Suivi de fermentation de la pâte à pain par imagerie

Anne-Laure Réguerre¹, Hubert Chiron¹, Aamir Shehzad¹ et Guy Della Valle¹

Résumé : Afin de comprendre l'obtention de la structure de la mie de pain, au centre Inra de Nantes, nous étudions l'évolution de la pâte au cours la fermentation, une étape essentielle de la panification. Dans ce contexte, nous avons mis au point un outil de suivi du volume de la pâte par imagerie. Les résultats ainsi obtenus sont confrontés à ceux issus d'un suivi à une échelle microscopique par tomographie aux rayons X. Les résultats sont cohérents aux deux échelles. L'accroissement de volume observé au niveau macroscopique est lié aux phénomènes microscopiques tels que nucléation, croissance et coalescence des alvéoles. Nous disposons ainsi d'un outil simple et robuste, utilisable systématiquement pour caractériser cette étape de la panification.



Mots clés : Imagerie, pain, fermentation, structure 3D, alvéoles

Photo © H. Chiron/ Inra

Introduction

Au centre Inra de Nantes, l'équipe MC2 (matériaux création et comportement) de l'unité de recherche BIA (biopolymères, interactions et assemblages), étudie la structure et les propriétés de produits céréaliers. La mie du pain est assimilée à un solide alvéolaire dont nous caractérisons la texture par imagerie (Devaux *et al.*, 2005) pour en établir les liens avec la composition (Rouillé *et al.*, 2005). Cette structure alvéolaire est élaborée pendant la panification (**encadré**), principalement lors de la conduite de l'étape de fermentation, puis figée durant la cuisson.

Les phénomènes biochimiques, consommation de sucres par les levures et accumulation de dioxyde de carbone, provoquent la croissance et la coalescence des alvéoles, phénomènes qui se traduisent par une augmentation du volume de la pâte et donc de sa porosité.

Nous avons mis au point un outil pour évaluer l'expansion de la pâte au moyen d'une caméra numérique et d'analyse d'images. Nous décrivons cet outil et son utilisation pour déterminer les cinétiques de fermentation obtenues dans quatre conditions différentes. Celles-ci sont comparées à des résultats obtenus à l'échelle microscopique par tomographie aux rayons X (RX).

¹ UR 1268 Biopolymères, Interactions & Assemblages, INRA-URBIA - F-44316 Nantes ¹ 02 40 67 52 17 Anne-Laure.Reguerre@nantes.inra.fr

La panification

La fabrication du pain nécessite une adéquation entre la formulation, l'ordonnancement des étapes unitaires du processus et le niveau de mécanisation.

Le boulanger opte selon le standard de pain souhaité pour une intensité de pétrissage plus ou moins grande et sur une mise en forme avec ou sans moule.

Les conduites de fermentation qui impactent fortement les caractéristiques gustatives oscillent entre deux et douze heures. En dernier lieu, le choix de la courbe de cuisson génère soit un pain à double texture type baguette soit un pain moelleux type pain de mie.

Finalement le choix du procédé conduit à un produit fini qui se caractérise par des propriétés organoleptiques directement liées à sa structure alvéolaire. Les travaux de l'équipe MC2 du centre Inra de Nantes, permettent de caractériser instrumentalement les propriétés mécaniques de cet aliment.



Photo © H. Chiron/Inra

Ingrédients : farine, eau, sel, levure ou levain et (facultatif) sucre, matière grasse et produits d'addition Pétrissage Fermentation en masse (pointage) Divisage Pâtonnage Boulage Détente Façonnage Fermentation individuelle Scarification Cuisson Pain

Photo © G. Briand/Inra

1. Présentation de l'outil de suivi de la fermentation

1.1 Matériel

1.1.a Acquisition des images

L'opérateur prélève un morceau de pâte (30 g) après le pétrissage et place ce pâton immédiatement dans une étuve à température et humidité contrôlées, fermée par une porte transparente. Nous filmons l'expansion du pâton due à la fermentation avec une caméra numérique JVC KY-F75U placée face à l'étuve, et fixée sur un pied, comme le montre la **figure 1**.



Figure 1 : dispositif caméra numérique et étuve

Nous plaçons la source lumineuse derrière le pâton pour nous affranchir des problèmes de reflets sur la porte. Cet éclairage présente aussi l'avantage de donner une image dans laquelle le pâton, sombre sur fond clair, est facile à isoler comme montré **figure 2**.



Figure 2 : exemple d'image (échantillon F, cf. tableau 1)

Pour déterminer la résolution d'une image, il faut connaître une mesure d'un des objets qui y figurent. Nous connaissons l'épaisseur du support et aussi la largeur du pâton, relevée au pied à coulisse juste avant l'acquisition d'image. La résolution de cette image est telle que le côté d'un pixel² a une longueur de 122 μ m. L'acquisition des images est pilotée par l'application VisionStage (http://www.alliancevision.com/fr/alvsoft/visionstage.htm).

1.1. b Préparation de la pâte et des pâtons

Les pâtes de compositions différentes ont été confectionnées selon un processus standard. Les formulations sont indiquées dans le **tableau 1** en grammes pour 100 grammes de farine mise en œuvre. La farine utilisée est une farine panifiable de type 55 ne contenant ni enzyme ni additif, fournie par la Minoterie Giraudineau³.

Echantillon	Eau	Sucre	Huile	Levure	Sel
F'	62	0	0	1,25	2.2
F	62	0	0	2,5	2.2
15T	65	2	2	3	2
4T	55	10	10	3	2

Fableau	1	: formu	lations	des	pâtes
---------	---	---------	---------	-----	-------

Pour préparer la pâte, nous utilisons un pétrin à axe oblique Mahot, réglé à une vitesse lente (40 t/mn) pendant 4 mn, puis à vitesse rapide (80 t/mn) pendant 15 mn. Le sel est introduit 5 mn avant l'arrêt du pétrissage. La température finale de la pâte est de $25^{\circ}C$ +/- $1^{\circ}C$.

² Pixel = *picture element* = unité élémentaire de l'image numérique

³ F-44310 Saint-Colomban

Immédiatement après l'arrêt du pétrissage, un pâton est extrait de cette pâte et pesé. Une boule, formée manuellement, est déposée sur une plaque de verre qui est ensuite placée dans l'étuve sur un support. La méthode a été aussi testée en plaçant le pâton dans un tube comme décrit dans la présentation de Shehzad A. *et al.* (2007), mais le suivi d'une boule non contrainte donne des résultats plus répétables et plus précis. Entre la fin du pétrissage et la première image s'écoulent 10 mn.

Les pâtons ont une masse de 30 g +/- 0,1g. La température dans l'étuve est de $27^{\circ}C$ +/- 0,3°C et l'hygrométrie 70 % +/- 3 %. La durée totale de fermentation est de 240 mn avec une acquisition d'image toutes les 5 minutes.

Pour comparer les résultats macroscopiques et microscopiques, nous calculons la porosité au cours du temps. Elle est obtenue à partir de la mesure du volume de la pâte mesuré en cours de fermentation V(t), comme nous l'expliquons ci-après :

$$P(t)=1-\frac{Mp}{V(t)\cdot\rho_s}$$

avec Mp = masse du pâton et ρ_s = masse volumique de la pâte non alvéolée.

1.2 Méthode d'analyse des images

1.2.a Nature des images

Préalablement au traitement, les images couleurs sont converties en niveaux de gris : à chaque pixel est associée une teinte codée numériquement et comprise entre 0 et 255.

1.2.b Traitement des images

Pour commencer, nous recoupons les images pour que le support du pâton n'y apparaisse plus. Nous sélectionnons manuellement sur une des images de fin de fermentation, quand le pâton est le plus grand, un cadre de forme rectangulaire ne contenant que la région d'intérêt, le pâton, et le fond. Toutes les images de ce suivi de fermentation sont ensuite automatiquement recoupées selon ce cadre. La **figure 3** montre un exemple d'image recoupée en fin de fermentation.



Figure 3 : image recoupée (échantillon F), fin de fermentation

Les conditions d'éclairage sont choisies de manière à obtenir un bon contraste entre le fond de l'image et la pâte. L'histogramme des niveaux de gris représenté en **figure 4** (zoom) montre deux pics, le premier correspond aux pixels sombres du pâton, le second correspond aux pixels clairs du fond de l'image. A partir de l'histogramme des niveaux de gris, nous déterminons un seuil en niveau de gris pour séparer le pâton du fond de l'image, il est fixé à 212 comme figuré en pointillés. Les pixels d'un niveau de gris inférieur sont considérés comme appartenant au pâton, les autres au fond de l'image.

Les pixels du fond comme ceux du pâton ont un niveau de gris constant lors du suivi de fermentation. A partir de l'ensemble des histogrammes de la série d'images faites au cours de la fermentation, nous déterminons un seuil unique appliqué ensuite à toutes les images pour obtenir une série d'images binaires.



Figure 4 : histogramme des niveaux de gris de l'image de la figure 3

1.2.c Mesures et évaluation du volume

La hauteur et la plus grande largeur du pâton sont obtenues directement à partir de l'image binaire. Le volume V est déterminé en faisant l'hypothèse que le pâton reste symétrique lors de la fermentation, comme représenté **figure 5**, il est calculé comme la somme des volumes des disques qui composent l'échantillon selon l'axe vertical sur toute la hauteur H :



Figure 5 : principe du calcul du volume

$$\mathbf{V} = \sum_{z=0}^{H} \pi \cdot r(z)^2 \cdot \Delta z$$

avec $\Delta z = 1$ pixel et r(z) = $\frac{1}{2}$ *longueur du segment d'échantillon en z

Le traitement d'images et les calculs sont programmés sous MATLAB (<u>http://www.mathworks.fr</u>).

Mise au point de protocoles d'acquisition

1.3 Résultats

La **figure 6** montre la courbe d'évolution de la porosité de pâtons de formulation 'F'. Le 'F1' correspond au pâton vu en **figure 2** (début de fermentation) et **figure 3** (fin de fermentation).



Figure 6 : évolution du volume

Chaque suivi de fermentation a été répété 3 fois, l'erreur relative est inférieure à 5 %. La **figure 7** montre l'ensemble des courbes moyennes d'évolution de la porosité pour les 4 types d'échantillons.



Ces courbes présentent une forme sigmoïdale : l'augmentation du volume est initialement lente puis accélérée aux temps intermédiaires et réduite en fin de levée. Nous repérons sur ces courbes un point d'inflexion caractéristique de chaque formulation, représenté en pointillés

sur la **figure 7**, défini par (Tc, Pc) et une vitesse d'accroissement maximale P'. Les valeurs obtenues sont données dans le **tableau 2**. Nous remarquons que Tc (F') $\approx 2.$ Tc(F) alors que F' contient 2 fois moins de levure que la pâte F.

Echantillon	Temps au point	Porosité au point	Vitesse au point
	d'inflexion (Tc)	d'inflexion (Pc)	d'inflexion P' (mn ⁻¹)
F'	50	0,33	0,0049
F	27,5	0,33	0,008
15T	25	0,32	0,0095
4T	45	0,32	0,0061

Tableau 2 : valeurs des coordonnées du	point d'inflexion des	cinétiques de porosité
--	-----------------------	------------------------

2. Comparaison avec étude par tomographie - RX

Nous rappelons la méthode employée dans les travaux de Babin *et al.*, (2006). Parmi les résultats numériques obtenus par analyse d'images, nous n'utilisons que les mesures de porosité.

2.1 Matériel et méthode

Nous avons utilisé la tomographie par rayons X pour obtenir des images de notre échantillon sans le modifier, en 3 dimensions (3D) à une échelle micrométrique. C'est une technique qui donne une image 3D de la structure interne construite à partir d'une série de coupes faite par radiographie à rayons X à des angles différents, selon le schéma en **figure 8** :



Figure 8 : principe de la tomographie à rayons X

Il était nécessaire d'effectuer les radiographies le plus rapidement possible pour que l'image finale ne soit pas perturbée par les évolutions de la pâte en cours de fermentation. Un synchrotron produit des rayons X de haute énergie qui permettent de faire de la tomographie rapide à l'échelle microscopique. Les images de tomographie ont été obtenues à *l'European Synchrotron Radiation Facility* (ESRF-Grenoble), sur la ligne BM05 avec une énergie de 18 keV et un temps d'exposition de 20 ms par radiographie. Le temps pour acquérir

l'ensemble des 400 radiographies sur 180°, utilisées pour reconstruire une image 3D, était de moins de 30 secondes. Dans cet intervalle de temps, les modifications dans l'échantillon étaient négligeables par rapport aux changements observés après le temps laissé entre deux acquisitions complètes successives (\geq 3 mn). La taille du côté d'un voxel⁴ est de 15 µm. Les images obtenues sont codées sur 256 niveaux de gris et leurs dimensions sont de 628*628*628 voxels, soit un cube de 9 mm de côté.

La figure 9 montre une série de coupes 2D obtenues lors du suivi de la pâte F.



Figure 9 : coupes d'images 3D obtenues par tomographie rapide à l'ESRF de la pâte F en cours de fermentation

Nous avons vérifié que les rayons X n'affectent pas l'activité des levures en comparant le volume final de l'échantillon radiographié au volume d'un même échantillon de contrôle non-soumis aux rayons.

La qualité des images et le bon contraste entre les alvéoles et la pâte permettent de les séparer par application d'un seuil en niveau de gris. Ce seuil varie légèrement au cours du temps, d'une image 3D à l'autre. Il peut être déterminé visuellement, nous avons utilisé pour cela l'application ImageJ (<u>http://rsb.info.nih.gov/ij/</u>), ou en appliquant une méthode statistique sur les niveaux de gris de l'image. Nous avons testé celle dite des « k-moyens », elle donne le même seuil qu'une évaluation *de visu*. Schématiquement, il s'agit de répartir les niveaux de gris dans 2 classes en les comparant à un seuil, de calculer les centres de ces classes et leur valeur moyenne, puis par itérations, d'utiliser cette moyenne comme nouveau seuil jusqu'à ce que les classes soient stables.

Les images 3D binaires ainsi obtenues sont utilisées pour une analyse quantitative. Nous avons vérifié qu'une variation du seuil de +/-10 % modifie peu (1 %) les mesures faites ensuite sur les images binaires.

2.2 Résultats

Les échantillons de pâte étaient obtenus avec une farine commerciale (Nutrixo, F75) selon les formulations données dans le **tableau 1.** Un morceau de pâte était prélevé immédiatement après le pétrissage et placé dans un tube de plexiglas, transparent aux RX, puis dans l'enceinte du synchrotron où la température était fixée à 25 °C. L'échantillon en début de fermentation avait un diamètre de 9 mm et une hauteur de 4 mm. Les images étaient acquises avec un intervalle de 3 à 10 mn entre chacune, pendant 2 h et 3 h pour l'échantillon F'.

La porosité est égale au rapport entre le nombre de voxels appartenant aux alvéoles sur le nombre de voxels de l'échantillon. Les résultats obtenus sont présentés **figure 10**.

⁴ Voxel = *volume element* = unité élémentaire de l'image numérique 3D



Figure 10 : évolution de la porosité calculée à partir des images de tomographie

Comme montré dans le **tableau 3**, les cinétiques d'évolution de la porosité des pâtes obtenues par tomographie-RX sont classées dans le même ordre que celles obtenues par le suivi de la fermentation. L'échelle micrométrique permet de comprendre à quel phénomène correspond le point d'inflexion dans la courbe de suivi de la porosité.

Sur la **figure 9**, la première image, acquise avant Tc = 22 mn, montre des alvéoles sphériques disjointes, ensuite ces alvéoles coalescent et présentent des contours irréguliers. Tc marque la fin de la croissance libre des alvéoles et le début de la coalescence.

Echantillon	Temps au point	Porosité au point	Vitesse au point	
	d'inflexion (Tc)	d'inflexion (Pc)	d'inflexion P' (mn ⁻¹)	
F'	52	0,265	0,0054	
F	22	0,265	0,0101	
15T	17,5	0,28	0,0108	
4T	41	0,27	0,008	

Tableau 3 : coordonnées du point d'inflexion des cinétiques de porositédéterminées par tomographie-RX

Pour comparer sur un même graphe (**figure 11**), nous ramenons les valeurs ci-dessous à une échelle variant de 0 à 0,6 en divisant les temps caractéristiques Tc par 100 et les vitesses maximales P' par 50.



Figure 11 : comparaison des valeurs caractéristiques trouvées par les suivis aux 2 échelles

Les valeurs caractérisant le point d'inflexion montrent un accord acceptable, compte-tenu des différences de conditionnement de l'échantillon, de résolution et d'échelles d'observation

Conclusion et perspectives

La méthode mise au point au laboratoire, combinant imagerie visible et analyse d'images, est simple d'utilisation et donne des résultats répétables. Elle permet de comparer l'évolution de la croissance de pâtes différentes lors de la fermentation. Elle donne des résultats cohérents avec ceux obtenus par tomographie-RX sur ces formulations. Elle peut donc être utilisée pour interpréter les mécanismes de croissance des alvéoles comme fait lors de l'étude faite par Babin *et al.*, (2006), en particulier pour repérer le temps caractéristique qui marque le début de la coalescence des alvéoles.

Cet outil va être utilisé pour caractériser le comportement de pâtes de composition différentes, par exemple enrichies en fibres (projet AQuaNuP⁵) ou ayant été préparées suivant différents traitements de pétrissage (projet INCALIN⁶).

Le laboratoire dispose d'outils pour caractériser la structure alvéolaire et pour en comprendre l'obtention lors de la fermentation. Pour compléter, il faut appliquer la même approche à la cuisson. Nous disposons d'un four instrumenté avec une porte vitrée permettant d'envisager un suivi de la cuisson à un niveau macroscopique avec une caméra. De plus, nous avions fait quelques images de suivi de cuisson de pâte fermentée en tomographie RX, à la suite des suivis de fermentation. Les résultats obtenus aux deux échelles pourraient alors être comparés.

⁵ AQuaNuP : Amélioration de la Qualité Nutritionnelle du Pain. Coordonnateur L. Saulnier

⁶ ANR : Intégration des connaissances dans l'industrie agro-alimentaire. Coord. N. Perrot (Inra-GMPA)

Remerciements : Nous remercions Perrine Babin et l'équipe GPM2 (SIMAP-INP-Grenoble) pour leur collaboration dans le cadre du projet CANAL-SALVE. Merci aussi à Marie Huyez de ses conseils et de son aide pour la rédaction de cet article.

Bibliographie

- Babin P., Della Valle G., Chiron H., Cloetens P., Hoszowska J., Pernot P., Réguerre A.-L., Salvo L., Dendievel R. (2006) Fast X-ray tomography analysis of bubble growth and foam setting during breadmaking. Journal of Cereal Science 43: 393–397
- Devaux M.-F., Réguerre A.-L., Chiron H. et Lassoued N. (2005) Caractérisation par analyse d'images de produits céréaliers alvéolaires selon leur texture visuelle. Cah.Tech. Inra, 56 : 17-32
- Rouillé J., Della Valle G., Devaux M.-F., Marion D., Dubreil L. (2005) French bread loaf volume variations and digital image analysis of crumb grain changes induced by the minor components of wheat flour. Cereal Chem. 82: 20-27
- Shehzad A., Chiron H., Della Valle G., Novales B., Réguerre A.-L. (2008) Alvéolation et levée de pâtes lors de la panification. Journée des jeunes rhéologues, Erdeven, 26-28 mars 2008

Mise au point de protocoles d'acquisition