

Nouveaux produits fermentés

LEMAIRE LYDIA : lydia.lemaire@etu.sorbonne-universite.fr

ALIOUI Chahinez : chahinezalioui.pro@gmail.com

CAMARA NELSON : nelson.camara@etu.sorbonne-universite.fr

BENZERROUG Selma : selma22072022@gmail.com / Selma.benzerroug@etu.sorbonne-universite.fr

Intitulé : Tablette de chocolat noir au fourrage fermenté.

1. Contexte: dans le cadre de notre projet scientifique et technique au sein de la formation master 2 parcours Nutrition, Qualité et santé, on travaille sur la thématique de nouveau produit fermenté: réalisation d'un chocolat noir au fourrage fermenté.

Objectifs:

voici quelques objectifs clés à atteindre pour la réalisation de votre tablette de chocolat noir au fourrage fermenté

1. Qualité gustative et sensorielle :

- Obtenir un équilibre parfait entre l'amertume du chocolat noir et la l'acidité du fourrage fermenté.
- Obtenir un chocolat brillant et lisse grâce à un tempérage optimal.

2. Maîtrise des procédés de fabrication :

- Respecter les températures optimales pour le tempérage du chocolat noir.
- Trouver un bonne équilibre entre l'épaisseur du chocolat et du fourrage
- Garantir une homogénéité parfaite lors du remplissage de la tablette avec la crème de framboises.
- Assurer une finition impeccable avec des surfaces lisses et des formes attractives.

3. Stabilité du produit fini :

- Prévenir la migration d'humidité entre la crème et le chocolat afin d'éviter un blanchiment et ramollissement du chocolat
- Maintenir une bonne tenue du produit à différentes conditions de stockage (température et humidité).

4. **Valeur nutritionnelle :**

- Proposer un produit réduit en sucre par rapport à un chocolat conventionnel grâce à la fermentation et également enrichi en lactobacilles bénéfiques pour le microbiote intestinale. Utilisation d'ingrédients de qualité: fourrage bio, chocolat noir riche en cacao.

5. **Conformité réglementaire et qualité :**

- Respecter les normes d'hygiène et de sécurité alimentaire à chaque étape du processus.
- Garantir une composition respectant les normes d'étiquetage, comme les mentions allergènes ou le NutriScore.

Lundi 9 décembre:

1. Préparation des milieux de culture pour l'activation des lactobacilles lyophilisés de l'institut Pasteur:

souche1: *Bifidobacterium animalis* subsp.

Meduim72- for trypto casein soja agir

milieu de culture: un bouillon

- 40g de Tryptone casein soy agar
- 1000ml de Ultra pure water

ajuster le pH à 7.3±0.2

souche 2 : *Lactobacillus plantarum*

Médium 40- for Lactobacillus et Leuconostoc

milieu de culture: un bouillon

- 10 g de pepton
- 15g yeast extract
- 20 g de glucose

- 1g polysorbate 80
- 0.1 g de sulfate de magnésium
- 0.1 g de sulfate de manganese
- 1g de phosphate desodique
- 100 ml de l'eau distillé

ajuster le Ph a 6.5 ± 0.2



Stérilisation: autoclave a 121°C pendant 1h30 min du matériel

souche 3: *Lactobacillus acidophilus* , bouillir le lait

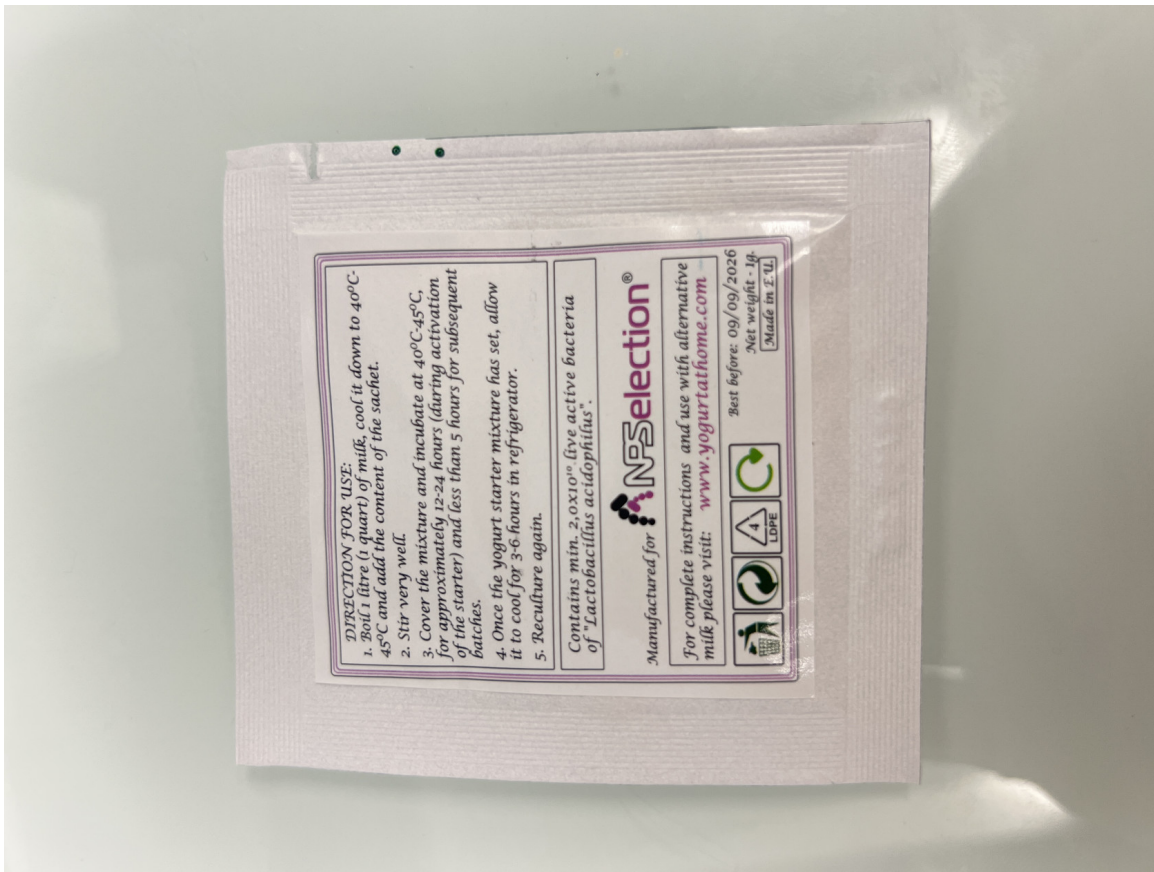


Image d'incubation des souches bactériennes



Mardi 10 décembre

2.Mise en culture des souches

- verser une quantité de chaque souche (à l'oeil) dans 10ml de son milieu de culture spécifique, puis incubé à 37°C pendant 24h
- Une demi capsule de probiotique cuure contenant essentiellement *Lactobacillus plantarum* a été mise en culture dans 10ml de milieu spécifique
- un demi sachet de *Lactobacillus acidophilus* (souche 3) dans 250ml de lait entier stérilisé, mise en incubation à 37°C pendant 24h

Essais de texture avec la pectine:

Afin d'avoir une idée approximative du dosage de pectine à utiliser pour avoir une texture optimale.

Les framboises congelées ont été portées à ébullition. Réalisation de 4 essais: 0.05 g , 0.1 g, 0.5g, 1g dans 10 g de framboise

Les essais les plus concluants étaient ceux à 0,1 et 0,5g de pectine pour 10 g de framboises.

Mercredi 11 décembre

3. Résultats:

souche1(*Bifidobacterium animalis*) : pas de trouble , souche non activée , attendre plus de temps

souche 2 (*Lactobacillus plantarum*) : observation d'un trouble dans le milieu de culture, ce qui démontre la prolifération de la souche et donc son aptitude à être utilisée.

Réactivation également des souches contenu dans le probiotique cuure (essentiellement composé de *L. plantarum*) : observation d'un trouble.

La souche 3 (*Lactobacillus acidophilus*) à également été réactivée dans le lait, observation d'un changement de consistance du lait (lait caillé).

4. Récupération des ferments

Centrifugation de la souche 2, 3 et du probiotiques: On prélève environ 5 mL des milieux dans 3 tubes de 15 mL. Puis centrifugation puissance maximale durant 5 min à 25°C. On enlève les milieux de culture en faisant attention au culot puis on remet en suspension les culots dans du jus de pomme stérile.

Les milieux restant sont complétés avec les milieux de culture adéquat et remis dans l'incubateur à 37°C afin d'avoir plus de ferments.

Jeudi 12 décembre

5. tests de fermentation:

Les framboises congelées ont été portées à ébullition durant 5 minutes afin d'éliminer de potentiels germes qui pourraient interférer avec la fermentation. On a mis 61g de purée de framboise dans 6 bocaux préalablement stérilisés.

Mesure du pH de notre purée de framboise: 2.82 Or le ph optimal pour nos lactobacilles se situe entre 6 et 7 nous avons donc décidé de rajouter du bicarbonate dans la moitié de nos essais, pH des framboise + sucre + bicarbonate = 3.5

Bocal1: 200 ul *Lactobacillus acidophilus* + 30 g de sucre (50% du poids des framboises)

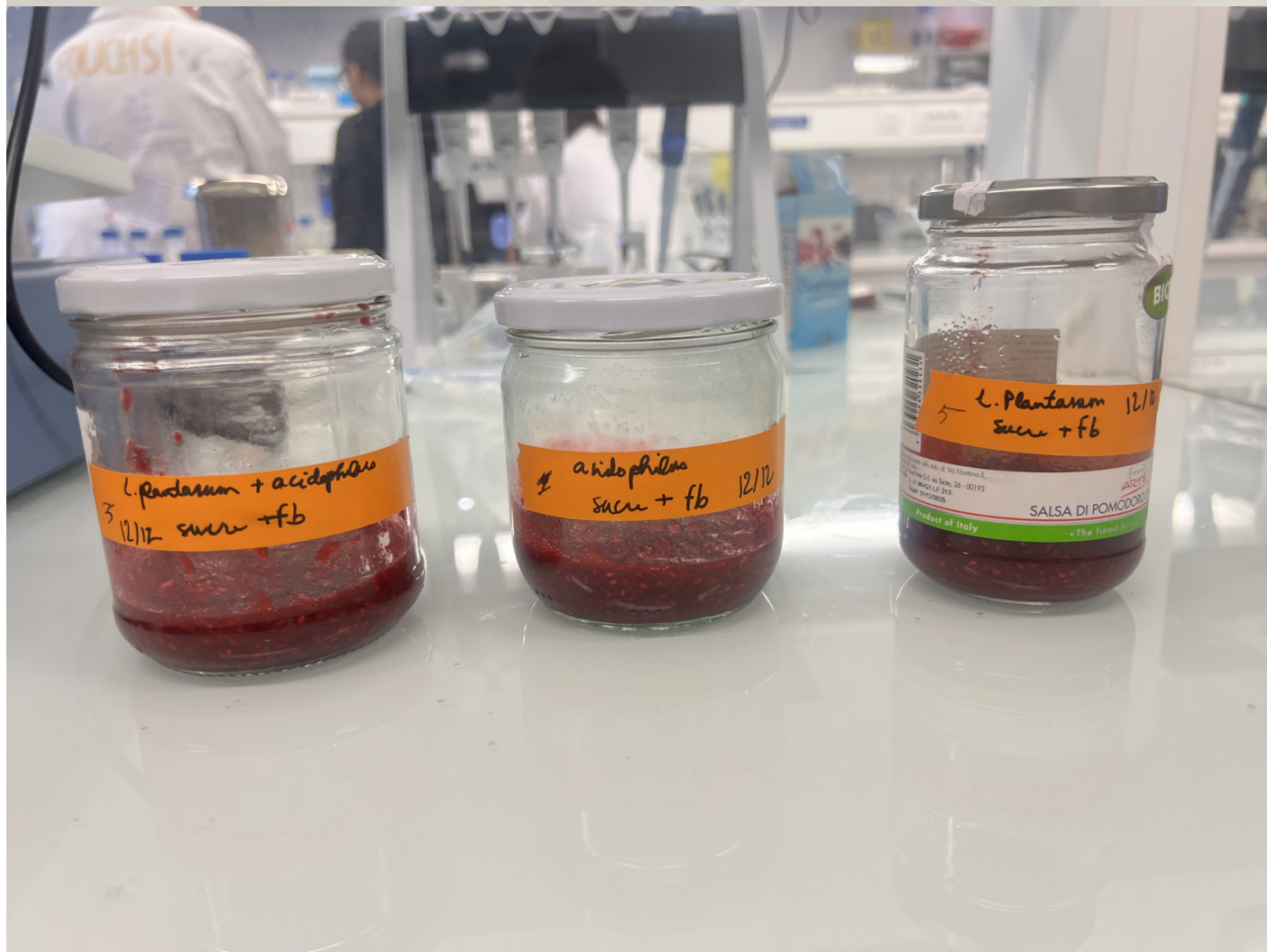
Bocal2: 200 ul *Lactobacillus acidophilus* + 30 g de sucre + 0.5g de bicarbonate

Bocal3: 200 ul *Lactobacillus acidophilus* +100 ul *Lactobacillus plantarum* + 30 g de sucre

Bocal4: 200 ul *Lactobacillus acidophilus* + 100ul *Lactobacillus plantarum* + 30 g de sucre + 0.5g de bicarbonate

Bocal5: 100 ul *Lactobacillus plantarum* + 30 g de sucre

Bocal6: 100 ul *Lactobacillus plantarum* + 30 g de sucre + 0.5g de bicarbonate



Nous avons rencontré plusieurs problèmes: Premièrement l'ajout de bicarbonate dans la purée de framboise entraînait son noircissement ce qui est peu appétissant, cependant sans bicarbonate et même avec un fort ajout de sucre le pH restait au alentour de 3.



Au cas où les lactobacilles ne survivent pas à ce PH trop acide. Nous avons décidé d'utiliser un fruit moins acide: la figue.

Les figues congelées on été portées à ébullition comme les framboises. Elles ont été mixées afin d'obtenir une compotée. Puis on a mis 61 g de purée dans 3 bocaux non stériles mais bien nettoyés.

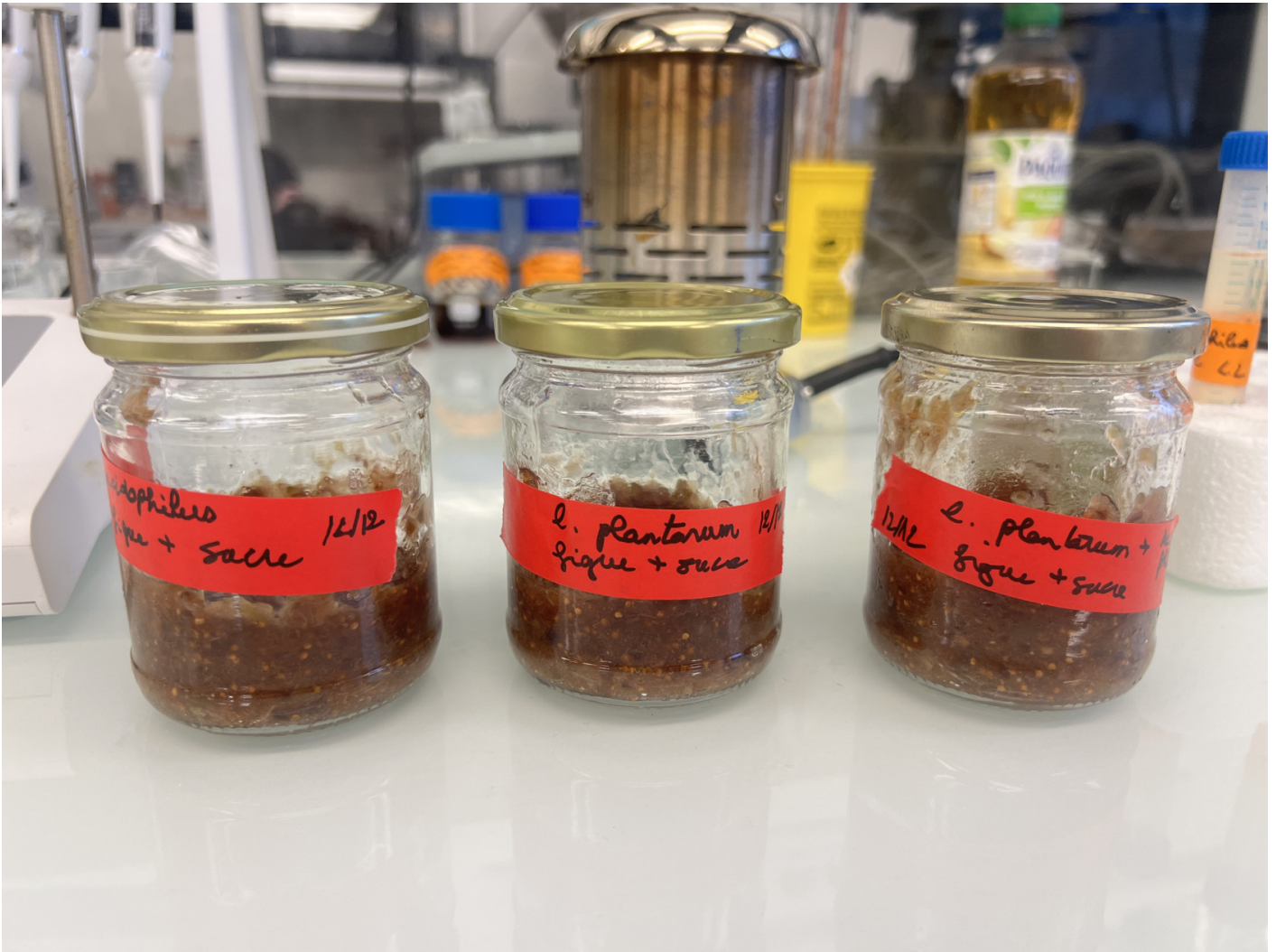
Mesure du pH: Le pH de la figue est de 5.5 Nous avons décidé de faire des essais uniquement avec du sucre et sans bicarbonate afin d'éviter le noircissement.

Bocal1:100 ul *Lactobacillus plantarum* + 10 g de sucre

Bocal2:200 ul *Lactobacillus acidophilus* + 10 g de sucre

Bocal3:200 ul *Lactobacillus acidophilus* + 100ul *Lactobacillus plantarum* + 10 g de sucre

Les 9 bocaux ont été placés dans un placard à l'abri de la lumière et de l'humidité, à température ambiante pour 3 jours.



16 Décembre 2024

Résultat de fermentation après 3 jours d'incubation:

- Le mélange *Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus plantarum* + sucre: Apparition de bulles bien apparente le mélange à très bien fermenté, une odeur acidulée
- Le mélange *Lactobacillus plantarum*+ sucre : Apparition de bulles bien apparente , une odeur acidulée
- Le mélange *Lactobacillus acidophilus* + sucre: très peu de bulles, une odeur acidulée



Bocal1: *Lactobacillus acidophilus* + sucre: peu de petite bulles a la surface

Bocal2: *Lactobacillus acidophilus* + sucre + de bicarbonate: beaucoup de petite bulles en surface

Bocal3: *Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus plantarum* + sucre: peu de petite bulles en surface

Bocal4: *Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus plantarum* + sucre + bicarbonate: beaucoup de petite bulles en surface

Bocal5: *Lactobacillus plantarum* + sucre: pas de bulles

Bocal6: *Lactobacillus plantarum* + sucre + bicarbonate: beaucoup de petite bulles en surface

Les Analyses physico-chimique:

Pour les framboises: avant fermentation

Mélange	framboise	framboise + sucre	framboise + sucre + bicarbonate
pH	2.69	2.78	3.95

Pour les figes: avant fermentation

mélange	figue	figue + sucre
pH	5.14	5.31

Pour les figes fermentée :

Mélange de figue + ferment+ sucre	<i>Lactobacillus plantarum</i> + sucre	<i>Lactobacillus acidophilus</i> + sucre	<i>Lactobacillus acidophilus</i> + <i>Lactobacillus plantarum</i> + sucre
pH	3.69	4.56	3.63

Pour les framboises fermentée :

Mélanges	<i>Lactobacillus plantarum</i> + sucre	<i>Lactobacillus acidophilus</i> + sucre	<i>Lactobacillus acidophilus</i> + <i>Lactobacillus plantarum</i> + sucre	<i>Lactobacillus plantarum</i> + sucre + bicarbonate	<i>Lactobacillus acidophilus</i> + sucre + bicarbonate	<i>Lactobacillus acidophilus</i> + <i>Lactobacillus plantarum</i> + sucre + bicarbonate
pH	2.88	2.85	2.87	3.73	3.86	3.84

préparation des milieux de culture

milieu de culture: Plate Count Agar PCA

composition: par litre

15g d'Agar

5g de Peptone

2.5g de Yeast extract

1g de glucose

le pH a 7 + 0.2

Usage: Pour le dénombrement, des bactéries, dans le lait, l'eau, les aliments et les produits laitiers .

Ce milieu est préparé afin de dénombrer la flore aérobie mésophile totale (FMAT) dans notre pot de framboises fermentées.

18/12/2024

Préparation du milieu de culture: EMB

Ensemencement du milieu gélosé PCA et incubation: (Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale)

Après avoir préparé une solution mère en pesant 5g de purée de framboises fermentées auxquels nous avons ajouté 45ml d'eau distillée stérile, nous avons procédé à la préparation des dilutions décimales (de 10^{-1} à 10^{-3}). Nous avons porté 1ml de chaque dilution dans une boîte pétri vide, complété avec 15ml de gélose PCA fondue puis refroidie à 47°C, homogénéisé le contenu en effectuant des mouvements circulaires en forme 8, laissé refroidir sur la paillasse ensuite ajouté un deuxième volume de gélose. Enfin, nous avons incubé les boîtes à 30°C pendant 72h.

Essais du chocolat :

Après réception du chocolat noir en vrac, nous avons pesé et fait fondre 300g de ce dernier à l'aide d'un bain Marie. La masse fondue a été versée dans des moules. Après refroidissement d'environ une heure au frigo, nous avons obtenu des tablettes de chocolat brillant et cassant, ce qui valide la qualité du chocolat et donne une idée sur la quantité à utiliser afin d'obtenir des tablettes conformes à nos exigences.

Préparation du milieu de culture : EMB

composition: dans 1L

12,5g mélange de peptones

10g de Lactose,

2 g hydrogènnophosphate de potassium.

0,4g et éosines jaunâtre

0,1g bleu de Méthylène

15g d'Agar.

Le pH final 6,8 + 0,2

Préparation:

Après avoir peser tout les composant, mélanger le tout avec un vertex , autoclaver à 121 °C, pendant 15 minutes, puis refroidir à 50 et maintenir cette température au bain-marie, bien mélangée pour aussi le bleu de méthylène et découdre le précipiter, couler le milieu dans une boîte de pétri 15 à 20 ml par boîte et laisser reposer

PS: lors de la préparation du milieu il manquait le lactose, on l'a remplacé par la poudre de lait mais après le versement du milieu dans les boites de pétri on a eu des granules blanchâtre ce qui affecte les résultats

19/12/2024

Préparation de la framboise fermenté:

Après avoir choisir la meilleure purée de framboises fermentés des 6 mélanges préparés avant, on a opté pour le mélange framboise + *Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus plantarum* + sucre + bicarbonate qui va être présent dans notre produit fini

cette fois ci on a préparé un bocal de 200 ml avec les quantités suivantes: 670 ul *Lactobacillus acidophilus* + 350 ul *Lactobacillus plantarum* + 100 g de sucre + 1 g de bicarbonate

PS: le mélange qu'on a préparé la première fois ne suffit pas pour faire les analyses physico-chimique, microbiologie et préparer le produit fini

Préparation des tablette de chocolat avec la framboises fermentées:

1er essaie:

Préparation des tablettes de chocolat aux framboises fermentées : Premier essai

- **Faire fondre le chocolat :**

1. Une quantité de 250g de chocolat noir a été fondu au bain-marie.
2. Une fois fondu, une cuillère d'huile vierge bio de pépins de raisin a été ajoutée pour obtenir un chocolat brillant.

- **Moulage de la première couche :**

1. Une première couche de chocolat fondu a été versée dans un moule à tablette.
2. Le moule a été placé au réfrigérateur pendant 1 heure pour que la couche durcisse.

- **Ajout des framboises fermentées :**

- Une fois la première couche durcie, des framboises fermentées ont été ajoutées.

- **Fermeture de la tablette :**

1. Une deuxième couche de chocolat fondu a été coulée pour refermer la tablette.
2. La tablette a ensuite été remise au réfrigérateur pour finaliser le processus

- **Démoulage:**

1. Après avoir laissé le chocolat refroidir et durcir complètement, les tablettes ont été soigneusement démoulées.

Observation visuelle :

1. Aspect général : La surface du chocolat est brillante et lisse, comme attendu grâce à l'ajout de l'huile de pépins de raisin
2. Forme et structure : La tablette était-elle bien formée, sans bulles d'air ni défauts visibles
3. Couche supérieure : La fermeture avec la deuxième couche de chocolat est homogène et suffisante pour maintenir les framboises en place

Analyse organoleptique :

1. Texture : Le chocolat présente une bonne croquance
2. Saveurs : Le goût du chocolat se marie bien avec celui des framboises fermentées, Les framboises apportent une note fruitée équilibrée
3. Stabilité : La tablette reste solide et compacte à température ambiante

Améliorations possibles : Des défauts ont été identifiés, comme une mauvaise adhérence des framboises ou une texture un peu liquide même après l'ajout de la pectine la quantité n'était pas suffisante, des ajustements seront proposés pour les prochains essais (il faut étaler le chocolat sur les bord lors du versement de la première couche, rajouter de la pectine faire des essais pour une plus grande quantité)

20/12/2024

Analyses physico-chimiques :

le taux de sucre:

Appareil utilisé : réfractomètre

Mesure du degré Brix:

Mode opératoire:

- 1- On commence par la préparation et vérification du réfractomètre
 - Placer une gouttelette d'eau distillée sur la surface du prisme
 - Fermer le couvercle et assurer que la valeur de brix est égale à 0° brix (si c'est pas le cas calibrer le réfractomètre)
- 2- Prélèvement de l'échantillon :
 - On prélève une gouttelette de la framboise fermenté (on prend que le liquide) à mesurer on s'assurant que la gouttelette prélevée ne contient pas de bulles ou deux particules

- Déposer une de gouttelettes de l'échantillon sur la surface du prisme, tu réfractometre
- Etaler la gouttelette pour couvrir la surface fermer le couvercle pour lire les résultats

NB: après chaque mesure, il faut nettoyer soigneusement le prisme avec de l'eau distillée et l'essuyer avec un papier pour éviter les résidus qui pourraient affecter les résultats

3- Résultats de la lecture:

Échantillon1: framboise fermenté (*Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus plantarum*)+ sucre

40,75°brix l'équivalent de 40 % de sucre, donc 40 g de sucre dans 100 g de la framboise fermentée

Échantillon2: framboise +(*Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus plantarum*)+ sucre+ bicarbonate

44,25°Brix l'équivalent de 44 % de sucre, donc 44 g de sucre dans 100 g de framboises fermenté

le taux d'extrait sec et humidité

on a utiliser le mélange *Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus plantarum* + sucre + bicarbonate

Mettre les échantillons dans le four (étuve) à 103°C pendant 3h, peser avant et après, mettre le mélange étuvé dans le dessiccateur pendant 30 min, peser ensuite le remettre dans le four pendant une heure, et faire les pesées, et refaire la même chose jusqu'a

poids de creuset vide: 175.29g

en gramme	poids avant	poids après l'étuvage	poids après le dessiccateur	après étuvage d'une heure	2 eme fois au dessiccateur
Mélange + sucre + bicarbonate	10.30	5.52	5.50	4.71	4.70
Mélange + sucre	10	5.76	5.73	4.89	4.87

reste l'application des lois a appliquer

Acidité titrable : L'acidité titrable correspond à la somme des acides minéraux et organiques libres dans le mélange de framboises fermentées

c'est une réaction acido-basique entre l'hydroxyde de sodium (base) et les acides que contiennent les framboises qui se traduit par un changement de pH aux environs de 7.

1- Préparation de la solution NaOH : $V = 250\text{ml}$, $C = 0,1\text{N}$, $m = 1\text{g}$. $c_1v_1 = c_2v_2$

2- Titrage avec la solution d'NaOH (10ml NaOH, 10ml framboises) : en utilisant un ph-mètre car la solution est colorée (on a pas utilisé indicateur coloré le phénol phtaléine car il vire vers le rose)

éch 1 (sans bicarbonate): $\text{pH} = 7,94$, $V \text{ NaOH} = 24\text{ml}$, éch 2 (avec bicarbonate): $\text{pH} = 8,2$, $V \text{ NaOH} = 16,3\text{ml}$

lecture des résultats d'analyses microbiologie du milieu PCA:

flore aérobie mésophile totale sur milieu PCA :

Observation de plusieurs colonies de différent type, ce qui indique que les boites ont été contaminées, et ce peut être due à plusieurs facteurs : utilisation d'eau distillée non stérile, incubation des boites de pétri avec d'autres échantillons inconnus, non respect de conditions d'hygiène lors de la manipulation. Cela nous a obligé à refaire l'analyse encore une fois, tout en faisant attention et en respectant toutes les mesures d'hygiène le 10-01-2025 (verrerie stérile, manipulation a coté du bec Benzène, eau distillée stérile, incubation isolée dans une étuve non contaminée).

10-01-2025

Analyse microbiologique citée ci-dessus :

- 1- Préparation du milieu de culture PCA
- 2- Stérilisation du milieu + verrerie pendant 1h30
- 3- Préparation des suspensions mères et solutions filles
- 4- Ensemencement en inclusion + incubation à 30°C pendant 72h (protocole en dessus)

Préparation de nouvelles tablettes de chocolat