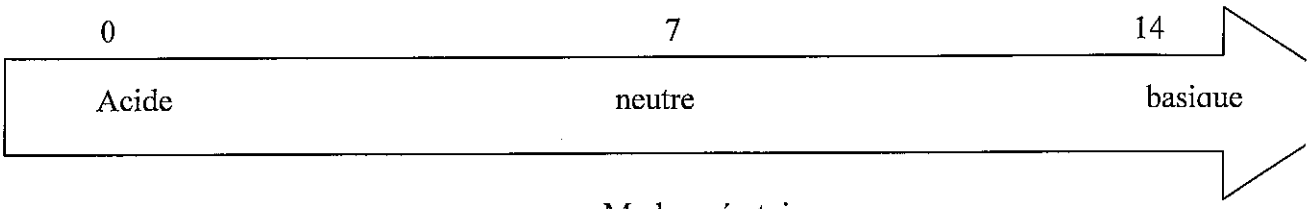
3. CONTROLES AU COURS DE LA FERMENTATION LACTIQUE

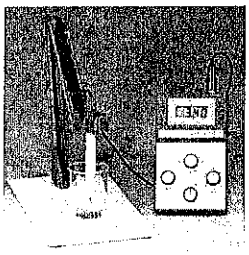
La fabrication du yaourt correspond à une réaction de fermentation lactique. Pour contrôler la bonne évolution de cette fermentation, on relève régulièrement **le pH du milieu réactionnel** et on mesure la teneur en acide lactique appelée l'**acidité Dornic**.

31. Mesure du pH du lait et du yaourt

La mesure du pH du lait renseigne sur **l'état de fraîcheur du lait.**
Les mesures du pH du yaourt renseignent sur **l'évolution de l'acidité du yaourt en cours de fabrication.**

Principe : Une sonde pHmétrique mesure la quantité d'ions H_3O^+ présents dans la solution. Le pHmètre traduit cette quantité par une valeur pH entre 0 et 14.





Mode opératoire :

- verser environ 20 mL de lait pasteurisé entier dans un bécher.
- Rincer à l'eau distillée et essuyer délicatement la sonde du pHmètre.
- Plonger la sonde dans le lait et agiter modérément
- Relever la valeur stable du pH sur le pHmètre.
- Rincer la sonde avant d'effectuer une nouvelle mesure.
- Recommencer le mode opératoire sur un lait en cours de fermentation.

	Lait entier pasteurisé	Yaourt 30 min	Yaourt 1 h	Yaourt 2 h	Yaourt 3 h	Yaourt 4 h	Yaourt 5 h	Yaourt 6 h
pH	6,7	6,4	6,3	5,4	5,1	4,8	4,5	4,3

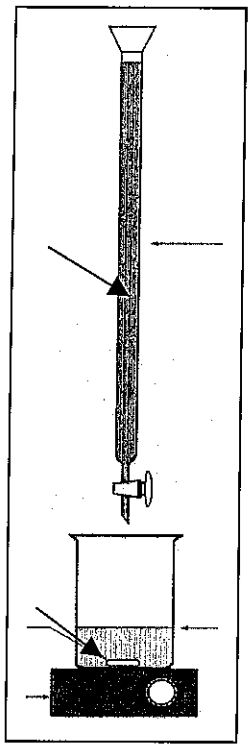
Observation :

De + en + acide

32. Mesure de l'acidité DORNIC

En industrie laitière l'acidité est exprimée en **degré Dornic**. Un degré Dornic (qui s'écrit 1° D), correspond à la présence de 0,1 g d'acide lactique par litre de lait ou de yaourt, même si l'acide lactique n'est pas le seul acide présent.

Principe : C'est le principe du **dosage colorimétrique d'un acide par une base**. On verse goutte à goutte une solution basique pour neutraliser l'acidité totale du lait, en présence d'un indicateur coloré. Au changement de couleur de l'indicateur coloré, la neutralité est obtenue. On en déduit la concentration en acide lactique du lait, en degré Dornic.



Mode opératoire :

*1) Remplir la burette graduée à l'aide d'une solution de soude de concentration C_b = 1/9 mol.L^{-1}. Chasser la bulle d'air au niveau du robinet puis ajuster correctement le niveau 0 du liquide dans la burette.**Déjà prêt***

2) Introduire 10 mL de lait à la pipette jaugée dans un bécher.

3) Verser 5 gouttes de phénolphtaléïne (indicateur coloré).

4) Placer délicatement le barreau magnétique dans le bécher.

5) Poser le bécher sur l'agitateur magnétique et mettre une agitation très douce.

6) Verser goutte à goutte la soude dans le bécher contenant le lait jusqu'au **virage rose pâle persistant**. Noter le volume V_{soude} de soude versé

7) Préparer un deuxième dosage dans un nouveau bécher, en suivant les étapes 2) à 6)

Remarque : si le yaourt est semi solide, remplacer l'étape 2) par : introduire 10,3 g de yaourt dans le bécher.

Pot KCl remplacé par eau du robinet

	Volume de soude V_{soude} (en mL)	**Acidité Dornic** (en °D) *Calcul : V_{soude} x 10*
Lait pasteurisé entier		*17*
Lait + ferments lactiques		*23*
Yaourt 30 min		*26*
Yaourt 1 h		*31*
Yaourt 2 h		*51*
Yaourt 3 h		*66*
Yaourt 4 h		*86*
Yaourt 5h		*104*
Yaourt 6h		*116*

Rmq : yaourt Leclerc delice pH = 4,27 111°D

<u>Observation</u> :*Acidité dornic augmente jusqu'à 110 120°D*

<u>Conclusion</u> :*La production d'acide lactique augmente au cours de la fermentation ; l'acidité dornic contrôle l'avancement de cette fermentation.*

Indiquer la position du lait pasteurisé entier et celui du yaourt au bout de 6h de fermentation :

	°D	35°D	80°D	100°D
Lait frais	Le lait caille en chauffant	Le lait caille à température ambiante	Fabrication yaourt « ferme »	Fabrication yaourt « bulgare »
				X

Remarques sur le déroulement :

1er temps : 3 postes tournants avec 1. 21. et 22. avec 1 fiche de rappel du TP sur chaque poste puis par binôme pH et DORNIC, chaque binôme fait une mesure lait entier pasteurisé + 1 mesure sur une prépa en cours de fermentation.