



# Contribution à l'étude de systèmes divisés alimentaires par observation de microstructures au cours de traitements thermo-mécaniques

Jean-Baptiste Boitte

## ► To cite this version:

Jean-Baptiste Boitte. Contribution à l'étude de systèmes divisés alimentaires par observation de microstructures au cours de traitements thermo-mécaniques. Ingénierie des aliments. AgroParisTech, 2012. Français. NNT : 2012AGPT0064 . pastel-01059705

**HAL Id: pastel-01059705**

**<https://pastel.hal.science/pastel-01059705>**

Submitted on 1 Sep 2014

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



**Doctorat ParisTech**

**T H È S E**

**pour obtenir le grade de docteur délivré par**

**l'Institut des Sciences et Industries  
du Vivant et de l'Environnement  
(AgroParisTech)**

**Spécialité : Sciences et Procédés des Aliments**

*présentée et soutenue publiquement par*

**Jean-Baptiste BOITTE**

le 19 Octobre 2012

**Contribution à l'étude de systèmes divisés alimentaires par  
observation de microstructures au cours de traitements  
thermo-mécaniques**

Directrice de thèse : **Pr. Camille MICHON**

Co-encadrement de la thèse : **Dr. Murielle HAYERT**

**Jury**

**M. Peter VAN PUYVELDE**, Professeur, K.U. Louvain Belgique

**Mme Edith PEUVREL-DISDIER**, Chargée de Recherche, CNRS, CEMEF Sophia-Antipolis

**M. Lazhar BENYAHIA**, Professeur, UMR 6283 CNRS-LUNAM, Univ. Le Mans

**Mme Marie-Françoise DEVAUX**, Ingénieur de Recherche, UMR BIA, INRA Nantes

**M. Claude VIZCAÏNO**, Directeur Général, CAD Instruments, Les Essarts-le-Roi

**Mme Murielle HAYERT**, Maître de conférence, UMR 1145, AgroParisTech Massy

**Mme Camille MICHON**, Professeur, UMR 1145, AgroParisTech Massy

Rapporteur

Rapporteur

Examineur

Examinatrice

Examineur

Co-directrice de thèse

Directrice de thèse



# Remerciements

Ce travail de doctorat a été réalisé au sein de l'UMR 1145 Ingénierie Procédés Aliments (GENIAL) à AgroParisTech Massy dans l'équipe « Structuration des Produits par le Procédé (SP2) ».

Je tiens en premier lieu à remercier Camille MICHON et Murielle HAYERT, mes directrices de thèse, de m'avoir offert l'opportunité de réaliser ce travail sous leurs ailes. Je voudrais tout particulièrement souligner leurs qualités humaines et scientifiques, tant du point de vue de l'encadrement que de l'accompagnement dans ma formation par la recherche. Leur écoute, leur patience, les nombreux échanges, leur disponibilité à toutes heures et leur confiance ont été les clés de la réussite de ce travail et je leur en suis sincèrement reconnaissant. Merci !

Ce travail n'aurait jamais pu aboutir sans la contribution et l'investissement personnel de Claude VIZCAINO et CAD Instruments. Je tiens à le remercier énormément pour tout ce qu'il m'a appris et apporté au cours de nos échanges. Sa réactivité et sa bonne humeur permanente n'ont fait que favoriser le très bon déroulement de ce travail.

Je remercie tout particulièrement Jean-Marie HERRY et Lazhar BENYAHIA pour leur collaboration scientifique au projet sans oublier leurs qualités humaines et leur accueil.

Je voudrais aussi remercier Richard ROCCA et Bertrand HEYD pour leurs apports techniques et scientifiques dans ce projet.

Je voudrais remercier chaleureusement M. Peter VAN PUYVELDE et M<sup>me</sup> Edith PEUVREL-DISDIER d'avoir accepté de rapporter ce travail de thèse ainsi que M<sup>me</sup> Marie-Françoise DE-VAUX pour sa présence au sein du jury en tant qu'examinatrice.

Je remercie Véronique BOSC et Fabrice DUCEPT de m'avoir accueilli au sein de l'équipe et de m'avoir fait confiance en m'impliquant dans la vie du laboratoire.

Un grand merci aussi à Gérard CUVELIER pour les discussions scientifiques, politiques et personnelles que nous avons eues au cours de ces 3 années et dont je me suis fortement nourri.

Je remercie TOUS les doctorants que j'ai pu côtoyer et en particulier Olesea, Cindy, Rizwan, Lucy, Anne M., Gilles, Rubie, Anne R., Delphine, Sophie, Eugénie, Julien, Marine D., Marine



M., Amélie, Cécile, Farnaz et Jérémie, pour les milliers de cafés pris ensemble, les débats et les moments partagés... Merci à vous pour votre soutien et votre présence.

Bien évidemment, je n'oublierai pas Brigitte, Anne-Marie et Gabrielle pour les franches rigolades, leur aide précieuse dans les expériences, leur efficacité au quotidien et leurs réponses à toute question posée.

Un grand merci à tous les membres de l'équipe et de l'UMR sans qui ce travail n'aurait pas pu être mené à bien. Je pense principalement à Giana, Stéphane, Sophie, Samir, Pablo, Perla, Artémio, l'équipe B2HM, Francis, Robert, Aurélien, Joël.

Je souhaite aussi remercier Michel CLOÎTRE pour l'intérêt qu'il a porté au développement de la cellule de cisaillement et sa participation à sa validation en nous fournissant un système modèle.

Un « boujou » spécial à la bande de Zaaahhh et tout particulièrement à Guiz et à Truand. . .

Je terminerai par un merci particulier à mes parents, mes beaux-parents et ma famille pour leur soutien sans faille, dans les bons comme les mauvais moments. Et bien évidemment, je dédie ce travail à celle qui m'accompagne au quotidien, Morgane. Par son soutien et ses conseils, elle a toujours su trouver les mots pour m'aider à persévérer et à accomplir cette expérience doctorale comme je le souhaitais.

---

Ce travail de thèse a fait l'objet de diverses valorisations scientifiques qui sont listées ci-dessous et dont les articles ou proceedings relatifs sont présentés en fin de manuscrit.

### **Brevet**

**Boitte J.B.**, Vizcaino C., Michon C., Hayert M., Benyahia L., Herry J.M., (2011). Cellule de cisaillement notamment pour analyser un échantillon sous microscope, **FR 11/03828**, déposé le 14 décembre 2011.

### **Articles soumis dans un journal à comité de lecture**

**Boitte J.B.**, Vizcaino C., Benyahia L., Herry J.M., Michon C. and Hayert M. (2012). A novel rheo-optical device for studying complex systems under controlled double shear plate. *Review of Scientific Instruments*. (accepté)

### **Communications orales**

**Boitte J.B.**, Hayert M. and Michon C., (2012). Confocal microscopy of bread dough under controlled thermo-mechanical treatment. *6<sup>th</sup> International Symposium on Food Rheology and Structure (ISFRS)*, Zurich, Suisse. (sans proceedings)

**Boitte J.B.**, Vizcaino C., Benyahia L., Herry J.M., Michon C. and Hayert M., (2011). Conception d'une cellule d'observation sous cisaillement : relation dynamique entre propriétés rhéologiques et structure microscopique sous contrainte. *46<sup>ème</sup> Congrès du Groupe Français de Rhéologie*, Nancy, France. (avec proceedings)

### **Poster**

**Boitte J.B.**, Vizcaino C., Benyahia L., Herry J.M., Michon C. and Hayert M., (2012). A novel rheo-optical device for studying food complex systems under controlled double plate shear. *Food Colloids 2012*, Copenhagen, Danemark.

### **Autres articles relatifs au Master 2**

**Boitte J.B.**, Benyahia L., Brambati N., Buchert A.M. and Michon C. (2012). A gelatin effect on the deformation behaviour of a single aqueous droplet surrounded by newtonian oil. *Food Hydrocolloids*. (en cours de soumission)

**Boitte J.B.**, Benyahia L., Brambati N., Buchert A.M. and Michon C. (2011). Formation et observation de bulles d'air dans des solutions de gélatine. *Rhéologie* **19**, 61-69.

---



# Table des matières

|                                                                                  |           |
|----------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Abréviations</b>                                                              | <b>9</b>  |
| <b>Nomenclature</b>                                                              | <b>11</b> |
| <b>Table des figures</b>                                                         | <b>15</b> |
| <b>Liste des tableaux</b>                                                        | <b>17</b> |
| <b>Introduction Générale</b>                                                     | <b>19</b> |
| <b>I Conception d'une cellule d'observation sous cisaillement</b>                | <b>21</b> |
| <b>1 État de l'art sur les dispositifs d'observation sous cisaillement</b>       | <b>23</b> |
| 1.1 Notions de plans d'observation et déformation . . . . .                      | 24        |
| 1.2 Les différents outils d'observation . . . . .                                | 25        |
| 1.3 Les premiers dispositifs et leur évolution (1934 - 2005) . . . . .           | 26        |
| 1.3.1 Le dispositif de cisaillement à 4 rouleaux de Taylor (1934) . . . . .      | 27        |
| 1.3.2 Le dispositif de cisaillement entre 2 bandes parallèles de Taylor (1934) . | 28        |
| 1.4 Les dispositifs en rotation (1993 - 2009) . . . . .                          | 29        |
| 1.4.1 Rhéomètres commerciaux équipés de systèmes d'observation . . . . .         | 29        |
| 1.4.2 Outils de cisaillement adaptés à des systèmes d'observation commerciaux    | 31        |

|          |                                                                                     |           |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 1.5      | Les dispositifs en translation (1996 - 2009) . . . . .                              | 33        |
| 1.6      | Dispositifs particuliers . . . . .                                                  | 35        |
| 1.7      | Conditions opératoires et applications de l'observation sous cisaillement . . . . . | 37        |
| 1.8      | Conclusion : vers les bases d'un cahier des charges . . . . .                       | 38        |
| <b>2</b> | <b>Conception d'une cellule d'observation sous cisaillement</b>                     | <b>43</b> |
| 2.1      | Objectifs - Stratégie . . . . .                                                     | 43        |
| 2.2      | Déformer par cisaillement contrôlé . . . . .                                        | 44        |
| 2.2.1    | Choix du mouvement et caractéristiques des moteurs . . . . .                        | 44        |
| 2.2.2    | Contrainte des systèmes et force des moteurs de translation . . . . .               | 46        |
| 2.2.3    | Entrefer . . . . .                                                                  | 46        |
| 2.2.4    | Champs de vitesse nulle . . . . .                                                   | 48        |
| 2.2.5    | Récapitulatif des valeurs cibles, réelles et effectives liées à la déformation      | 48        |
| 2.3      | Observer un système divisé alimentaire . . . . .                                    | 49        |
| 2.4      | Contrôler et réguler la température au sein du système observé . . . . .            | 51        |
| 2.5      | Schémas de la cellule de cisaillement . . . . .                                     | 52        |
| 2.6      | Pilotage informatique de la cellule de cisaillement . . . . .                       | 55        |
| 2.6.1    | Développement de l'interface graphique du logiciel de pilotage des moteurs          | 55        |
| 2.6.1.1  | Pilotage manuel des plateaux . . . . .                                              | 56        |
| 2.6.1.2  | Entrefer . . . . .                                                                  | 57        |
| 2.6.1.3  | Déformation . . . . .                                                               | 58        |
| 2.6.2    | Acquisition des données . . . . .                                                   | 59        |
| 2.6.3    | Contrôle et régulation de la température . . . . .                                  | 59        |
| 2.7      | Bilan de la gestion du projet . . . . .                                             | 60        |
| 2.8      | Conclusion : un dispositif opérationnel . . . . .                                   | 61        |
| <b>3</b> | <b>Validation du prototype conçu</b>                                                | <b>63</b> |
| 3.1      | Planéité et parallélisme . . . . .                                                  | 63        |
| 3.2      | Asservissement et contrôle des moteurs . . . . .                                    | 65        |
| 3.2.1    | Première configuration d'asservissement . . . . .                                   | 65        |
| 3.2.2    | Seconde configuration d'asservissement . . . . .                                    | 67        |

|                                                                                                 |                                                                                     |            |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 3.3                                                                                             | Pilotage de la température . . . . .                                                | 70         |
| 3.4                                                                                             | Premiers essais grâce à un système modèle . . . . .                                 | 72         |
| 3.5                                                                                             | Conclusion : un dispositif fonctionnel . . . . .                                    | 74         |
| <br><b>II Microstructures de pâtes de farine sous contraintes thermo-mécaniques</b>             |                                                                                     | <b>75</b>  |
| <br><b>1 État de l'art sur les pâtes de farine : microstructures et propriétés rhéologiques</b> |                                                                                     | <b>79</b>  |
| 1.1                                                                                             | Pâte de farine : définition, formulation et fabrication . . . . .                   | 79         |
| 1.2                                                                                             | Caractérisation rhéologique . . . . .                                               | 81         |
| 1.3                                                                                             | Microscopie confocale : principe et application aux systèmes alimentaires . . . . . | 85         |
| 1.3.1                                                                                           | Principe de la microscopie confocale à balayage laser (MCBL) . . . . .              | 85         |
| 1.3.2                                                                                           | Observation de systèmes alimentaires par MCBL . . . . .                             | 86         |
| 1.4                                                                                             | Relations propriétés-structures dans les pâtes céréalières . . . . .                | 89         |
| 1.5                                                                                             | Quantification de microstructures alimentaires par analyse d'images . . . . .       | 90         |
| <br><b>2 Matériels et méthodes</b>                                                              |                                                                                     | <b>95</b>  |
| 2.1                                                                                             | Formulation et préparation des pâtes de farine . . . . .                            | 95         |
| 2.1.1                                                                                           | Marquage des différents ingrédients . . . . .                                       | 95         |
| 2.1.2                                                                                           | Préparation des pâtes à pain . . . . .                                              | 96         |
| 2.2                                                                                             | Caractérisation rhéologique des échantillons par LSF . . . . .                      | 96         |
| 2.3                                                                                             | Observation sous contraintes . . . . .                                              | 97         |
| 2.3.1                                                                                           | Équilibre entre conditions opératoires mécaniques et optiques . . . . .             | 97         |
| 2.3.2                                                                                           | Conditions opératoires choisies . . . . .                                           | 99         |
| 2.4                                                                                             | Morphologie mathématique et analyse en composantes principales (ACP) . . . . .      | 100        |
| <br><b>3 Résultats et Discussion</b>                                                            |                                                                                     | <b>103</b> |
| 3.1                                                                                             | Caractérisation rhéologique . . . . .                                               | 103        |
| 3.2                                                                                             | Observations d'une pâte de farine sous traitement thermique . . . . .               | 104        |
| 3.3                                                                                             | Observations de pâtes de farine sous contraintes mécaniques . . . . .               | 107        |
| 3.3.1                                                                                           | Microstructures initiales en fonction de la composition . . . . .                   | 107        |
| 3.3.1.1                                                                                         | Effet de la teneur en eau . . . . .                                                 | 107        |

---

|          |                                                                                                          |            |
|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 3.3.1.2  | Effet de la teneur en saccharose . . . . .                                                               | 108        |
| 3.3.2    | Microstructures sous contraintes mécaniques . . . . .                                                    | 109        |
| 3.3.2.1  | Effet de la teneur en eau . . . . .                                                                      | 109        |
| 3.3.2.2  | Effet de la teneur en saccharose . . . . .                                                               | 110        |
| 3.3.3    | Vers une quantification des microstructures et de leur évolution au cours<br>de la déformation . . . . . | 114        |
| 3.3.3.1  | Effet de la déformation . . . . .                                                                        | 116        |
| 3.3.3.2  | Effet de la teneur en eau . . . . .                                                                      | 118        |
| 3.3.3.3  | Effet de la teneur en saccharose . . . . .                                                               | 120        |
| <b>4</b> | <b>Conclusions sur l'observation de pâtes de farine sous contraintes</b>                                 | <b>123</b> |
|          | <b>Conclusion Générale - Perspectives</b>                                                                | <b>125</b> |
|          | <b>Bibliographie</b>                                                                                     | <b>128</b> |
|          | <b>Annexes</b>                                                                                           | <b>137</b> |
| A        | Détails financiers de la conception du RheOptiCAD® . . . . .                                             | 137        |
|          | <b>Valorisations scientifiques - Publications</b>                                                        | <b>141</b> |

---

# Abréviations

|         |                                                                             |
|---------|-----------------------------------------------------------------------------|
| ACI     | Analyse en Composante Indépendante                                          |
| ACP     | Analyse en Composante Principale                                            |
| Ar      | Argon (laser)                                                               |
| CCD     | Caméra (Couple Charge Device)                                               |
| DLS/DWS | Diffusion dynamique de la lumière (Diffusion Light/Wave Spectroscopy)       |
| DMSO    | DiMéthylSulfOxyde                                                           |
| EFLM    | Microscopie photonique à épifluorescence (EpiFluorescence Light Microscopy) |
| He/Ne   | Helium/Néon (laser)                                                         |
| HPC     | HydroxyPropylCellulose                                                      |
| LSF     | Compression en conditions lubrifiées (Lubricated Squeezing Flow)            |
| MCBL    | Microscopie Confocale à Balayage Laser                                      |
| O.N.    | Ouverture Numérique                                                         |
| PDMS    | PolyDiMethylSiloxane                                                        |
| PIB     | PolyIsoButène                                                               |
| PID     | Proportionnel Intégral Dérivé                                               |
| PMMA    | PolyMethylMethacrylate                                                      |
| PMT     | PhotoMultiplieur Tube                                                       |
| SAXS    | Diffraction de la lumière aux petits angles (Small Angle X-ray Scattering)  |
| TCL     | Tool Command Language                                                       |
| ZVP     | Champ de vitesse nulle (Zero Velocity Plane)                                |





# Nomenclature

|                    |                                                     |
|--------------------|-----------------------------------------------------|
| $A$                | Amplitude (mm ou $\mu\text{m}$ )                    |
| $\sigma$           | Contrainte (Pa)                                     |
| $e$                | Entrefer (mm)                                       |
| $\gamma$           | Déformation                                         |
| $\epsilon_b$       | Déformation en extension biaxiale                   |
| $f$                | Fréquence (Hz)                                      |
| $F_N$              | Force normale (N)                                   |
| $L_0$              | Hauteur initiale du cylindre de pâte (mm)           |
| $L(t)$             | Hauteur du cylindre de pâte à l'instant $t$ (mm)    |
| ips                | Images par seconde                                  |
| $K$                | Indice de consistance                               |
| $R_0$              | Rayon initial du cylindre de pâte (mm)              |
| $R(t)$             | Rayon du cylindre de pâte à l'instant $t$ (mm)      |
| rpm                | Rotation par minute                                 |
| $S(t)$             | Surface à l'instant $t$ ( $\text{mm}^2$ )           |
| $T$                | Température ( $^{\circ}\text{C}$ )                  |
| $t$                | Temps (s)                                           |
| $\eta_{app}$       | Viscosité apparente ( $\text{Pa.s}$ )               |
| $\dot{\gamma}$     | Vitesse de cisaillement ( $\text{s}^{-1}$ )         |
| $\dot{\epsilon}_b$ | Vitesse d'extension biaxiale ( $\text{s}^{-1}$ )    |
| $V_{inf}$          | Vitesse du plateau inférieur ( $\text{mm.s}^{-1}$ ) |
| $V_{sup}$          | Vitesse du plateau supérieur ( $\text{mm.s}^{-1}$ ) |
| $\omega$           | Vitesse angulaire ( $\text{rad.s}^{-1}$ )           |



# Table des figures

|    |                                                                           |    |
|----|---------------------------------------------------------------------------|----|
| 1  | Plans d'observation d'un objet soumis à une déformation . . . . .         | 25 |
| 2  | Schéma de principe de la notion de champ de vitesse nulle . . . . .       | 25 |
| 3  | Dispositif à 4 rouleaux (Taylor, 1934) . . . . .                          | 27 |
| 4  | Dispositif en translation (Taylor, 1934) . . . . .                        | 28 |
| 5  | Dispositif de Birkhofer (2005) . . . . .                                  | 29 |
| 6  | Dispositif de Nicolas et Paques (2003) . . . . .                          | 30 |
| 7  | Dispositif de Baravian (2001) . . . . .                                   | 30 |
| 8  | « Confocal rheoscope » de Besseling (2009) . . . . .                      | 31 |
| 9  | Dispositif de Comas-Cardona (2001) . . . . .                              | 32 |
| 10 | Dispositif de Mighri (2001) . . . . .                                     | 32 |
| 11 | La cellule Linkam® . . . . .                                              | 33 |
| 12 | Dispositif de Yamane (1998) . . . . .                                     | 34 |
| 13 | Dispositif de Guido et Villonne (1998) . . . . .                          | 34 |
| 14 | Dispositif de Wu (2007) . . . . .                                         | 35 |
| 15 | Dispositif de Noetinger (1987) . . . . .                                  | 36 |
| 16 | Compression-observation de Nicolas et Paques (2003) . . . . .             | 36 |
| 17 | Platine linéaire motorisée FB-075 . . . . .                               | 45 |
| 18 | Niveaux de contrainte en fonction de la vitesse de cisaillement . . . . . | 46 |
| 19 | Plateaux inférieur, supérieur et entrefer . . . . .                       | 48 |
| 20 | Lien entre ZVP et distance de travail de l'objectif . . . . .             | 50 |

|    |                                                                                                     |    |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 21 | Vue de dessous du plateau inférieur et dimensions caractéristiques . . . . .                        | 51 |
| 22 | Différents éléments du contrôle thermique . . . . .                                                 | 52 |
| 23 | Photographie de la cellule de cisaillement placé sur le microscope confocal . . .                   | 53 |
| 24 | Séquence d'images 3D de la cellule de cisaillement . . . . .                                        | 54 |
| 25 | Schéma fonctionnel du système de pilotage de la cellule . . . . .                                   | 55 |
| 26 | Évolution globale de l'interface graphique du logiciel de pilotage des moteurs .                    | 56 |
| 27 | Fonctions de positionnement manuel des plateaux . . . . .                                           | 57 |
| 28 | Exemple de modification des bornes de déplacement de chaque plateau . . . .                         | 57 |
| 29 | Fonctions de pilotage de l'entrefer . . . . .                                                       | 57 |
| 30 | Exemple de déformations possibles avec la cellule d'observation sous cisaillement                   | 58 |
| 31 | Fonctions et modes de déplacement des plateaux . . . . .                                            | 59 |
| 32 | Capture d'écran d'un fichier résultant d'un essai . . . . .                                         | 60 |
| 33 | Validation de la planéité et du parallélisme par méthode optique . . . . .                          | 64 |
| 34 | Position en $z$ de chacun des plateaux en fonction de leur position en $x$ . . . .                  | 65 |
| 35 | Comparaison des courbes de saut-relaxation pour les 2 configurations de gains .                     | 66 |
| 36 | Comparaison des courbes de saut-relaxation - Zoom 0-0.02 s . . . . .                                | 67 |
| 37 | Comparaison des courbes de déformations continues . . . . .                                         | 68 |
| 38 | Comparaison des oscillations en fonction de la configuration des moteurs . . . .                    | 69 |
| 39 | Positionnement des plateaux en fonction de la fréquence d'oscillation . . . .                       | 70 |
| 40 | Profil de régulation de température - Superposition de 2 essais . . . . .                           | 71 |
| 41 | Profil de température et calibration grâce à une huile PDMS . . . . .                               | 72 |
| 42 | Images dans le plan vitesse - gradient pour différents ratios . . . . .                             | 73 |
| 43 | Exemple d'un microgel soumis à une oscillation . . . . .                                            | 74 |
| 44 | Exemple d'une pâte à pain à l'échelle macroscopique et microscopique . . . .                        | 80 |
| 45 | Schéma de principe de la compression en conditions lubrifiées . . . . .                             | 82 |
| 46 | Viscosité apparente des pâtes de farine en fonction de la déformation (Lassoued,<br>2005) . . . . . | 84 |
| 47 | Exemple d'images obtenues par microscopie confocale de pâtes de farine . . . .                      | 84 |
| 48 | Schéma de principe simplifié d'un MCBL . . . . .                                                    | 85 |

---

|    |                                                                                                                    |     |
|----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 49 | Spectres d'émission du Bodipy 665 et de la Rhodamine B . . . . .                                                   | 86  |
| 50 | Exemples de systèmes alimentaires observés par MCBL . . . . .                                                      | 87  |
| 51 | Influence de cycles de congélation/décongélation sur le réseau de gluten . . . . .                                 | 88  |
| 52 | Images par ESEM de pâtes à pain à différents temps de pétrissage . . . . .                                         | 90  |
| 53 | Schéma de principe du prototype développé par Peighambardoust . . . . .                                            | 91  |
| 54 | Série d'images obtenues par microscopie confocale de pâtes de farine en fonction de la composition . . . . .       | 92  |
| 55 | Carte de classement de mies de pain (Lassoued, 2005) . . . . .                                                     | 93  |
| 56 | Représentation schématique des différentes pâtes de farine étudiées . . . . .                                      | 96  |
| 57 | Exemple de l'évolution d'une image traitée par morphologie mathématique . . .                                      | 101 |
| 58 | Exemple de courbes obtenues par morphologie mathématique . . . . .                                                 | 102 |
| 59 | Viscosité apparente des pâtes de farine en fonction de leur composition . . . . .                                  | 103 |
| 60 | Évolution d'une bulle d'air au cours du temps à $T = 45^{\circ}\text{C}$ . . . . .                                 | 105 |
| 61 | Dernière image refocalisée d'une pâte de farine maintenue à $45^{\circ}\text{C}$ . . . . .                         | 105 |
| 62 | Séquence d'images d'une pâte de farine soumise à un traitement thermo-mécanique . . . . .                          | 106 |
| 63 | Microstructures de pâtes de farine avant déformation en fonction de la teneur en eau et/ou en saccharose . . . . . | 108 |
| 64 | Séquences d'images de pâtes à teneur en eau variable en fonction de la déformation imposée . . . . .               | 112 |
| 65 | Séquences d'images de pâtes à teneur en saccharose variable en fonction de la déformation imposée . . . . .        | 113 |
| 66 | Courbes obtenues par morphologie mathématique sur les images initiales . . . . .                                   | 114 |
| 67 | Carte ACP générale obtenue après morphologie mathématique . . . . .                                                | 115 |
| 68 | Carte ACP des images en fonction de leur composition et de la déformation . . .                                    | 117 |
| 69 | Carte ACP des images en fonction de la teneur en eau . . . . .                                                     | 119 |
| 70 | Carte ACP des images en fonction de la teneur en saccharose . . . . .                                              | 121 |

---



# Liste des tableaux

|   |                                                                                                                                                   |    |
|---|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1 | Tableau récapitulatif des différents systèmes d'observation sous cisaillement existants développés entre 1934 et 2009 . . . . .                   | 39 |
| 2 | Comparaison entre les valeurs cibles, réelles et effectives des paramètres de déformation de la cellule d'observation sous cisaillement . . . . . | 49 |
| 3 | Récapitulatif des dépenses engendrées pour la conception de la cellule d'observation sous cisaillement . . . . .                                  | 61 |
| 4 | Composition des différentes pâtes de farine étudiées . . . . .                                                                                    | 95 |





# Introduction Générale

Les fluides complexes, comme les gels, les pâtes, les mousses ou encore les émulsions, sont omniprésents dans notre vie quotidienne. Ces fluides possèdent une microstructure, c'est-à-dire une organisation de leurs différents éléments à une échelle non-observable à l'œil nu et jusqu'au nanomètre (nm). Par ailleurs, ces fluides sont caractérisés par l'existence d'une échelle de taille caractéristique dite « mésoscopique ». Cette « mésostructure », microstructure d'un système à l'échelle mésoscopique, s'illustre par exemple par l'existence de gouttelettes dans une émulsion ou la présence d'un réseau tridimensionnel structuré comme dans le cas des gels ou des pâtes. Ces éléments, de taille comprise entre la dizaine de micromètres ( $\mu\text{m}$ ) et le millimètre (mm), confèrent souvent au fluide des propriétés viscoélastiques et fortement non-newtoniennes. Par ailleurs, les paramètres thermo-mécaniques jouent un rôle prépondérant dans la structuration de systèmes multiphasiques et sont rarement pris en compte dans l'observation de ces systèmes. Que ce soit au cours de leur fabrication (construction de la structure) ou de leur déconstruction (consommation, utilisation dans d'autres produits), les produits alimentaires subissent de nombreux traitements thermo-mécaniques. Comprendre l'évolution de la mésostructure au cours de la transformation du produit est particulièrement intéressant pour optimiser les recettes et les procédés de transformation.

L'étude de systèmes complexes alimentaires ou non-alimentaires passe par une approche multiéchelles liant à la fois caractérisation rhéologique et observation des structures. Les propriétés rhéologiques du système sont très souvent étudiées à une échelle dite macroscopique et sont souvent considérées comme des mesures pertinentes mais « boîte noire ». À l'inverse, grâce à de nombreux outils, l'observation peut s'effectuer à toutes les échelles : atomique et moléculaire par la microscopie électronique, au niveau de la dizaine de microns grâce à la microscopie photonique et sa dérivée confocale ou encore macroscopique grâce à des caméras numériques munies de zooms par exemple. Néanmoins, les échantillons sont prélevés à un moment donné de l'histoire du produit puis observés en statique avec toutes les questions qui se posent en termes d'artéfacts entre le produit observé et la réalité avant prélèvement et préparation. Des auteurs se sont intéressés à ces liens et ont développé des outils couplant observation et cisaillement. À notre connaissance, aucun outil permet de réunir l'ensemble des fonctions nécessaires à l'observation sous cisaillement d'objets d'une taille caractéristique de

l'ordre du  $\mu\text{m}$  à quelques dizaines de  $\mu\text{m}$ , tout en distinguant différents constituants (réseau de protéines, gouttelettes de lipides, grains d'amidon) et le cas échéant en lui appliquant une histoire thermique précise. Actuellement, les corrélations entre les 2 types d'études ne permettent pas de comprendre les liens entre les propriétés rhéologiques et les structures microscopiques.

L'objectif de ce travail de thèse, réalisé au sein de l'équipe « Structuration des Produits par le Procédé » de l'UMR 1145 Ingénierie Procédés Aliments (AgroParisTech-INRA-CNAM), était de concevoir et valider sur un produit bien connu de l'équipe (les pâtes de farine), un nouveau dispositif d'observation sous cisaillement permettant de coupler rhéologie et observation microscopique tout en maîtrisant les paramètres thermo-mécaniques. Cet outil devait permettre de déformer de façon contrôlée les systèmes étudiés tout en les observant à l'aide du microscope confocal à balayage laser existant. Il devait également être simple d'utilisation, facilement transportable et adaptable de façon à permettre son utilisation par plusieurs utilisateurs en limitant l'étape de formation, caractéristique clé pour son développement et la pérennité de son utilisation dans un laboratoire de recherche universitaire ou privé. Enfin, son développement devait tenir compte d'une enveloppe financière limitée (60 k€).

Le présent manuscrit se découpe en 2 parties suivies d'une conclusion générale. Dans une première partie, nous présentons la conception de la cellule d'observation sous cisaillement comprenant, dans un premier chapitre, un état de l'art avec la description de quelques dispositifs d'observation sous cisaillement existants nous ayant conduit à la rédaction d'un cahier des charges détaillé de la cellule et des solutions techniques envisagées. Ce cahier des charges et les solutions choisies et mises en œuvre pour concevoir et piloter le prototype sont abordés dans le chapitre deux, avant de décrire dans un troisième chapitre, les étapes de validation du fonctionnement de la cellule de cisaillement conçue. Dans une deuxième partie est détaillée une application d'observation sous contraintes thermo-mécaniques des pâtes de farine. Après avoir réalisé, dans un premier chapitre, un état de l'art sur la pâte de farine et les études mettant en évidence les liens déjà établis entre propriétés rhéologiques et microstructures, un deuxième chapitre décrit les matériels et méthodes utilisés dans ce travail en détaillant plus particulièrement les méthodes relatives à l'observation sous cisaillement. Cette deuxième partie est complétée, avant de conclure, par un chapitre décrivant et discutant les résultats obtenus.

---

## **Première partie**

# **Conception d'une cellule d'observation sous cisaillement**



## Chapitre 1

# État de l'art sur les dispositifs d'observation sous cisaillement

La rhéométrie optique ou rhéo-optique est la science de la rhéométrie par l'utilisation de méthodes optiques. Un rhéologue peut donc exploiter les changements optiques de la structure d'un matériau sous déformation pour mesurer de façon quantitative ses propriétés rhéologiques ou utiliser des méthodes optiques pour interpréter du point de vue qualitatif son comportement rhéologique en termes de microstructure. Selon Wagner (1998), la rhéo-optique repose sur le principe qu'à une échelle micromécanique, les propriétés rhéologiques sont le résultat de la déformation d'un matériau et que cette déformation présente une signature optique. Le développement des multiples techniques d'observation sous contraintes jusqu'à 1998 est résumé par Fuller (1997) pour la rhéo-optique 2D et par Wagner (1998) pour la rhéo-optique 3D. Depuis la fin des années 90, le développement des techniques de rhéo-optique est fortement lié au développement conjugué d'outils de rhéologie et d'observation. Plus récemment, van der Linden *et al.* (2003) répertorient les dispositifs développés au début des années 2000, aussi bien dans le domaine alimentaire que non-alimentaire. Il en ressort 2 grandes tendances dans les dispositifs développés au cours de ces dernières années :

- le développement d'un dispositif d'observation adapté à un outil de déformation existant ou commercial
- le développement d'un dispositif de cisaillement adapté à un outil d'observation existant ou commercial

Dans les 2 cas, on retrouve des systèmes de cisaillement par rotation (Taylor, 1934; Noetinger *et al.*, 1987; Levitt *et al.*, 1996; Tsakalos *et al.*, 1998; Bower *et al.*, 1999; Comas-Cardona et Tucker, 2001; Hamberg *et al.*, 2001; Baravian *et al.*, 2001; Mighri et Huneault, 2001; Wannaborworn *et al.*, 2002; Deyrail et Cassagnau, 2004; Tolpekin *et al.*, 2004; Assighaou et Benyahia, 2007; Besseling *et al.*, 2009) ou par translation (Taylor, 1934; Mather *et al.*, 1996;

Guido et Villone, 1998; Yamane *et al.*, 1998; Nicolas et Paques, 2003; Varadan et Solomon, 2003; Birkhofer *et al.*, 2005; Wu *et al.*, 2007; Besseling *et al.*, 2009). Les différents dispositifs développés montrent la diversité des méthodes d'observation et de cisaillement connues. Ils permettent aussi de suivre l'évolution des techniques d'observation depuis la caméra (Taylor, 1934; Levitt *et al.*, 1996; Comas-Cardona et Tucker, 2001; Mighri et Huneault, 2001) jusqu'à la microscopie confocale (Besseling *et al.*, 2009; Nicolas et Paques, 2003; Varadan et Solomon, 2003; Wu *et al.*, 2007) en passant par les outils de diffraction laser (Noetinger *et al.*, 1987; Baravian *et al.*, 2001; Nicolas et Paques, 2003; van Puyvelde *et al.*, 1998).

Au regard du nombre de cellules développées, il semblerait que la seconde solution soit la plus réalisable. En effet, il est facile de comprendre que le développement d'un outil mécanique (cisaillement) est plus simple, rapide, précis et économique que son homologue optique. Néanmoins, les appareils commerciaux tels que les rhéomètres permettent d'atteindre des niveaux de précision très fins, particulièrement dans le domaine des petites déformations et des essais en régime harmonique. Il est donc tentant de vouloir les utiliser et adapter une méthode d'observation pour effectuer à la fois des observations de structures et des mesures rhéologiques.

Après avoir défini quelques notions sur le lien entre plan d'observation et déformation, un état des lieux présente dans ce chapitre divers dispositifs d'observation sous cisaillement développés depuis 1934 jusqu'à nos jours, pour ce qui est connu ou publié, en se concentrant principalement sur le couplage outil mécanique-outil optique et sur les conditions opératoires et applications des dispositifs développés.

## 1.1 Notions de plans d'observation et déformation

La rhéo-optique a principalement été utilisée pour étudier le phénomène de relaxation d'un objet, par exemple une goutte, dans une matrice. Dans ces conditions, il est important de connaître son champ d'observation pour savoir quelle information obtenir. Considérons une goutte d'huile soumise à une déformation entre 2 plateaux contra-rotatifs. Cette goutte, sphérique à l'état d'équilibre, va prendre une forme ellipsoïdale au cours de la déformation. Le positionnement de l'outil d'observation fournit des informations partielles sur l'évolution de ses dimensions au cours de sa relaxation. Les 3 axes définissant le repère de la goutte sont : la vitesse ( $x$ ), la vorticité ( $y$ ) et le gradient de vitesse ( $z$ ) (Figure 1).

Une information complète sur le phénomène de relaxation d'une goutte nécessite le positionnement orthogonal de 2 outils d'observation. Dans tout dispositif rhéo-optique, il est indispensable de connaître la direction de l'observation car elle détermine les informations résultantes.

Par ailleurs, la notion de champ de vitesse nulle peut être introduite. L'objectif de l'observation sous cisaillement est de suivre l'évolution d'un objet ou d'une région d'intérêt dans un échantillon au cours du temps ou dans l'espace. Le cisaillement impose par définition un déplacement de l'échantillon et donc sa disparition du champ d'observation. Il est donc nécessaire

---

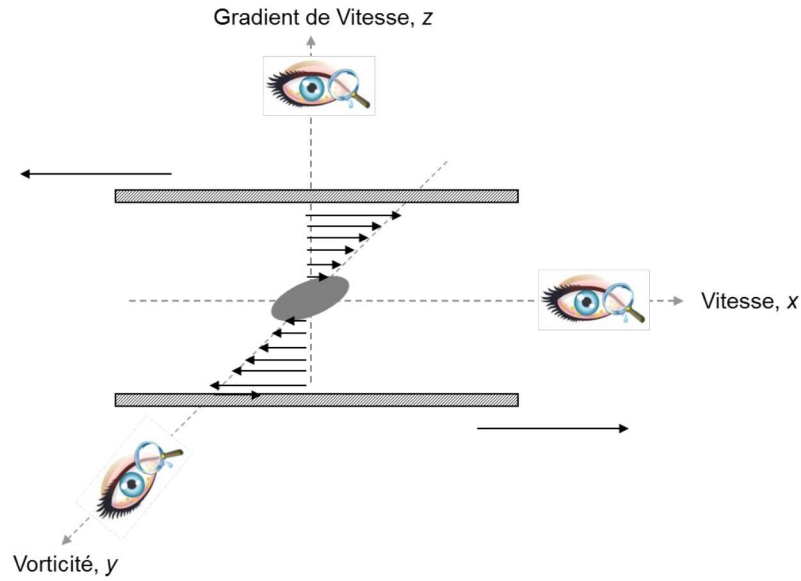


Figure 1 – Plans d'observation d'un objet soumis à une déformation

de pouvoir déformer un objet tout en le conservant dans ce champ d'observation. Pour cela, soit on limite les déformations à la taille de la fenêtre d'observation, soit on génère un champ de vitesse nulle (Zero Velocity Plane, ZVP) par mouvement des plateaux en sens opposé. La figure 2 illustre cette notion.

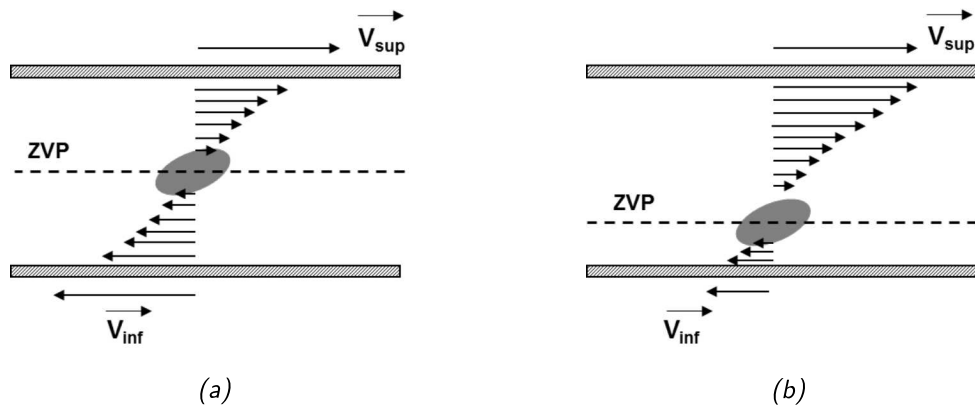


Figure 2 – Schéma de principe de la notion de champ de vitesse nulle  
(a) ZVP au centre de l'entrefer ( $V_{inf} = V_{sup}$ ); (b) ZVP plus proche du plan inférieur ( $V_{inf} \ll V_{sup}$ )

## 1.2 Les différents outils d'observation

Depuis les premiers dispositifs développés utilisant une caméra munie d'un zoom (Taylor, 1934), on retrouve quasiment toutes les techniques d'imageries existantes et leurs évolutions technologiques. Le choix de l'outil dépend de l'échelle d'observation souhaitée par l'auteur. La plupart des études rhéo-optiques s'effectue grâce à des outils d'observation fournissant des images (au sens de la photographie) d'une structure et de son évolution au cours d'une déformation.



Des techniques d'analyse d'images permettent ensuite de quantifier les phénomènes observés. Nombreux sont les auteurs qui ont utilisés des caméras couplées à des zooms pour observer des gouttes ou des mélanges immiscibles soumis à un cisaillement (par exemple, Bentley et Leal (1986); Levitt *et al.* (1996); Tolpekin *et al.* (2004)). L'utilisation de microscopes photoniques est devenue plus répandue à partir des années 1980 et a permis d'aller observer à une échelle plus petite (par exemple, Noetinger *et al.* (1987); Mather *et al.* (1996); Bower *et al.* (1999). Grâce au couplage du microscope avec une caméra numérique, les auteurs ont amélioré les performances d'acquisition et de résolution des images (par exemple, Yamane *et al.* (1998); Astruc (2001)). Développée dans les années 1990, la microscopie confocale, basée sur la fluorescence, autorise l'observation d'un échantillon non transparent, de plusieurs phases d'un même échantillon ou une acquisition dans l'espace et dans le temps. Depuis les années 2000, son utilisation dans divers systèmes rhéo-optiques a permis des reconstructions en 3D de microstructures d'échantillons soumis à des contraintes mécaniques (par exemple, Hamberg *et al.* (2001); Varadan et Solomon (2003); Besseling *et al.* (2009)).

D'autres auteurs, moins nombreux (Rusu *et al.* (1999); Baravian *et al.* (2001); Nicolas et Paques (2003)), se sont concentrés sur des phénomènes physiques plus précis grâce à des dispositifs couplés à des techniques de diffraction ou diffusion de la lumière (SAXS, DWS). Les taches de diffraction ou de rétro-diffusion de la lumière obtenues permettent, par exemple, de mettre en évidence l'anisotropie d'un échantillon ou les dynamiques de diffusion de particules à des interfaces.

Les outils d'observation utilisés sont représentatifs de la taille des objets actuellement étudiés par rhéo-optique. La gamme d'échelle accessible par cette technique, couplant simultanément déformation et observation, se situe entre  $10^{-6}$  et  $10^{-3}$  m. Cette gamme correspond à ce que l'on appelle communément l'échelle micro/mésoscopique. Enfin, il est intéressant de noter, qu'à notre connaissance, aucun dispositif d'observation sous cisaillement n'utilise les techniques de microscopie électronique. Les conditions très particulières de préparation d'échantillon et d'utilisation des microscopes électroniques semblent être limitantes au développement d'outils mécaniques adaptés.

Ces deux notions (plans et outils d'observation) sont les points de départ de toute observation sous cisaillement. Quelle information souhaite-on obtenir ? Comment positionner ses outils de cisaillement et d'observation ? Les paragraphes suivants s'attarderont à décrire quelques exemples d'outils d'observation sous cisaillement qui nous ont guidés par leurs avantages ou inconvénients dans le développement de notre propre dispositif. Le tableau 1 (p. 39) récapitule l'ensemble des dispositifs étudiés, leur principe et leurs conditions opératoires.

### **1.3 Les premiers dispositifs et leur évolution (1934 - 2005)**

Pionnier dans l'observation d'un objet dans une matrice sous déformation, Taylor (1934) a mis au point 2 dispositifs ingénieux, différenciant la translation de la rotation, et tenant compte de

---

la notion de plan de vitesse nulle (ZVP). Il fournit dans cet article (Taylor, 1934), une étude théorique et pratique du processus de rupture d'une goutte dans un champ de cisaillement.

### 1.3.1 Le dispositif de cisaillement à 4 rouleaux de Taylor (1934)

Dans le dispositif à 4 rouleaux, les 4 éléments rotatifs sont maintenus par 2 axes poulie avec engrenages et plongés dans un bac transparent rempli d'un fluide visqueux (sirop de glucose) par un trou percé dans l'une des parois du bac (Figure 3). Les 4 rouleaux sont entraînés à vitesse constante en sens opposé et leurs rotations génèrent un champ de déformation à l'intérieur du fluide. Le mouvement des rouleaux permet de contrôler la position d'une goutte d'huile. Le contrôle du sens et de la vitesse de chacun des rouleaux autorise différents modes d'écoulement (cisaillement, élongation, relaxation). L'observation s'effectue à l'aide d'une lampe et d'une caméra munie d'un grossissement  $\times 2.5$ , ce qui permet d'observer la déformation puis la relaxation d'une goutte d'un diamètre de l'ordre du mm.

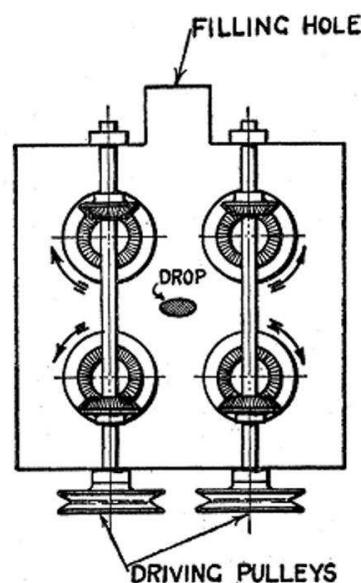


Figure 3 – Dispositif à 4 rouleaux (Taylor, 1934)

L'asservissement simultané des moteurs entraînant les 4 rouleaux reste le point difficile de ce dispositif. L'obtention d'un champ de déformation contrôlée n'est pas assuré pour des fluides de trop fortes viscosités. Le principe d'utiliser 4 moulins plongés dans une matrice visqueuse et d'observer en son centre a été repris par Bentley et Leal (1986) puis Hamberg *et al.* (2001). Le système de cisaillement a évolué en termes de matériaux et de pilotage des moteurs, donc du contrôle de la déformation par l'intermédiaire d'un asservissement et d'un pilotage des moteurs plus précis.

### 1.3.2 Le dispositif de cisaillement entre 2 bandes parallèles de Taylor (1934)

Dans la même publication, Taylor (1934) décrit une série de travaux utilisant un autre dispositif d'observation. Ce dernier est composé de 4 poulies qui entraînent 2 films de pellicules photos, chacun tendu entre 2 engrenages (Figure 4). Ceux-ci, contrôlés et mis en mouvement opposé grâce à des moteurs, permettent de créer 2 bandes parallèles. Ce mécanisme est plongé dans un bac rempli d'un fluide visqueux (sirop de glucose) constituant la matrice. Une goutte d'un autre fluide (huile) est déposée entre les bandes. Les rouleaux mis en rotation entraînent la déformation de la goutte. L'observation s'effectue dans le plan du gradient de vitesse à l'aide d'une caméra munie d'un zoom.

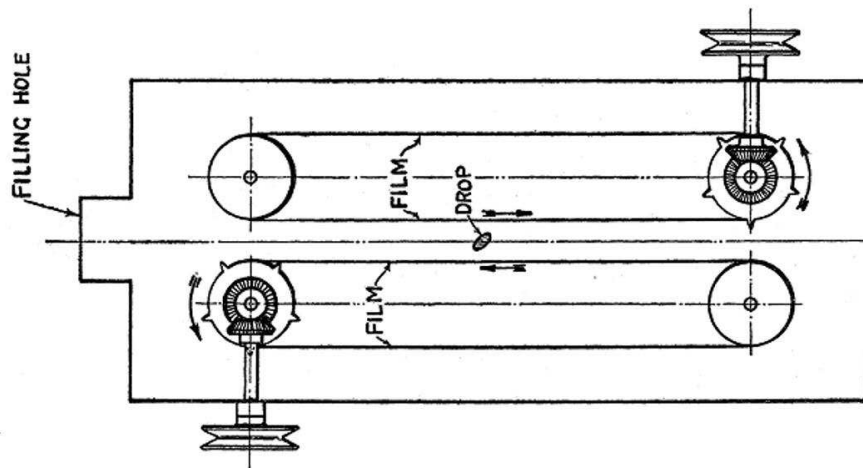


Figure 4 – Dispositif en translation (Taylor, 1934)

Ce dispositif présente des limites pour des gouttes de fortes viscosités. Les perturbations de l'écoulement autour de la goutte génèrent des contraintes normales importantes, ce qui déforme les films celluloides. Birkhofer *et al.* (2005) se sont inspirés de ce second outil conçu par Taylor, en l'optimisant considérablement. Cette nouvelle cellule de cisaillement est constituée de 2 bandes métalliques entraînées par une série de rouleaux. Un système de tension à ressorts permet d'éviter toute déformation des bandes lors du cisaillement (Figure 5). L'acquisition d'images s'effectue à l'aide de 2 caméras CCD et d'un ordinateur. L'utilisation de 2 caméras positionnées orthogonalement permet d'obtenir une information complète (axes  $a$ ,  $b$  et  $c$  d'un ellipsoïde). La phase continue peut être thermostatée par circulation de fluide.

Taylor a donc permis à de nombreux scientifiques de poser les bases de l'observation dynamique d'une matrice ou d'un objet dans cette matrice au cours de sa déformation. Tous se sont inspirés de ses travaux pour développer de nouveaux dispositifs d'observation où la déformation appliquée est transmise soit par un mouvement de rotation, soit par un mouvement de translation.

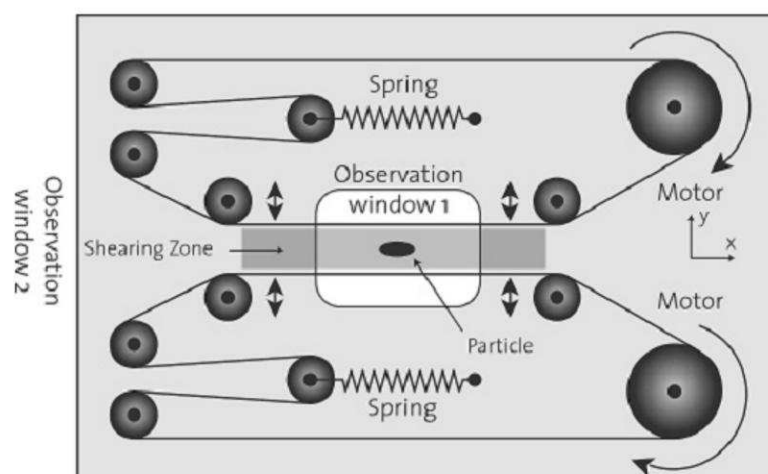


Figure 5 – Dispositif de Birkhofer (2005)

## 1.4 Les dispositifs en rotation (1993 - 2009)

### 1.4.1 Rhéomètres commerciaux équipés de systèmes d'observation

Les rhéomètres sont des outils performants et précis permettant la déformation des matériaux. Ils permettent de mesurer soit une contrainte soit une déformation, respectivement résultante d'une déformation ou d'une contrainte imposée. De plus, les outils commerciaux, en fonction des modèles, offrent la possibilité de travailler aux petites ou grandes déformations, de façon linéaire ou harmonique tout en possédant des capacités élevées de contrôle thermique grâce au dispositif Peltier, dont ils sont souvent équipés. Il est donc logique de tenter de les utiliser pour l'observation de matrices déformées. Il s'agit pour la plupart d'adapter des outils ou géométries transparentes permettant la visualisation de la déformation. À partir d'un Instron 3250 (Instron International Ltd, Belgique) et d'une géométrie cône-plan transparente, Tsakalos *et al.* (1998) ont observé le cisaillement de gouttes d'hydroxypropylcellulose (HPC) dans du polydiméthylsiloxane (PDMS). L'acquisition des images a été effectuée grâce à un microscope optique couplé à une caméra CCD. Plus récemment, Nicolas et Paques (2003) ont adapté la même géométrie sur un microscope confocal (Figure 6).

L'utilisation d'une géométrie plan-plan transparente a été décrite par Baravian *et al.* (2001). Le dispositif (Figure 7), monté sur un rhéomètre AR1000 (TA Instruments, États-Unis), permet à la fois d'effectuer des mesures rhéologiques et de visualiser la tache de rétro-diffusion résultant de l'interaction du milieu avec une source lumineuse ponctuelle (faisceau laser). De même, pour étudier l'effet de l'élasticité sur la rupture de goutte, Mighri et Huneault (2001) ont adapté 2 plans parallèles et transparents sur un rhéogoniomètre de Weissenberg.

Plus récemment, pour effectuer des observations sous écoulement par microscopie confocale simultanément à des mesures rhéologiques, Besseling *et al.* (2009) ont développé le « confocal

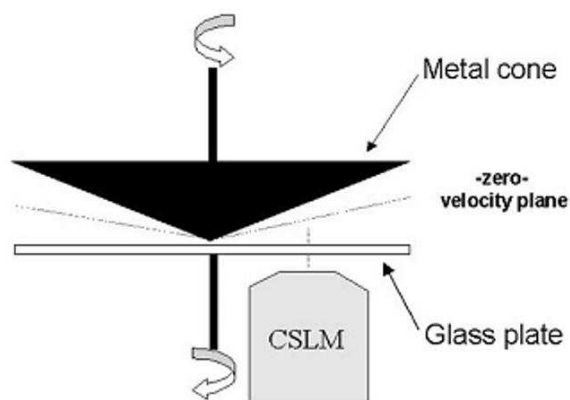


Figure 6 – Dispositif de Nicolas et Paques (2003)

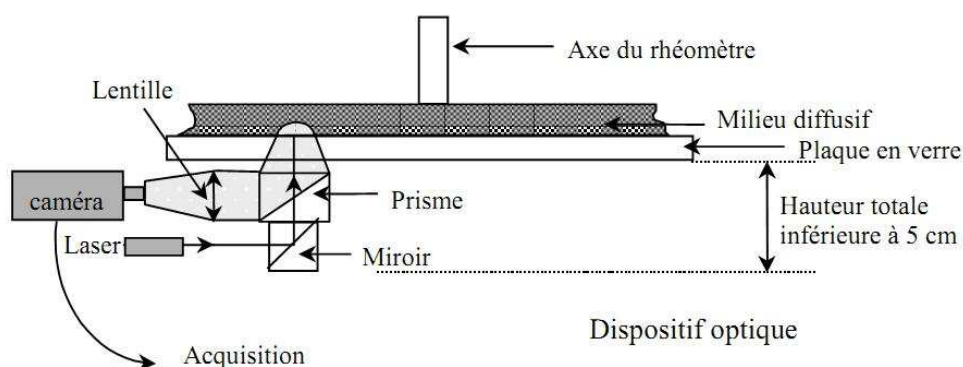


Figure 7 – Dispositif de Baravian (2001)

rheoscope » (Figure 8a). Il s'agit de la combinaison d'un rhéomètre à contrainte imposée et d'un scanner confocal rapide. Différentes géométries transparentes peuvent être adaptées au rhéomètre (Figure 8b). L'article décrit principalement l'utilisation des images obtenues pour analyser et suivre le mouvement de certaines particules par modélisation. Les systèmes étudiés restent donc de composition relativement simple.

L'utilisation d'un rhéomètre commercial présente l'avantage de solliciter un échantillon de façon très contrôlée mais surtout de mesurer la contrainte au cours de la déformation. L'idée d'adapter un chemin optique équivalent au principe d'un microscope confocal et d'utiliser un objectif monté sur un moteur piezo-électrique permet d'acquérir des images dans l'espace ou le temps à une fréquence d'acquisition élevée (50 ips). Néanmoins, le « confocal rheoscope » est utilisé en configuration plan-plan dont un seul plateau est mobile. La gamme de déformation est donc limitée si l'utilisateur souhaite isoler un objet. De plus, le coût financier de ce dispositif est très élevé, de l'ordre de 150 k€. C'est une des raisons pour lesquelles de nombreux autres auteurs ont cherché à développer leur propre dispositif mécanique adaptable à des outils optiques existants.

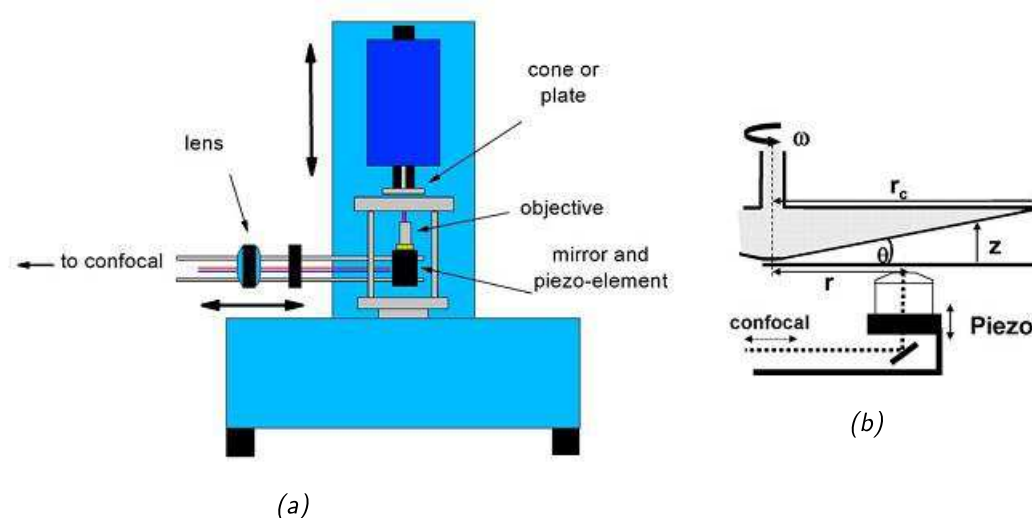


Figure 8 – « Confocal rheoscope » (a) et mobile cône-plan (b) de Besseling et al. (2009)

#### 1.4.2 Outils de cisaillement adaptés à des systèmes d'observation commerciaux

De façon à imiter au mieux le cisaillement imposé par un rhéomètre, de nombreux dispositifs ont été conçus avec des géométries de type Couette ou plan-plan. Ce choix permet de travailler par cisaillement contra-rotatif et donc d'isoler une région d'intérêt dans la fenêtre d'observation. Levitt *et al.* (1996) et Assighaou et Benyahia (2007) présentent des dispositifs de cisaillement plan-plan avec des plateaux transparents. L'observation s'effectue dans le plan vitesse-gradient à l'aide d'une caméra munie d'un zoom. Levitt *et al.* (1996) proposent en plus un système de régulation thermique ( $T \leq 350^\circ\text{C}$ ). Astruc (2001) puis Astruc *et al.* (2003) utilisent un dispositif similaire mais observent, dans le plan vitesse-vorticité, les mécanismes de dispersion de charges dans des fluides viscoélastiques. Sur le même principe, Grizzuti et Bifulco (1997) et Tolpekin *et al.* (2004) ont développé leur propre dispositif d'observation (microscope + caméra CCD) sous cisaillement plan-plan pour étudier les phénomènes de coalescence et de rupture dans des mélanges polyisobutène (PIB)/PDMS et analyser l'agrégation de particules dans un champ de cisaillement. Un dispositif plan-plan couplé à un dispositif SAXS permet à Keates *et al.* (1993) d'étudier l'anisotropie dans des solutions d'HPC et à Rusu *et al.* (1999) d'évaluer des coefficients de diffusion sous cisaillement. Ces dispositifs permettent de coupler cisaillement et observation en isolant un objet mais la mise en place d'un échantillon est un peu délicate dans certains cas. Par ailleurs, ces systèmes plan-plan sont plus ouverts et peuvent donc favoriser la déshydratation de l'échantillon, ce qui peut présenter un inconvénient majeur.

Des dispositifs de cisaillement contra-rotatifs avec des géométries Couette ont été développés par Comas-Cardona et Tucker (2001) et Mighri et Huneault (2001) (Figures 10 et 9). Relativement fermés, ils permettent d'éviter la déshydratation de l'échantillon. Deux cylindres complémentaires pilotés par deux moteurs créent un entrefer où un objet ou une matrice en cisaillement se trouve maintenu dans le champ de visualisation. L'observation s'effectue par le

« dessus » dans le plan vitesse-vorticité pour Comas-Cardona et Tucker (2001) ou orthogonalement à l'entrefer, c'est-à-dire dans la direction du gradient de cisaillement pour Mighri et Huneault (2001).

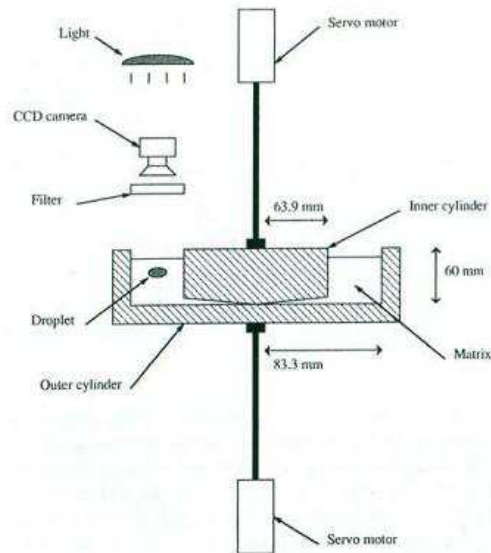


Figure 9 – Dispositif de Comas-Cardona (2001)

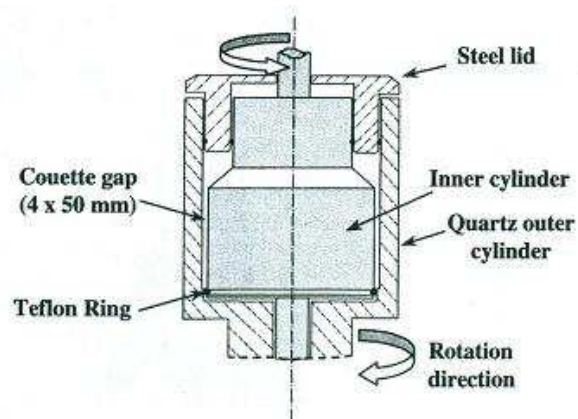


Figure 10 – Dispositif de Mighri (2001)

Constituée de 2 plateaux parallèles et transparents (quartz, Figure 11a), la cellule Linkam<sup>®</sup> (Figure 11b) est, à notre connaissance, la seule cellule commerciale d'observation sous cisaillement, ce qui a favorisé l'utilisation de la rhéo-optique pour de nombreuses caractérisations de systèmes. Ses dimensions réduites, son adaptabilité à de nombreux microscopes, la présence d'une interface de pilotage et le contrôle de la température sont autant d'avantages qu'elle présente. La matrice à déformer est mise en mouvement grâce au plateau inférieur, le plateau supérieur restant fixe. Le plateau inférieur est entraîné par une courroie et un moteur pas à pas désaxé. Le pilotage de la déformation, de l'entrefer et de la température (double circulation)

s'effectue par ordinateur. La cellule est prévue pour être utilisée sur un microscope optique, qui, équipé d'une caméra CCD ou numérique, permet l'acquisition d'images.

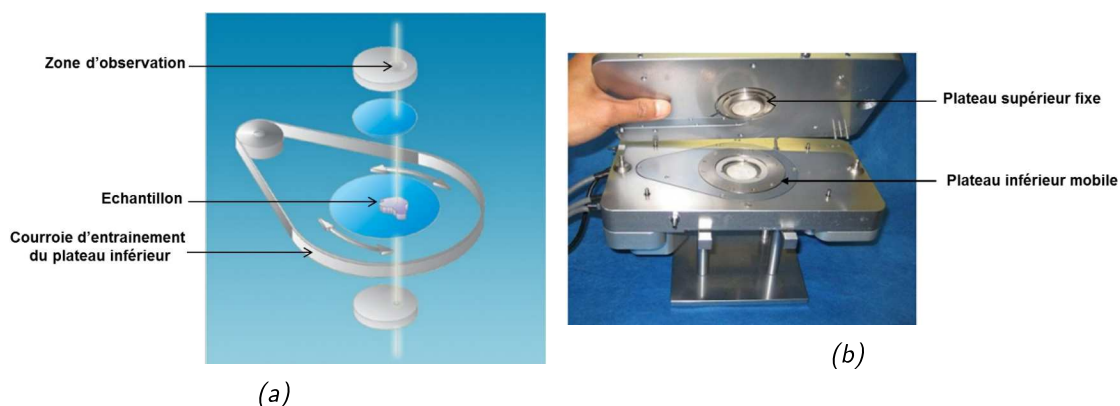


Figure 11 – Schéma de principe (a) et photo (b) de la cellule Linkam®

Parmi les auteurs ayant utilisé cet outil, Bower *et al.* (1999) ont comparé la caractérisation rhéologique et microstructurale d'émulsions stabilisées pour différents tensio-actifs. Ils concluent sur la difficulté de corréler mesures rhéologiques et observations microscopiques. Astruc (2001) a utilisé la cellule Linkam® pour étudier *in situ* le mélange de polymères concentrés immiscibles (PDMS et HPC) en se focalisant sur l'inversion de phase induite par cisaillement simple. La relaxation de goutte de PDMS dans du PIB en régime harmonique a été observée par Wannaborworn *et al.* (2002). Pour obtenir une information complète sur le phénomène, ils complètent leur étude par l'observation de la relaxation selon l'axe de vorticité à l'aide d'un rhéomètre à contrainte imposée et d'une caméra CCD. Deyrail et Cassagnau (2004) ont travaillé par écoulement à vitesse de cisaillement constante pour observer la réorganisation en fibres de gouttes de copolymères dans une matrice de PDMS puis la cristallisation des fibres obtenues par changement de température.

Outil séduisant *a priori*, la cellule Linkam® présente néanmoins des limites importantes. D'une part, l'observation ne peut se faire que suivant la direction du gradient de vitesse. Il manque donc des informations sur l'orientation ou la déformation selon l'axe de vorticité dans le cas de la relaxation d'une goutte par exemple. D'autre part, seul le plateau inférieur est mobile, aussi l'objet observé sort inévitablement du champ d'observation à partir d'une déformation trop importante. On peut aussi préciser que la zone d'observation présente une surface très réduite (4.9 mm<sup>2</sup>). Les conditions opératoires et les gammes de travail possibles de la Linkam® sont récapitulées dans le tableau 1, p. 39.

## 1.5 Les dispositifs en translation (1996 - 2009)

Toujours à partir des travaux de Taylor (1934), des systèmes de cisaillement par translation de plateaux transparents et parallèles ont été conçus. La plupart d'entre eux a été développée pour l'observation et l'étude de la déformation et de la relaxation de gouttes dans des matrices



newtoniennes (Mather *et al.*, 1996; Yamane *et al.*, 1998; Guido et Villone, 1998). De façon à obtenir une information complète de la réponse à la déformation, Yamane *et al.* (1998) placent 2 caméras couplées à un stéréo-microscope (Figure 12) alors que Guido et Villone (1998) proposent 2 dispositifs mis en place sur un microscope mobile qui permettent d'observer suivant 2 directions (Figure 13).

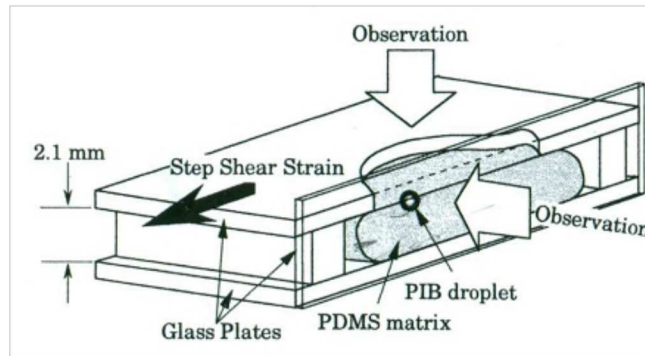


Figure 12 – Dispositif de Yamane (1998)

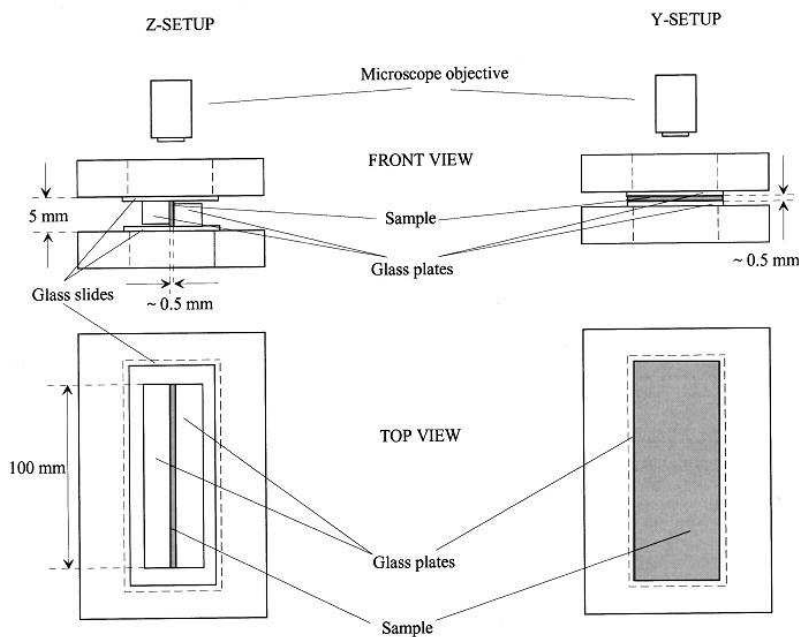


Figure 13 – Dispositif de Guido et Villone (1998)

Les dispositifs en translation couplés à la microscopie confocale ont été développés au début des années 2000. La microscopie confocale présente l'avantage de pouvoir suivre l'évolution d'un objet ou d'une structure dans le temps (plan  $xy$  vitesse-vorticité) ou dans l'espace (plan  $xz$  vitesse-gradient). Nicolas et Paques (2003) puis Besseling *et al.* (2009) présentent chacun un petit dispositif de cisaillement adaptable à un microscope confocal. Deux moteurs piezo-électriques entraînent des plateaux transparents et imposent un cisaillement en régime harmonique. Varadan et Solomon (2003) réalisent des observations en 3 dimensions de micro-

structures gélifiées à l'aide d'un microscope confocal et d'une cellule de cisaillement. Seul le plateau supérieur est mobile en translation et provoque le cisaillement, mais un second moteur permet également d'ajuster l'entrefer. Sur le même principe mais plus précis mécaniquement, la cellule de cisaillement créée par Wu *et al.* (2007) fonctionne avec 2 plateaux mobiles et indépendants. La cellule (Figure 14) s'adapte sur le bâti du microscope confocal et l'observation directe de la structure sous cisaillement est effectuée grâce au logiciel du microscope. Leur méthode optique de validation de la planéité et du parallélisme des plateaux est performante et rapide.

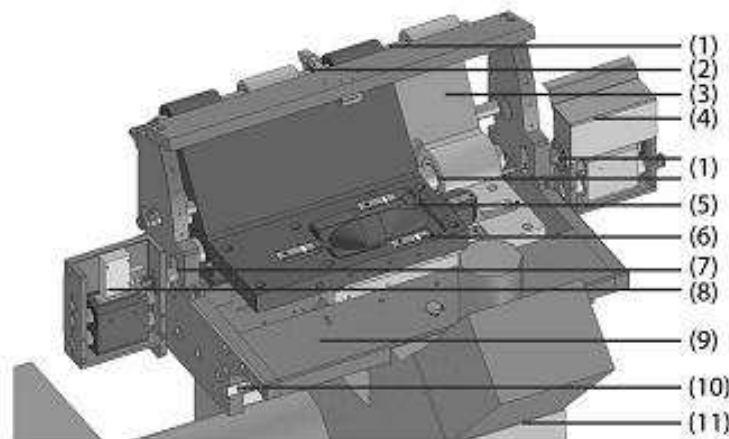


FIG. 2. Schematic representation of the shear cell as placed on top of an inverted confocal scanning laser microscope. (1) Air bearing, (2) secondary guide rod, (3) bottom translation stage, (4) motor bottom stage, (5) top cassette, (6) tilt and gap adjustments, (7) main guide rod, (8) motor top stage, (9) main frame, (10) cross adjustment lever, and (11) confocal microscope.

Figure 14 – Dispositif de Wu *et al.* (2007)

Il s'agit actuellement de l'outil le plus proche de nos besoins. Néanmoins, elle présente quelques limites telles que sa gamme d'entrefer (20 - 200  $\mu\text{m}$ ) trop limitée pour nos échantillons, son poids de 12 kg limitant pour le microscope et la manipulation de la cellule. De plus, la mise en place d'un échantillon reste assez fastidieuse. En effet, les lames de verres sont collées à l'aide d'une colle à époxyde sur des bâtis en aluminium. Le nombre de bâtis et le temps de prise de la colle limitent donc le nombre d'échantillons observables par jour, qui dans leur cas est de 2 maximum.

## 1.6 Dispositifs particuliers

Le dispositif de Noetinger *et al.* (1987) permet un cisaillement entre 2 plans non parallèles (disques en verre) maintenus par des bagues (Figure 15a). La bague supérieure est fixée au centre de 2 haut-parleurs par l'intermédiaire de 2 bras perpendiculaires de longueur réglable. La fenêtre inférieure est solidaire d'un couple de bagues, d'inclinaison identique, ce qui permet

de produire un coin d'angle et de direction variable. La chaîne de commande comprend un oscillateur à phase variable, un système de commande de gain et 2 amplificateurs. La détection s'effectue à l'aide de fibre optique, index, objectif et photodiode. Un système de régulation thermique, comprenant une enceinte close dans laquelle circule un courant d'air chaud, peut être mis en place. L'observation peut se faire par microscopie optique ou diffraction laser. Malgré toute son ingéniosité, ce dispositif était très compliqué (Figure 15b). L'utilisation par les auteurs eux-mêmes fut très limitée à notre connaissance.

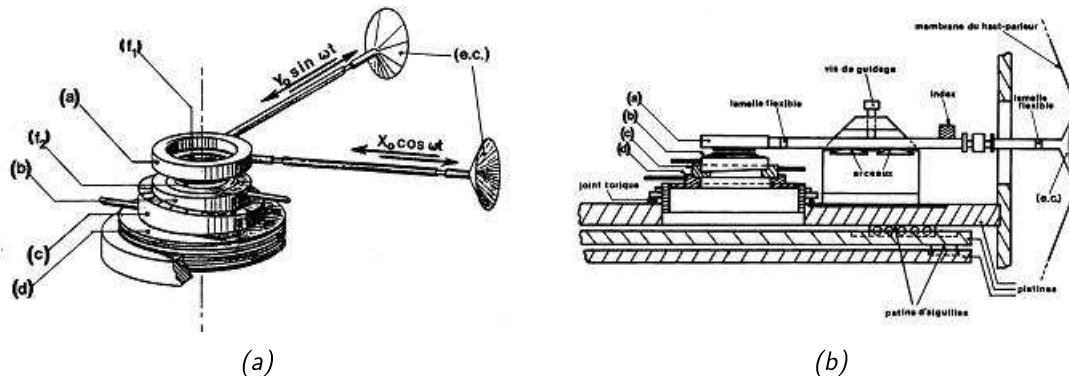


Figure 15 – Dispositif de Noetinger et al. (1987)  
(a) cellule centrale ; (b) vue en coupe du dispositif complet

Nicolas et Paques (2003) proposent un 3<sup>ème</sup> dispositif de cisaillement avec observation par microscopie confocale (Figure 16). Ce dernier repose sur l'observation de la compression-extension d'une matrice à l'aide d'un Instron 5543 (Instron International Ltd, Belgique) disposé au dessus du microscope. Ce système permet l'observation et la mesure rhéologique d'un mélange de façon simultanée. L'objectif est de comprendre le comportement d'un système alimentaire dans des conditions orales et de le corrélérer à la perception en bouche de ce système.

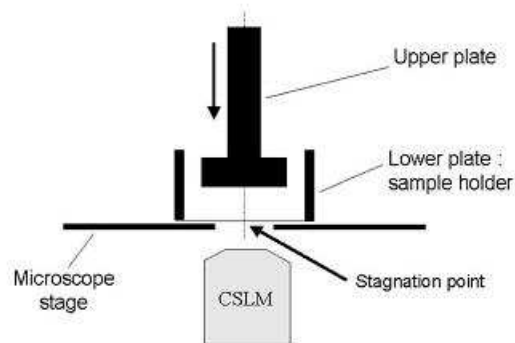


Figure 16 – Compression-observation de Nicolas et Paques (2003)

La visualisation du « point de stagnation » (zone comprimée mais immobile) n'est finalement pas triviale dans ce dispositif. Il est difficile d'isoler un champ d'observation fixe ou de suivre une région d'intérêt au cours de la compression avec un microscope confocal. La mise en place de ce dispositif est probablement difficile, compte tenu de l'encombrement des 2 outils utilisés.

## 1.7 Conditions opératoires et applications de l'observation sous cisaillement

Les différents systèmes d'observation sous cisaillement précédemment décrits sont résumés dans le tableau 1, p. 39. Leurs principes de cisaillement et d'observation y sont récapitulés ainsi que les conditions opératoires et les applications lors de leur utilisation par les auteurs. On retrouve donc tous les types de cisaillement et de déformation que la rhéologie pratique mais aussi les différents moyens d'observation à toutes les échelles. Concernant les conditions opératoires, on remarque que la plupart des auteurs définissent des entrefers compris entre 100  $\mu\text{m}$  et 5 mm. La taille des objets observés, typiquement de 1 à 500  $\mu\text{m}$ , correspond donc à l'échelle mésoscopique, pertinente par rapport à la rhéologie. Les gammes de vitesse de cisaillement et de déformation rencontrées correspondent à celles classiquement utilisées en rhéologie. En fonction des dispositifs, la vitesse de cisaillement est variable ou constante et comprise entre 0.001 et 1 000  $\text{s}^{-1}$ . On remarque aussi que les dispositifs en translation présentent une gamme de déformation finie, due à la course limite de la translation. Par ailleurs, pour mimer les caractérisations en rhéologie dynamique, certains dispositifs permettent l'oscillation à des fréquences comprises entre 0.01 et 10 Hz. Seuls Noetinger *et al.* (1987) et Nicolas et Paques (2003) atteignent une fréquence théorique d'oscillation de 100 Hz, mais il est probable qu'ils rencontrent des problèmes de vibrations ou d'inertie des moteurs. Enfin, peu de dispositifs permettent de contrôler la température au sein de l'entrefer. Mather *et al.* (1996) réussissent à travailler à des températures supérieures à 100°C dans des systèmes non aqueux mais ne discutent pas de l'influence de la température sur les matériaux constitutifs du dispositif et la qualité de l'optique.

De plus, en termes d'applications et d'utilisation, la plupart de ces dispositifs d'observation sous cisaillement a été testée et validée à l'aide de systèmes modèles tels que des mélanges immiscibles de polymères, newtoniens, transparents et aux propriétés rhéologiques bien connues. La relaxation d'une goutte dans une matrice newtonienne a été largement étudiée par rhéoptique, les observations dans 2 directions permettant d'obtenir des informations sur les 3 dimensions de la goutte au cours de la relaxation. La dispersion de particules solides dans des huiles a fait aussi l'objet d'études pour comprendre par exemple des mécanismes de cristallisation sous cisaillement ou quantifier la diffusion ou l'anisotropie dans ces systèmes. Les applications plus concrètes concernent le comportement d'émulsions sous cisaillement ou les fractures au sein d'agglomérats de noir de carbone dans des élastomères. Finalement, à notre connaissance, peu d'études concernent des systèmes structurés et multiphasiques tels que les aliments.

## 1.8 Conclusion : vers les bases d'un cahier des charges

L'étude des dispositifs d'observation sous cisaillement, par leurs principes, leurs outils, leurs conditions opératoires et leurs applications ont permis de mettre en place les bases d'un cahier des charges pour concevoir notre propre dispositif d'observation sous cisaillement. Le choix du cisaillement (translation ou rotation), les gammes de déformation et vitesse de cisaillement souhaitées ainsi que les moyens pour contrôler la température sont autant d'éléments à discuter de façon critique pour mettre en place des solutions techniques réalistes. La cellule développée devait permettre l'observation par un outil existant, un microscope confocal inversé. Par ailleurs, peu de dispositifs ont la possibilité de contrôler la température de l'échantillon en limitant le gradient au sein de l'échantillon. Or dans notre domaine d'étude, celle-ci est un levier important dans la structuration des systèmes étudiés. Une cellule de petite taille, transportable et indépendante d'un fournisseur optique sont des conditions de développement nécessaires à son utilisation et son « adoption » par les utilisateurs. Ces réflexions et points d'attention ont été intégrées au cahier des charges du prototype, reprenant les 3 fonctionnalités principales suivantes : déformer, observer, chauffer un système divisé alimentaire.

**Légende du tableau 1 :**

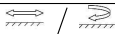
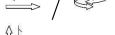
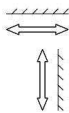
| <b>Cisaillement (Translation ou Rotation)</b>                                       |                                                          |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
|  | Plateau supérieur mobile - Plateau inférieur fixe        |
|  | Plateau supérieur fixe - Plateau inférieur mobile        |
|  | Plateaux supérieur et inférieur mobiles en sens opposé   |
|  | Montage « vertical » - 1 plateau mobile - 1 plateau fixe |
|  | Dispositif à 4 rouleaux                                  |
|  | Compression                                              |
| <b>Observation</b>                                                                  |                                                          |
| CCD                                                                                 | Caméra                                                   |
| MO                                                                                  | Microscopie optique                                      |
| Confocal                                                                            | Microscopie confocale                                    |
| SAXS/DWS/DLS                                                                        | Diffraction et diffusion dynamique de la lumière         |

Tableau 1 – Tableau récapitulatif des différents systèmes d'observation sous cisaillement existants développés entre 1934 et 2009

| Référence                      | Observation | Type de cisaillement                                                                  | Conditions opératoires                                                                                                                             | Applications                     |
|--------------------------------|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|
| Taylor (1934)                  | CCD         |    | -                                                                                                                                                  | Huile dans sirop de glucose      |
| Bentley et Leal (1986)         | 2 CCD       |    | -                                                                                                                                                  | -                                |
| Levitt <i>et al.</i> (1996)    | 2 CCD       |    | $\dot{\gamma} = 1 \pm 0.1 \text{ s}^{-1}$<br>$25^\circ\text{C} \leq T \leq 350^\circ\text{C}$                                                      | Mélanges de polymères            |
| Comas-Cardona et Tucker (2001) | CCD         |    | -                                                                                                                                                  | Goutte huile dans huile          |
| Mighri et Huneault (2001)      | CCD         |    | $e = 4 \text{ mm}$<br>$T = 25^\circ\text{C}$                                                                                                       | Polymère dans PDMS               |
| Tolpekin <i>et al.</i> (2004)  | 2 CCD       |    | $v = 0 - 2 \pm 0.001 \text{ rpm}$<br>$e = 300 \pm 25 \text{ }\mu\text{m}$<br>$\dot{\gamma} = 0 - 6.3 \text{ s}^{-1}$                               | Particules de silice             |
| Birkhofer <i>et al.</i> (2005) | 2 CCD       |    | $\dot{\gamma} = 0 - 6 \text{ s}^{-1}$ ou $46.5 - 485 \text{ s}^{-1}$<br>$e = 2 - 40 \text{ mm}$<br>$15^\circ\text{C} \leq T \leq 40^\circ\text{C}$ | Émulsions, suspensions de fibres |
| Assighaou et Benyahia (2007)   | CCD         |  | -                                                                                                                                                  | PIB dans PDMS                    |
| Mather <i>et al.</i> (1996)    | MO          |  | $\dot{\gamma} = 0.0004 - 640 \text{ s}^{-1}$<br>$e = 10 - 2\,000 \text{ }\mu\text{m}$<br>$25^\circ\text{C} \leq T \leq 400^\circ\text{C}$          | LCP dans PDMS                    |
| Tsakalos <i>et al.</i> (1998)  | MO          |  | $\dot{\gamma} = 0.08 - 1.6 \text{ s}^{-1}$                                                                                                         | HPC dans PDMS                    |
| Grizzuti et Bifulco (1997)     | MO          |  | $\omega = 0.01 - 0.5 \text{ rad.s}^{-1}$                                                                                                           | Mélanges PIB/PDMS                |
| Guido et Villone (1998)        | MO          |  | $e = 0.5 - 1 \text{ mm}$<br>$v = 0.01 \text{ mm.s}^{-1}$ , $t = 2 \text{ min}$                                                                     | Mélange PIB/PDMS                 |

| Référence                                                                                      | Observation | Type de cisaillement                                                                  | Conditions opératoires                                                                                                                                                     | Applications                                  |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| Yamane <i>et al.</i> (1998)                                                                    | Stereo-MO   |    | $\dot{\gamma} = 1 - 5$<br>$e = 2.1 \text{ mm}$                                                                                                                             | PIB dans PDMS                                 |
| Astruc (2001); Astruc <i>et al.</i> (2003)                                                     | MO + CCD    |    | $e = 200 - 400 \text{ }\mu\text{m}$<br>$\dot{\gamma} \leq 30 \text{ s}^{-1}$<br>$T = 140^\circ\text{C}$                                                                    | Noir de Carbone dans élastomères, PDMS ou HPC |
| Noettinger <i>et al.</i> (1987)                                                                | MO/SAXS     |    | $\dot{\gamma} = 10 - 1000 \text{ s}^{-1}$<br>$f = 50 - 300 \text{ Hz}$<br>$A = 2 - 20 \text{ }\mu\text{m}$                                                                 | Cristaux liquides                             |
| Bower <i>et al.</i> (1999)<br>Wannaborworn <i>et al.</i> (2002)<br>Deyrail et Cassagnau (2004) | MO/SAXS     |    | $\dot{\gamma} = 0.003 - 7\,500 \text{ s}^{-1}$<br>$-50^\circ\text{C} \leq T \leq 450^\circ\text{C}$<br>$e = 5 - 2\,500 \text{ }\mu\text{m}$<br>$f = 0.01 - 9.9 \text{ Hz}$ | PDMS dans PIB                                 |
| Hamberg <i>et al.</i> (2001)                                                                   | Confocal    |    | $v = 4 \text{ rpm}$                                                                                                                                                        | Particules de latex                           |
| Varadan et Solomon (2003)                                                                      | Confocal    |    | $e = 0.08 - 1.4 \text{ mm}$<br>$v = 45 \text{ }\mu\text{m.s}^{-1}$                                                                                                         | Particules de silice                          |
| Nicolas et Paques (2003)                                                                       | Confocal    |    | $\dot{\gamma} \leq 90 \text{ s}^{-1}$<br>$e = 4.1 \text{ mm}$                                                                                                              | Émulsions                                     |
| Wu <i>et al.</i> (2007)                                                                        | Confocal    |  | $e = 20 - 200 \text{ }\mu\text{m}$<br>$v = 2.5 \text{ }\mu\text{m.s}^{-1} - 10 \text{ mm.s}^{-1}$<br>$\dot{\gamma} = 0.02 - 1\,000 \text{ s}^{-1}$<br>$A = 10 \text{ mm}$  | Particules de silice                          |
| Besseling <i>et al.</i> (2009)                                                                 | Confocal    |  | $e = 400 - 800 \text{ }\mu\text{m}$<br>$v = 0.05 - 10 \text{ }\mu\text{m.s}^{-1}$<br>$r_c = 20 \text{ mm}, \theta = 1^\circ$                                               | PMMA dans décالية/tétraline                   |

| Référence                       | Observation    | Type de cisaillement                                                                | Conditions opératoires                                                                            | Applications                    |
|---------------------------------|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|
| Rusu (1997); Rusu et al. (1999) | DLS            |  | $e = 250 \text{ }\mu\text{m}$<br>$\dot{\gamma} = 21 \text{ s}^{-1}$<br>$T = 23.5^{\circ}\text{C}$ | Mélanges PIB/PDMS               |
| Baravian et al. (2001)          | DLS + Cam. Num |  | $\dot{\gamma} = 100 - 2\,000 \text{ s}^{-1}$                                                      | Émulsions, suspensions sanguine |
| Nicolas et Paques (2003)        | Confocal + DWS |  | $e \geq 140 \text{ }\mu\text{m}$<br>$\gamma = 0.01 - 35\%$<br>$f = 0.05 - 100 \text{ Hz}$         | Émulsions                       |





## Chapitre 2

# Conception d'une cellule d'observation sous cisaillement

### 2.1 Objectifs - Stratégie

Étudier les relations entre propriétés rhéologiques et structures microscopiques d'un système complexe nécessite le développement d'un nouvel outil car ceux existants présentent des limites. Comme présentées dans l'état de l'art, les voies d'accès à cet outil, couplant rhéologie et observation, sont nombreuses. Nous avons tout d'abord concentré notre réflexion sur les principales fonctionnalités que doit remplir cet instrument, puis fait un état des lieux des diverses solutions techniques possibles. Nous avons identifié 3 fonctions principales que devra remplir la cellule développée :

1. Déformer par cisaillement contrôlé
2. Observer différents constituants d'un système complexe
3. Contrôler et réguler la température au sein du système

Ces 3 fonctions sont assez simples à mettre en œuvre techniquement si elles sont indépendantes. En revanche, regrouper ces 3 fonctions dans un même dispositif compact, transportable et adaptable était un véritable challenge. Ce chapitre décrit donc la progression du travail de conception et d'instrumentation, en abordant chaque fonctionnalité. Des éléments du cahier des charges, les contraintes rhéologiques, optiques ou mécaniques imposées, la justification des solutions techniques choisies sont décrits, permettant d'aboutir à une vue générale et détaillée du prototype développé. Une section décrit aussi la démarche de développement d'un logiciel de pilotage et d'acquisition des données. Enfin, un paragraphe synthétise l'ensemble d'un point de vue matériel et financier.

## 2.2 Déformer par cisaillement contrôlé

### 2.2.1 Choix du mouvement et caractéristiques des moteurs

La déformation imposée s'effectue entre 2 plans parallèles, chacun entraîné par un moteur qui pilotera son déplacement. Comme évoqué dans l'état de l'art, les 2 mouvements de cisaillement les plus répandus sont la translation et la rotation. Théoriquement, la rotation permet de reproduire une déformation « infinie » tant que dure la rotation. La translation est uni-directionnelle et limitée à la course de déplacement des plateaux. Néanmoins, notre choix s'est porté sur un mouvement de translation pour plusieurs raisons dont les principales sont décrites ci-dessous.

- Nous n'avons pas trouvé de solutions techniques et mécaniques optimales pour mettre en œuvre la rotation. Dans le cas de cette dernière, l'axe du moteur et donc de rotation des plateaux est colinéaire à l'axe d'observation. Il est donc indispensable de désaxer les moteurs des plateaux. Ce désaxage nécessite une courroie ou tout autre système à crémaillère dont la précision n'est pas comparable à celle des platines motorisées en translation. Hormis la cellule Linkam<sup>®</sup>, les dispositifs d'observation sous cisaillement par rotation sont des adaptations de systèmes optiques sur des rhéomètres commerciaux (Baravian *et al.*, 2001; Besseling *et al.*, 2009; Tsakalos *et al.*, 1998; Comas-Cardona et Tucker, 2001). Or, nous avons opté pour le développement d'un outil de cisaillement adapté à un dispositif d'observation déjà existant, à savoir un microscope confocal à balayage laser (MCBL) TCS AOBS SP2 (Leica, Allemagne). Après avoir détaillé de façon approfondie le mécanisme de fonctionnement de la cellule Linkam<sup>®</sup>, nous avons pointé ses nombreux avantages mais aussi ses inconvénients (un unique plateau mobile, gradient de température importante, fenêtre d'observation limitée). Finalement, les solutions techniques envisagées pour imposer un cisaillement par rotation se sont avérées trop difficiles techniquement et onéreuses à réaliser.
- Il existe déjà une cellule de cisaillement (Wu *et al.*, 2007) qui travaille en translation. Nous nous sommes donc appuyés sur le descriptif des solutions techniques choisies et validées par cette équipe. De plus, les lames et lamelles de microscopie sont généralement de forme rectangulaire. Nous avons donc essayé de nous adapter à du matériel existant pour la mise en pratique d'une observation sous cisaillement. La mise en mouvement de ces lames/lamelles nous semble plus simple et efficace par translation.

Nous optons donc pour le développement d'un outil de cisaillement par translation. Des moyens de translation présentant une course assez grande ainsi qu'une dynamique de vitesse balayant 2 à 3 décades permettraient de reproduire les valeurs classiquement rencontrées en rhéologie. Considérant donc un cisaillement par translation, on peut exprimer les valeurs de déformation et de taux de cisaillement en termes de course ou amplitude de translation et de vitesse de translation. On a respectivement (Eq. 1, Eq. 2) :

$$\gamma = \frac{A_T}{e} \quad (1)$$

$$\dot{\gamma} = \frac{V_T}{e} \quad (2)$$

où  $\gamma$  et  $\dot{\gamma}$  sont respectivement la déformation et la vitesse de cisaillement souhaitée,  $A_T$  est l'amplitude totale de translation en mm,  $e$  l'entrefer en mm et  $v_T$ , la vitesse de translation en  $\text{mm.s}^{-1}$ .

Les niveaux de déformation souhaités se situent entre 0.01 et 10 et les vitesses de cisaillement seront idéalement comprises entre 0.1 et 100  $\text{s}^{-1}$ . Ces valeurs correspondent à celles fréquemment rencontrées et utilisées lors de la caractérisation rhéologique de systèmes alimentaires à l'aide d'outils tels que les rhéomètres ou texturomètres. Les équations 1 et 2 permettent de déterminer les caractéristiques du mouvement des plateaux (amplitude, vitesse, précision) nécessaires pour atteindre ces valeurs, soit  $A_T = 50 \text{ mm}$  et  $V_T = 500 \text{ mm.s}^{-1}$  dans le cas de 2 plateaux mobiles. Les caractéristiques de chacun des plateaux devront donc être de l'ordre de  $A = 25 \text{ mm}$  et  $V = 250 \text{ mm.s}^{-1}$  en considérant une contribution égale de chacun des plateaux.

Il existe des solutions de translation très performantes sur le marché, et en particulier les platines motorisées grâce à des moteurs piezo-électriques, les piezo-moteurs. Le principe de fonctionnement de ces actionneurs est fondé sur la déformation d'une structure élastique fixe à base de matériaux actifs, capable de communiquer par friction un mouvement d'entraînement uniforme à une partie mobile. Une évaluation des caractéristiques de quelques platines nous a permis de sélectionner la platine motorisée qui répond le mieux à notre cahier des charges. Nous avons opté pour une platine linéaire FB-075 (Figure 17) couplée à un moteur piezo-électrique HR4 (NanoMotion, États-Unis). Cette table linéaire possède une course maximale de 40 mm et une gamme de vitesse allant de 1  $\mu\text{m.s}^{-1}$  à 250  $\text{mm.s}^{-1}$ . Pour affiner le déplacement des plateaux et la précision de la déformation, l'option avec un encodeur à résolution de 10 nm a été choisie. Le moteur HR4 permet une force de pilotage de 16 N.



Figure 17 – Platine linéaire motorisée FB-075 (NanoMotion, États-Unis)

Trois platines motorisées de ce type ont été acquises. Deux sont dédiées au pilotage des plateaux et une autre est solidaire du plateau supérieur et permet d'ajuster l'entrefer. Pour

commander et piloter ces platines motorisées, une carte de commande Galil DMC-4030 permet le contrôle multiaxes ( $2 \times x + 1 \times z$  dans notre cas) par un asservissement en position et/ou en vitesse, la synchronisation des moteurs ou encore l'acquisition de données.

### 2.2.2 Contrainte des systèmes et force des moteurs de translation

Les systèmes étudiés peuvent être très variés du point de vue de leur consistance. Il est donc nécessaire de prendre en compte les forces mises en jeu dans le choix des moteurs. Le moteur doit avoir une puissance suffisante pour pouvoir déplacer des systèmes ayant des niveaux élevés de consistance mais aussi une précision et une résolution maximale pour maîtriser les faibles déformations imposées. Nous avons relié la consistance d'un produit à la force de traction que le moteur doit développer en fonction de la vitesse de cisaillement en considérant que le produit colle parfaitement aux plans inférieur et supérieur (Figure 18). La plupart des matrices alimentaires que nous souhaitons étudier développe une contrainte maximale de l'ordre de  $10^2$  Pa au cours d'un cisaillement. En considérant une fenêtre d'observation rectangulaire de  $50 \times 25$  mm, la force maximale nécessaire au déplacement de l'échantillon est de l'ordre de 200 mN. Dans le cas extrême d'une pâte à pain, matrice de forte consistance, la contrainte représente  $10^4$  Pa. La force maximale est donc, dans ce cas, de l'ordre de 20 N.

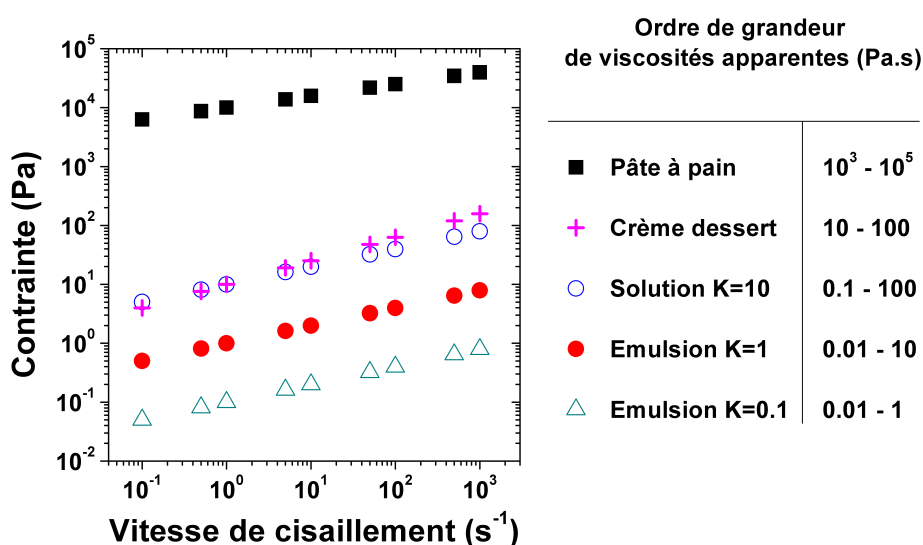


Figure 18 – Niveaux de contrainte en fonction de la vitesse de cisaillement pour différents fluides alimentaires. Les solutions et émulsions sont considérées comme rhéo-fluidifiantes selon une loi en puissance  $\sigma = K\dot{\gamma}^n$  avec  $n \leq 1$

### 2.2.3 Entrefer

La déformation d'un système complexe s'effectue généralement entre 2 parois dont l'une au moins est en mouvement. Cet entrefer est souvent de petite taille et ajustable en fonction du système à déformer. Il est classiquement admis qu'un entrefer doit être au moins 10 fois

supérieur à la taille des objets observés (Barnes, 2000). Dans notre cas, les objets que nous observons ont des tailles comprises entre 0.1 et 50  $\mu\text{m}$ . De même, pour des produits alimentaires très consistants et comportant des microstructures orientables lors de la mise en place, telles que les pâtes de farine, un entrefer de l'ordre du mm permet une mise en place plus aisée et une limitation de l'anisotropie induite. L'entrefer doit donc pouvoir être ajusté entre 0 et 5 mm. La précision de ces valeurs est de l'ordre de 0.01 mm.

La planéité des plateaux transparents et leur parallélisme sont des critères indispensables au contrôle précis de la déformation. Ils jouent aussi un grand rôle dans la qualité de l'observation. Nous avons donc tenté de trouver la meilleure solution technique pour s'assurer de ces 2 propriétés. L'équipe de Wu *et al.* (2007) a privilégié le collage manuel des lamelles de microscopie sur un bâti à l'aide de colle à époxyde. Lors de la mise en place manuelle du bâti sur la cellule, l'utilisateur ajuste à l'aide de vis micrométriques la planéité de chaque plateau puis son parallélisme. Ce réglage s'effectue de façon optique à l'aide du microscope confocal en observant la réflexion des plateaux le long de leur course totale. Cette méthode semble fonctionner dans leur cas mais nous avons pointé quelques inconvénients : l'utilisateur doit être expérimenté pour déposer une couche mince et régulière de colle à époxyde ; le positionnement manuel des plateaux puis l'ajustement à l'aide des vis micrométriques est en décalage avec toute la mécanique de précision développée pour le mouvement des plateaux ; il est nécessaire de faire l'acquisition d'un objectif piezo-électrique qui autorise l'observation dans le plan  $xz$  et enfin le temps de manipulation est trop long dans ces conditions. Il faut au moins 3 h de séchage de la colle à époxyde avant utilisation du plateau ; par conséquent pour effectuer plusieurs expériences, il est nécessaire de faire usiner plusieurs bâtis. Le temps d'utilisation de cette cellule ne serait pas rentable avec son développement. Nous avons donc décidé de ne pas nous orienter vers cette possibilité.

L'usinage d'une certaine quantité de plateaux transparents prêts à être disposés sur la platine motorisée a aussi été envisagé. L'usinage en série pouvait nous assurer une bonne qualité des pièces, mais rien ne nous permettait de contrôler la planéité et le parallélisme des plateaux une fois mis en place. Le coût de cette solution nous semblait hors de nos possibilités financières.

La dernière solution envisagée, celle que nous avons retenue, est « détournée » de son utilisation originelle. En effet, nous avons examiné le fonctionnement des plateaux à dépression tels qu'utilisés en industrie pour les opérations de rectification plane de pièces métalliques. Il s'agit de brider la pièce par aspiration sur une table percée permettant de tirer sous vide. Nous avons adapté cette méthode à nos plateaux, l'idée étant de venir fixer la lamelle de microscopie sur un bâti en aluminium par aspiration grâce à une pompe à vide. Pour ce faire, un serpent est usiné à la surface de contact avec la lame de verre et une sortie pour le branchement de la pompe à vide est prévue. Le couple bâti + lame constitue notre plateau transparent. Les avantages de ce choix sont nombreux, parmi lesquels : l'usinage parfaitement plan d'une seule paire de plateau en aluminium, la mise en place rapide d'une expérience (quelques secondes ou de l'ordre de la minute), l'utilisation de lames de microscopie commerciales, le faible coût

de sa mise en œuvre.

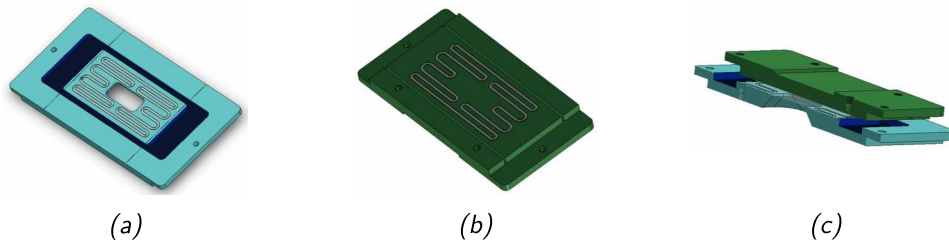


Figure 19 – (a) Plateau inférieur ; (b) Plateau supérieur ; (c) Entrefer

La dépression entre le plateau et la lamelle se fait à l'aide d'une pompe à vide Laboport (KNF, France) pouvant tirer un vide maximum de 160 mbars, suffisant pour cisailier un échantillon sans glissement entre la lame et le bâti.

#### 2.2.4 Champs de vitesse nulle

Dans le but d'observer un objet sous déformation sans que celui-ci ne sorte de la fenêtre d'observation, il est important de pouvoir isoler un champ de vitesse nulle (Zero Velocity Plane, ZVP) dans l'entrefer. Si les vitesses des 2 plateaux mobiles sont égales mais opposées, ce plan de vitesse nulle est situé au centre de l'entrefer. On peut ensuite jouer sur le ratio des vitesses des plateaux pour ajuster la position de ce plan dans l'entrefer. La position de ce plan en fonction des vitesses de plateaux s'exprime suivant la formule donnée par l'équation 3.

$$z_{ZVP} = \frac{e}{\frac{V_{inf}}{V_{sup}} + 1} \quad (3)$$

La figure 2 illustre ce principe. Il est donc indispensable de pouvoir imposer des vitesses différentes aux 2 plateaux et de s'assurer du parallélisme entre les plateaux au cours du mouvement.

Après avoir trouvé une solution technique permettant la déformation contrôlée d'un système, nous nous sommes intéressés à la 2<sup>ème</sup> fonctionnalité souhaitée que devra remplir la cellule de cisaillement, à savoir l'observation de ce système complexe.

#### 2.2.5 Récapitulatif des valeurs cibles, réelles et effectives liées à la déformation

Les systèmes que nous souhaitons déformer et visualiser couvrent un large domaine de consistances et de structures rencontrées : émulsions, gels, mousses, pâtes, solides... Pour définir notre cahier des charges, les caractéristiques physico-chimiques de ces produits ainsi que nos connaissances en rhéologie et en microscopie des systèmes divisés alimentaires ont été prises en considération. Le tableau 2 fournit les différentes valeurs (cibles, réelles, effectives) des

paramètres liés à la déformation. Les valeurs cibles correspondent à notre cahier des charges en termes de rhéologie, ce qui nous donne les caractéristiques cibles des platines motorisées. Les valeurs réelles correspondent aux caractéristiques des moteurs choisis. Les valeurs effectives sont les valeurs actuellement atteintes lors de l'utilisation de la cellule. Elles prennent en compte les limites mécaniques de déplacement des plateaux et la géométrie de la cellule telle qu'elle a été conçue. Toutes les notions et valeurs mentionnées dans ce tableau sont valables uniquement dans le cas d'un entrefer entre 2 plateaux parfaitement plans et parallèles. Les valeurs du tableau ci-dessous correspondent aux caractéristiques de la cellule. Les amplitudes et vitesses données sont la somme de 2 plateaux. Les caractéristiques réelles d'une seule platine motorisée correspondent à la moitié des valeurs réelles de la cellule de cisaillement.

Tableau 2 – Comparaison entre les valeurs cibles, réelles et effectives des paramètres de déformation de la cellule d'observation sous cisaillement

|                                           | Cibles   | Réelles | Effectives |
|-------------------------------------------|----------|---------|------------|
| RHÉOLOGIE                                 |          |         |            |
| <b>Entrefer (mm)</b>                      | 0.1-5    |         | 0.1-5      |
| <b>Déformation</b>                        | 0.01-10  |         | 0.001-320  |
| <b>Cisaillement (<math>s^{-1}</math>)</b> | 0.1-100  |         | 0.01-400   |
| MOTEURS                                   |          |         |            |
| <b>Course (mm)</b>                        | 0.001-50 | 0-80    | 0-32       |
| <b>Résolution (<math>\mu m</math>)</b>    | 1        | 0.01    | 1          |
| <b>Vitesse (<math>mm.s^{-1}</math>)</b>   | 0.01-500 | 0-500   | 0-40       |
| <b>Force de traction (N)</b>              | 20       | 32      | 32         |
| <b>Fréquence (Hz)</b>                     | 0.01-5   | 0.01-20 | 0.01-10    |

Le choix des platines motorisées en translation permet de répondre largement aux valeurs cibles souhaitées, celles définies dans le cahier des charges. Néanmoins, la mise en place de ces platines dans la géométrie de la cellule impose des limites qui réduisent leurs capacités effectives. Même en prenant en compte ces limites d'environnement et de conception, on obtient des gammes de paramètres d'utilisation de la cellule de cisaillement développée qui sont en accord avec celles rencontrées classiquement en rhéologie.

## 2.3 Observer un système divisé alimentaire

L'observation dynamique de la structure d'un système complexe placé dans la cellule de cisaillement s'effectue à l'aide d'un microscope confocal à balayage laser (MCBL) TCS AOBS SP2 (Leica, Allemagne) équipé d'un microscope inversé. La cellule a donc été conçue pour venir s'adapter sur le bâti du microscope telle que l'actuelle platine porte-échantillon classique. Des contraintes géométriques (encombrement, poids, système de sécurité des lasers) ont dû être prises en considération. Ainsi, le poids de la cellule d'observation de Wu *et al.* (2007), 12 kg, est une caractéristique limitant considérablement son utilisation avec un système d'observation



autre que celui pour lequel elle a été développée. Notre cellule de cisaillement est équivalente à un cube de 20 cm de côté, pesant environ 5 kg et facilement transportable grâce à ses 2 arches lui servant de squelette. La base de la cellule est amovible de façon à pouvoir usiner à façon des bases à géométries différentes en fonction du type de microscope utilisé pour l'observation.

Des contraintes optiques sont à considérer et en particulier, la planéité des plateaux transparents. En effet, en plus de son influence sur le cisaillement, ce paramètre joue un rôle sur la qualité de l'image obtenue. La non-planéité entraînerait une déviation des lasers percutant l'échantillon. La réponse obtenue, l'image, serait alors altérée. Les propriétés et les caractéristiques des objectifs utilisés sont à prendre en compte et en particulier la distance de travail possible. La notion de ZVP évoquée ci-dessus intervient aussi dans le développement de cette partie optique (Figure 20). L'utilisateur doit aussi pouvoir travailler avec des objectifs à immersion, c'est-à-dire avoir la possibilité de créer un contact (huile ou eau) entre l'objectif et le plateau transparent.

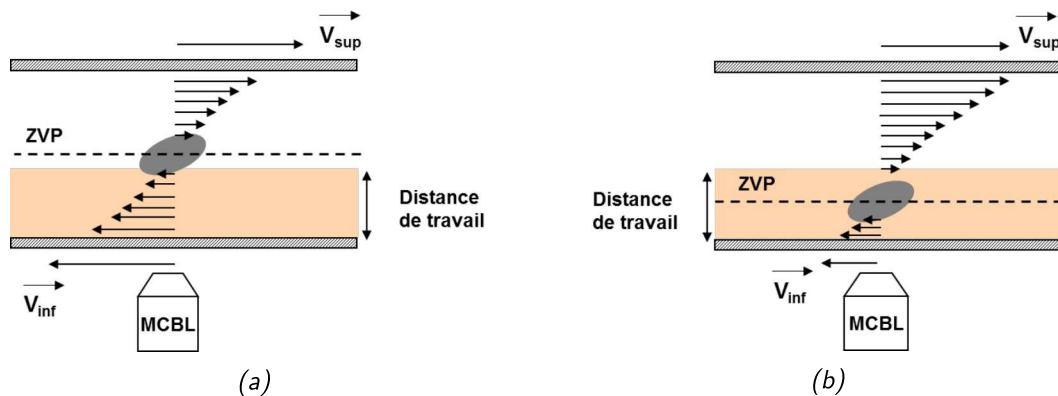


Figure 20 – Lien entre ZVP et distance de travail de l'objectif. La bande colorée représente la distance de travail de l'objectif. (a) ZVP au centre de l'entrefer ( $V_{inf} = V_{sup}$ ) mais trop haut par rapport à la distance de travail de l'objectif; (b) ZVP plus proche du plan inférieur ( $V_{inf} \ll V_{sup}$ ) et dans la distance de travail de l'objectif

Une fois la planéité des bâtis en aluminium inférieur et supérieur assurée, le plateau inférieur a été usiné de façon à créer une fenêtre d'observation. Un oblong a donc été percé au centre du plateau (Figure 21) de façon à laisser venir s'approcher l'objectif au plus près de la lamelle. Le plateau supérieur n'a pas besoin de cette fenêtre, il peut être opaque puisque l'observation s'effectue sur un microscope inversé par réflexion et non par transmission de la source lumineuse.

Les dimensions intérieures de l'oblong sont de 18 mm de long et 8 mm de large. Cela correspond donc à une fenêtre d'observation de 144 mm<sup>2</sup>, environ 30 fois plus grande que la zone d'observation de la cellule Linkam®. Ces dimensions nous donnent les limites de courses effectives de la platine. En effet, dans le cas d'un objectif centré sur l'oblong, la course de la platine inférieure ne pourra pas dépasser 9 mm de part et d'autre. Il s'agit tout simplement d'une sécurité car si la course était plus importante, il y a de grandes chances que, dans son mouvement, le plateau vienne percuter l'objectif et l'endommager. On prendra donc soin de placer une butée (mécanique ou informatique) pour éviter tout dommage de l'objectif. Dans le

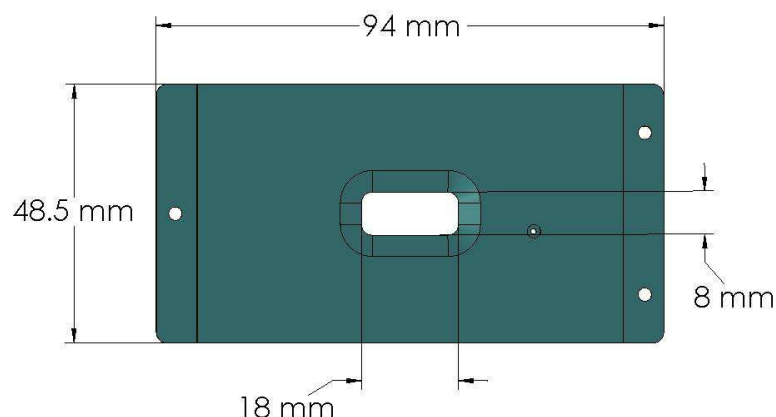


Figure 21 – Vue de dessous du plateau inférieur et dimensions caractéristiques

développement du logiciel de pilotage, des butées informatiques de déplacement des plateaux ont été programmées de façon à limiter l'endommagement du matériel (objectif, tête confocale, ordinateur) en cas de mauvaise manipulation.

## 2.4 Contrôler et réguler la température au sein du système observé

La température et sa régulation jouent un grand rôle dans la structuration des différents matériaux alimentaires. La température est un levier important du procédé. De façon à se rapprocher des conditions réelles, le contrôle d'une gamme de températures maîtrisée entre 10°C et 80°C est optimale. La précision sur la température doit être de l'ordre de 0.5°C. La limite de la température haute est fixée par la composition des matériaux alimentaires, très majoritairement aqueux. Il faut donc éviter la déshydratation des échantillons ou l'apparition de condensation sur l'extérieur des lames/lamelles à  $T \leq 20^{\circ}\text{C}$ . Des rampes de chauffe et refroidissement contrôlées ont été envisagées, tels que les rhéomètres le font typiquement, c'est-à-dire de l'ordre de  $0.5 - 20^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ .

Pour répondre au cahier des charges en termes de régulation de température, il nous a semblé évident de nous orienter vers la thermoélectricité et les dispositifs Peltier. De petites tailles, ayant de grandes puissances de chauffe et refroidissement, leur géométrie s'adapte parfaitement à notre système. Nous avons opté pour un module Peltier (Global Component Sourcing, Hong-Kong), de dimensions 30 mm x 30 mm, de puissance 37.9 W et de température maximale égale à 150°C (Figure 22a). Il est couplé à un régulateur TC-XX-PR59 (SuperCool, Suède, Figure 22b) et alimenté par sa propre alimentation 15V/7A (Omron, France). Une sonde de température (RTC 10KΩ ; Aslec, France), connectée au régulateur, s'insère dans l'épaisseur du bâti supérieur ( $\varnothing = 1 \text{ mm}$ ) et se situe à moins de 3 mm de l'échantillon, épaisseur de la lamelle comprise. Le plateau supérieur est usiné dans de l'aluminium, bon conducteur thermique

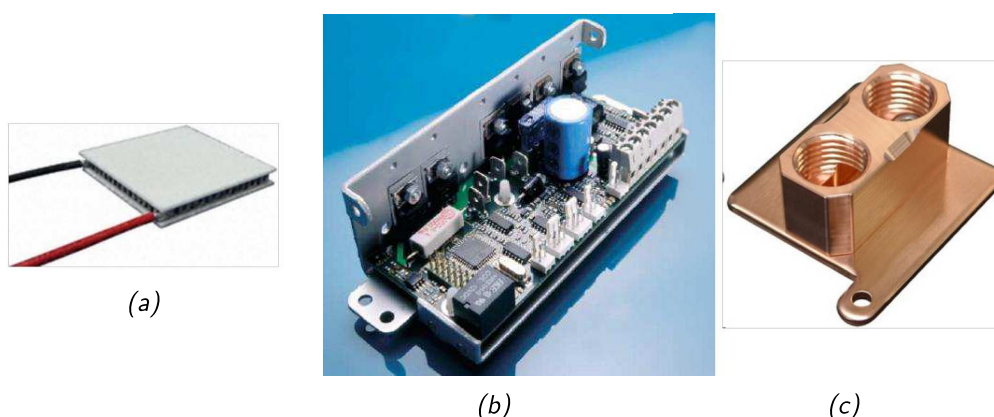


Figure 22 – (a) Plan Peltier 30 x 30 mm ; (b) Régulateur TC-XX-PR59 ; (c) Diffuseur en cuivre

et posé sur une équerre en inox, mauvais conducteur thermique, sur 3 points (micro-vis). Ce dispositif permet à la fois de régler le plateau en  $xy$  à l'aide des micro-vis tout en limitant les ponts thermiques et les contacts avec l'équerre qui supporte le plateau supérieur. L'évacuation thermique s'effectue à l'aide d'un dispositif de circulation d'eau à travers une pièce de cuivre (Figure 22c) positionnée sur le module Peltier. Une couche de pâte thermique assure le contact entre le Peltier et le diffuseur en cuivre. Un système de tuyaux + connecteurs anti-retour permet de brancher directement la cellule à sa propre pompe à eau de façon à considérer le débit d'eau dans les paramètres de régulation de la température.

## 2.5 Schémas de la cellule de cisaillement

À partir du cahier des charges, de tous les éléments précédemment décrits, des solutions techniques sélectionnées, du matériel choisi et des besoins en matériels électroniques pour commander la cellule, CAD Instruments a pu réaliser les plans nécessaires à la conception de la cellule. La photo 23 montre la cellule en place sur le microscope confocal. On note l'encombrement réduit que représente la cellule mise en place sur le microscope confocal. La géométrie globale (squelette + base) a été usinée de façon à s'adapter sur le microscope à notre disposition. Une série d'images reconstituant les différents éléments de la cellule, depuis la partie centrale (entrefer) jusqu'à la cellule complète est donnée dans la figure 24, page 54.

Les solutions techniques choisies nous ont permis de concevoir une cellule d'observation sous cisaillement répondant largement à nos besoins en fonction du cahier des charges et des contraintes rhéologiques, optiques et mécaniques fixées. Les trois fonctions principales sont remplies de même que les exigences en termes de géométrie (taille, poids), de manipulation (système à dépression, accessibilité), d'adaptabilité (base usinable à façon) et enfin de sécurité (butées informatiques). La seconde partie de la conception réside dans l'utilisation de la cellule et passe donc par le développement d'un système de pilotage et de contrôle de tous les paramètres mis en jeu.

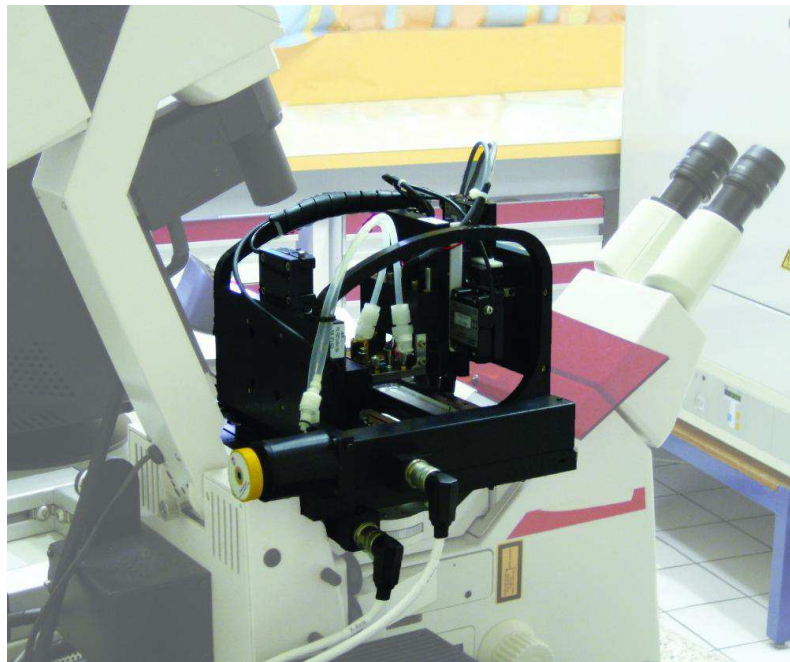


Figure 23 – Photographie de la cellule de cisaillement placée sur le microscope confocal

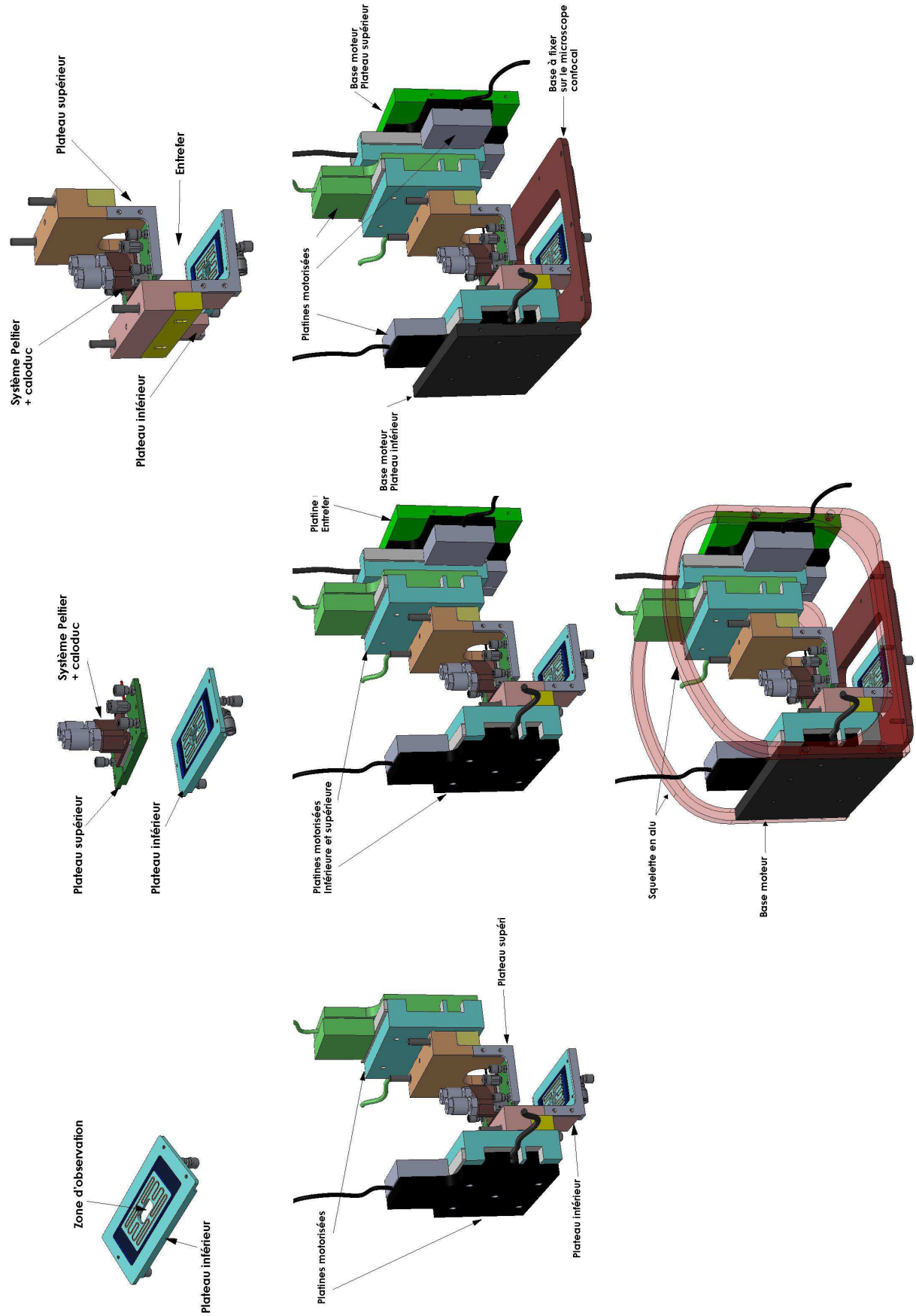


Figure 24 – Séquence d'images 3D de la cellule de cisaillement

## 2.6 Pilotage informatique de la cellule de cisaillement

Pour des raisons de gain de temps et de facilité de développement, 2 logiciels sont utilisés (Figure 25) : le premier, développé par une société extérieure permet le pilotage des moteurs (déformation, cisaillement, entrefer, acquisition des données) et le second, développé en interne, contrôle le régulateur de température. Dans un premier temps, les parties ci-dessous décrivent en détail l'interface graphique développée pour piloter les moteurs puis la détermination des paramètres de leur asservissement. Dans un second temps, les paramètres de contrôle de la température seront décrits. Il est à noter que le fonctionnement global du système rhéo-optique fait intervenir un 3<sup>ème</sup> logiciel relatif aux fonctions d'observation et d'acquisition d'images propre au microscope confocal. La description de ce dernier logiciel ne rentre pas dans le cadre du développement de la cellule ; par conséquent, peu d'information à son sujet seront mentionnées.

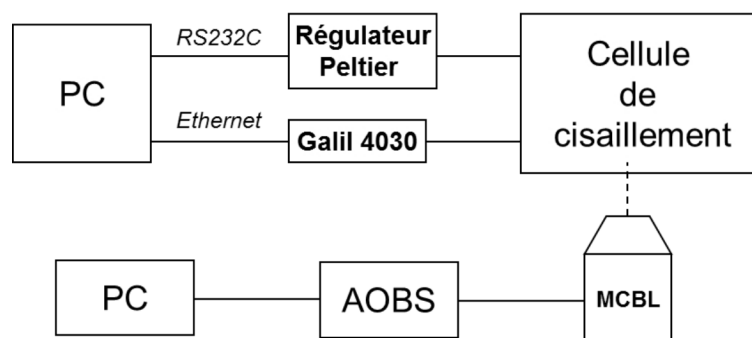


Figure 25 – Schéma fonctionnel du système de pilotage de la cellule

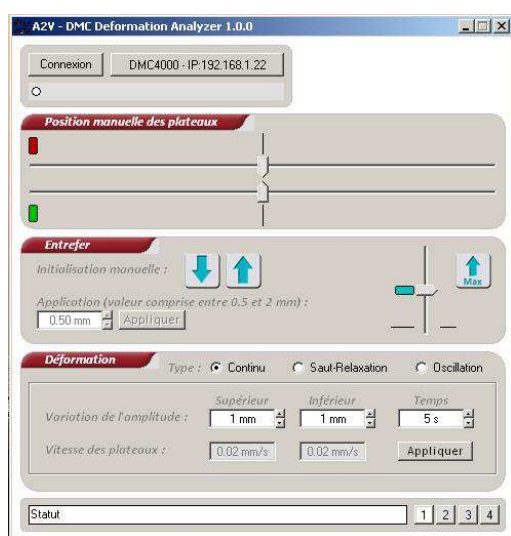
Nous avons confié le développement du contrôle des moteurs à une société extérieure. À partir d'un logiciel fourni par le fabricant de la carte de commande Galil DMC-4030, il s'agissait de coder les différents mouvements de translation des platines motorisées et de configurer les moteurs (bornes de déplacement, jeux de gains PID, précision du pas). Comme pour l'interface graphique décrite ci-dessous, cette configuration d'asservissement des moteurs s'est réalisée en 2 temps. Une première phase par rapport au cahier des charges décrit précédemment puis une optimisation suite aux premiers essais. La difficulté de ce travail résidait dans la configuration du jeu des gains statique et dynamique en fonction des mouvements souhaités. Ils dépendent beaucoup du poids en mouvement, de l'amplitude, de la vitesse et de la dynamique désirées.

### 2.6.1 Développement de l'interface graphique du logiciel de pilotage des moteurs

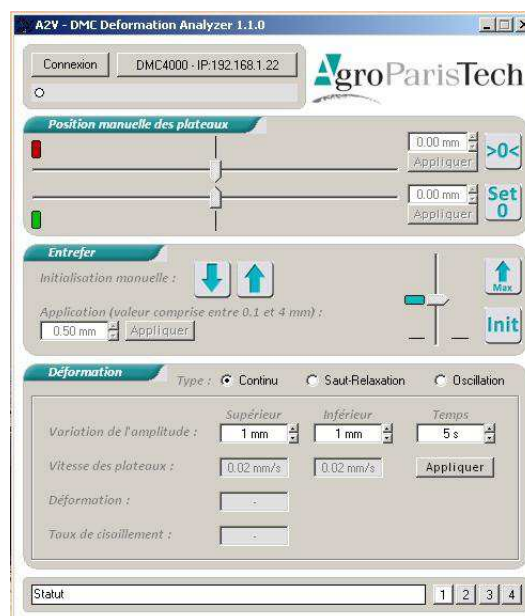
Le développement du logiciel de pilotage a été effectué en 2 temps. Le premier développement, comprenant l'asservissement des moteurs et la création d'une interface graphique, a été réalisé à partir d'un cahier des charges que nous avons établi. Permettant de valider le bon fonctionnement de la cellule de cisaillement, les paramètres d'asservissement et la configuration des moteurs sont détaillés dans le chapitre 3. La première interface graphique développée



comprenait les fonctions essentielles de pilotage des 3 moteurs et l'acquisition des données (Figure 26a). Après ce premier travail, les quelques essais effectués pour valider les mouvements des plateaux ont vite montré des limites dans l'utilisation de cette interface. Certaines fonctionnalités indispensables ont été ajoutées comme la possibilité de définir une référence de position pour les 2 plateaux, l'affichage des bornes de déplacement en fonction de la position de référence de chacun des plateaux, l'initialisation du moteur contrôlant l'entrefer, le lien entre valeurs mécaniques et paramètres rhéologiques, la charte graphique et les logos au démarrage du logiciel. On obtient donc une version de l'interface plus aboutie et simple en termes d'utilisation (Figure 26b).



(a)



(b)

Figure 26 – Évolution globale de l'interface graphique du logiciel de pilotage des moteurs

(a) 1<sup>er</sup> développement ; (b) 2<sup>nd</sup> développement

Chaque onglet de la figure (b) est détaillé ci-dessous

### 2.6.1.1 Pilotage manuel des plateaux

Chacun des plateaux peut être piloté de façon manuelle. Cette fonction permet à l'utilisateur de placer les plateaux à l'endroit souhaité. Les curseurs gris supérieur et inférieur pilotent respectivement leur plateau. Les pastilles rouge et verte donnent la position effective de chacun des plateaux en  $\mu\text{m}$  et les valeurs en blanc correspondent aux bornes de déplacement (Figure 27). Les plateaux peuvent aussi être positionnés par saisie numérique au clavier d'une valeur d'amplitude.

L'initialisation des plateaux s'effectue à l'aide du bouton **SET 0** qui permet de définir la position effective comme référence pour les déplacements ultérieurs. Le bouton **>0<** permet de revenir à la dernière position de référence enregistrée. Ces deux fonctions servent essentiellement à repositionner les plateaux au centre mécanique de la cellule.

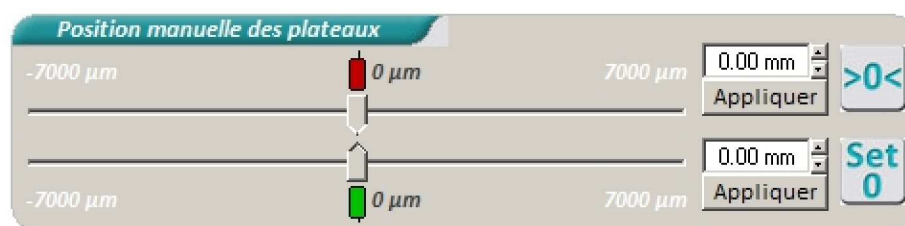


Figure 27 – Fonctions de positionnement manuel des plateaux

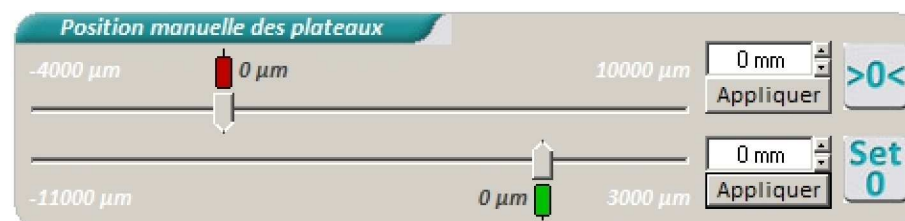


Figure 28 – Exemple de modification des bornes de déplacement de chaque plateau

**Attention.** Dans cette configuration les bornes deviennent variables. Dans tous les cas, chacun des plateaux ne peut se positionner au-delà de 7 mm de part et d'autre de la position centrale. Si la valeur, rentrée par l'utilisateur, de déplacement d'un plateau + valeur absolue de la position initialisée du plateau (mise en mémoire précédemment) est plus grande que 7 ou plus petite que -7, alors le mouvement ne peut s'effectuer. Dans l'exemple présenté (Figure 28), l'utilisateur ne peut saisir qu'une valeur comprise entre -4 et 10 mm pour le plateau supérieur et entre -11 et 3 mm pour le plateau inférieur. Sinon, la case se met en rouge et le mouvement ne s'effectue pas.

### 2.6.1.2 Entrefer

Cette partie du logiciel permet le contrôle de l'entrefer, à la fois pour la mise en place d'un échantillon et/ou pour effectuer un essai à un entrefer fixe souhaité. Le plateau inférieur est fixe, seul le plateau supérieur est verticalement mobile. Deux flèches (**montante** et **descendante**) permettent de le contrôler manuellement et un bouton permet de faire monter directement le plateau supérieur à sa **position maximale**. Le curseur gris indique la position en temps réel du plateau supérieur et donc de l'entrefer, position variant entre 0 et 5 mm.



Figure 29 – Fonctions de pilotage de l'entrefer

Avant tout essai et mise en place d'un échantillon, il est indispensable d'initialiser les



plateaux de façon à obtenir avec précision la valeur d'entrefer souhaité. Cette initialisation s'effectue avec les lamelles de l'essai à réaliser placées sur leur plateau respectif. Dans le cas de l'utilisation d'un objectif à immersion, il faut veiller à ne pas oublier de déposer la goutte d'eau (ou d'huile) avant de positionner les lamelles et d'effectuer l'initialisation. Une fois ces précautions prises, il suffit de cliquer sur **Init** pour lancer l'initialisation. Le plateau supérieur vient au contact de son homologue inférieur puis revient à position maximale. Cette initialisation présente l'avantage pour l'utilisateur d'utiliser des lames ou lamelles d'épaisseur variable.

### 2.6.1.3 Déformation

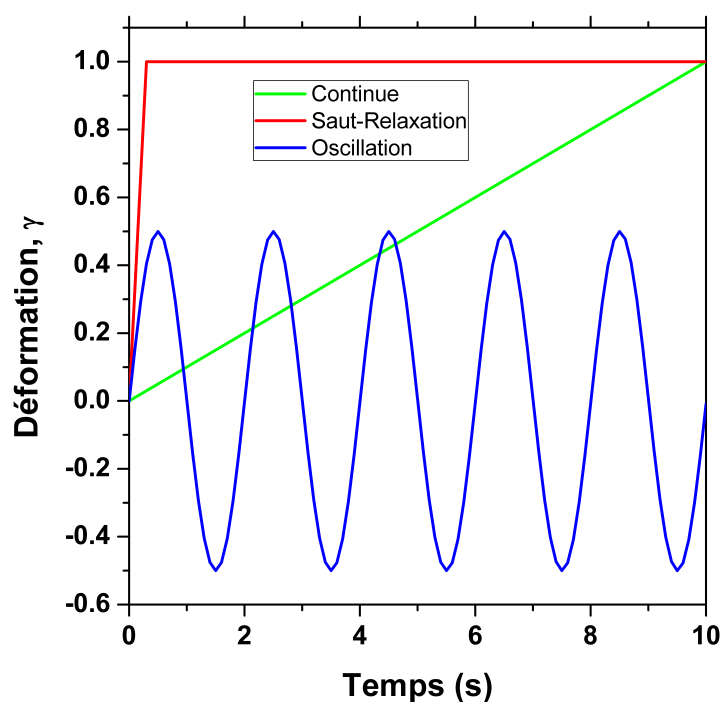


Figure 30 – Exemple de déformations possibles avec la cellule d'observation sous cisaillement

Les 3 modes de déformations possibles sont : *Continue*, *Saut-Relaxation* et *Oscillation*.

- Déformation continue : 2 plateaux en mouvement opposé et déformation linéaire au cours du temps (Figure 30, courbe verte). **Les variables sont l'amplitude de chaque plateau et le temps de l'expérience ;**
- Saut-Relaxation : 2 plateaux imposant un brusque saut de déformation en sens opposé par l'intermédiaire d'une amplitude et d'une vitesse définies pour chaque plateau (Figure 30, courbe rouge). **Les variables sont l'amplitude de chaque plateau.** Le temps est fixé à 0 s, c'est-à-dire la vitesse maximale de réponse des moteurs ;

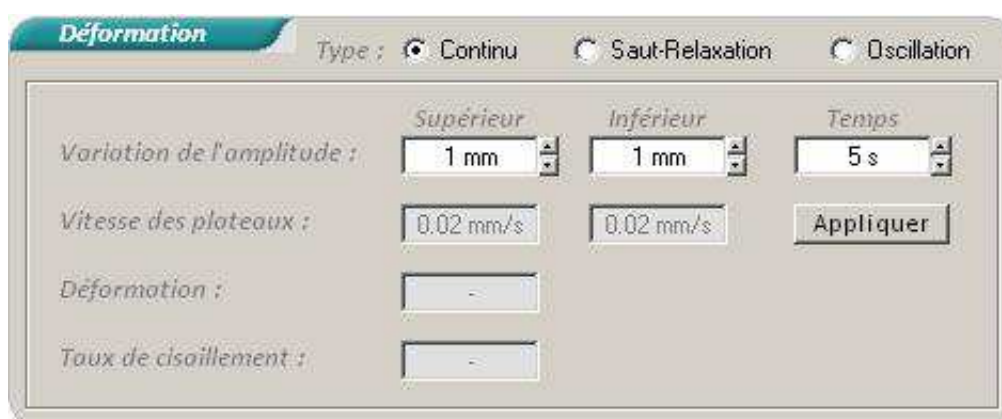


Figure 31 – Fonctions et modes de déplacement des plateaux

- Oscillation : déformation suivant une loi sinusoïdale, avec **contrôle de l'amplitude, de la fréquence du signal et du temps d'expérience** (Figure 30, courbe bleue). L'oscillation peut être effectuée soit avec le plateau supérieur, soit avec le plateau inférieur. Dans les 2 cas, un seul plateau est mobile car les mouvements d'oscillation sont généralement de faible amplitude ce qui permet de conserver une image dans la fenêtre d'observation.

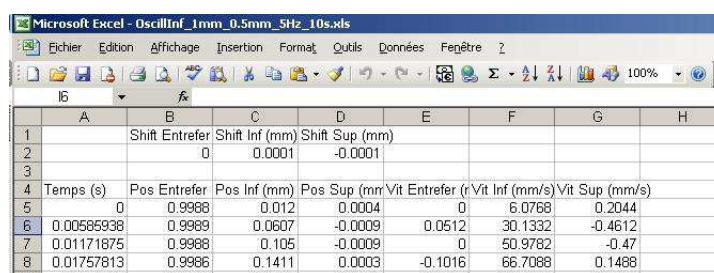
Le bouton **Appliquer** sert à lancer le mouvement. À la fin de chaque essai, un fichier Excel (Microsoft, USA) contenant les données relatives à la dernière expérience est automatiquement généré. Une fenêtre s'ouvre et demande l'enregistrement de ce fichier.

### 2.6.2 Acquisition des données

Un exemple de fichier type créé est donné dans la figure 32. Il contient des séries de données relatives à l'essai. La carte de commande Galil DMC-4030 permet l'acquisition simultanée d'environ 15 000 données. Dans un premier temps, pour vérifier le bon fonctionnement des moteurs et valider la cohérence entre valeurs imposées et valeurs effectives, nous avons enregistré 7 variables : le temps (s), les positions respectives de l'entrefer et des plateaux inférieur et supérieur (mm) et les vitesses respectives de l'entrefer et des plateaux inférieur et supérieur ( $\text{mm.s}^{-1}$ ). Chaque variable possède donc environ 2 000 valeurs enregistrables et la carte d'acquisition gère l'échantillonnage. À terme, il sera possible de réduire le nombre de variables et permettre un échantillonnage sur un plus grand nombre de valeurs. La carte de commande gère elle-même l'échantillonnage des valeurs enregistrées en fonction du temps d'acquisition.

### 2.6.3 Contrôle et régulation de la température

Développé en interne par Bertrand HEYD (IR, AgroParisTech, Massy) et Richard ROCCA (IR, AgroParisTech, Massy), un programme permet de générer des rampes de chauffe et/ou de refroidissement. À l'aide d'une méthode dite de boucle ouverte, la fonction de transfert a été déterminée puis les paramètres PI ont été calculés grâce au modèle de Broïda. Dans



|   | A          | B              | C              | D              | E                | F              | G              | H |
|---|------------|----------------|----------------|----------------|------------------|----------------|----------------|---|
| 1 |            | Shift Entrefer | Shift Inf (mm) | Shift Sup (mm) |                  |                |                |   |
| 2 |            | 0              | 0.0001         | -0.0001        |                  |                |                |   |
| 3 |            |                |                |                |                  |                |                |   |
| 4 | Temps (s)  | Pos Entrefer   | Pos Inf (mm)   | Pos Sup (mm)   | Vit Entrefer (r) | Vit Inf (mm/s) | Vit Sup (mm/s) |   |
| 5 | 0          | 0.9988         | 0.012          | 0.0004         | 0                | 6.0768         | 0.2044         |   |
| 6 | 0.00585938 | 0.9989         | 0.0607         | -0.0009        | 0.0512           | 30.1332        | -0.4612        |   |
| 7 | 0.01171875 | 0.9988         | 0.105          | -0.0009        | 0                | 50.9782        | -0.47          |   |
| 8 | 0.01757813 | 0.9986         | 0.1411         | 0.0003         | -0.1016          | 66.7088        | 0.1488         |   |

Figure 32 – Capture d'écran d'un fichier résultant d'un essai

la méthode de boucle ouverte, on impose un créneau de puissance et on suit l'évolution de la température jusqu'à l'état d'équilibre. Différents créneaux ont été imposés en fonction du débit d'eau circulant dans le refroidisseur en cuivre et les paramètres PI choisis correspondent au meilleur compromis. L'utilisateur programme le profil de température souhaité au cours du temps dans un fichier Excel, puis une interface TCL (Tool Command Language) permet de contrôler la régulation de la température. Les valeurs sont enregistrées au cours du temps de même que les consignes. Le bon fonctionnement de cette régulation et la calibration par rapport à la température au sein d'une matrice sont décrits dans la Partie I chapitre 3, ci-après.

## 2.7 Bilan de la gestion du projet

Développer notre dispositif d'observation sous cisaillement avec les contraintes imposées (mécaniques, optiques et financières) a relevé d'une véritable gestion de projet et de compétences pluridisciplinaires. Pour cela, nous nous sommes appuyés sur l'expertise et les compétences en termes d'instrumentation à façon et de bureau d'étude de Claude VIZCAINO et sa société CAD Instruments (Les Essarts-le-Roi (78), France) mais aussi sur l'apport de compétences internes et externes. Lazhar BENYAHIA (Pr, Univ. du Maine, Le Mans) et Jean-Marie HERRY (IE, INRA, Massy) nous ont apporté de nombreux éléments de réflexion sur l'instrumentation en intégrant chacun leur domaine de compétences, à savoir la physico-chimie et la rhéologie pour le premier et la microscopie pour le second. Bertrand HEYD et Richard ROCCA sont aussi intervenus dans ce projet pour le développement de la fonction thermique de la cellule d'observation sous cisaillement. Ce travail a été l'occasion d'incessants allers-retours entre les diverses compétences de façon à trouver le meilleur compromis répondant aux aspects rhéologiques, mécaniques, optiques, informatiques et financiers.

Du point de vue financier, ce projet fait partie intégrante d'un appel d'offre auprès de la région Ile-de-France et du département Essonne. À partir du budget alloué par la région Ile-de-France (30 k€ TTC) et le département Essonne (30 k€ TTC), nous avons dédié un premier montant de 40 k€ TTC au développement d'un prototype, consacré à l'achat de matériels (platines motorisées, électronique) et la facturation de la prestation effectuée par CAD Instruments. Cette prestation se décompose en 2 parties :

1. une pré-étude qui avait pour but l'accompagnement pour la définition du cahier des

charges et l'évaluation de la faisabilité du projet ;

2. une étude-conception qui a abouti à l'intégration des divers éléments de la cellule et la livraison d'un prototype fonctionnel.

À titre de comparaison, le développement de la cellule de cisaillement de Wu *et al.* (2007) a nécessité plus de 150 k€ de développement, hors salaires. Le premier prototype développé étant fonctionnel et prometteur, la somme restante ( $\approx 20$  k€) a été consacrée à l'optimisation de cette première version et en particulier au développement en deux temps du logiciel de pilotage. De plus, l'utilisation du microscope confocal a nécessité de nombreuses heures, représentant à la fois de la formation et de l'expérience sur l'outil mais aussi les heures nécessaires à la conception mécanique de la cellule et à son utilisation.

Les dépenses réalisées pour le développement du prototype sont récapitulées dans le tableau 3 et détaillées en Annexe A, p. 137.

Tableau 3 – Récapitulatif des dépenses engendrées pour la conception de la cellule d'observation sous cisaillement

| Objet                                       | Entreprise      | HT (€)           | TTC (€)          |
|---------------------------------------------|-----------------|------------------|------------------|
| Motorisation + Interface Homme-Machine      | -               | 27 939.00        | 33 415.04        |
| Pré-étude* + Étude* + Conception*           | CAD Instruments | 15 000.00        | 17 940.00        |
| Microscopie confocale*                      | INRA            | 1 875.00         | 2 242.50         |
| Matériels électriques / électroniques       | Divers          | 1 622.70         | 1 955.43         |
| Collaboration - Valorisations scientifiques | Divers          | 1 601.56         | 1 915.47         |
| Ordinateur portable                         | INRA            | 1 082.00         | 1 294.00         |
| <b>Total</b>                                |                 | <b>49 120.26</b> | <b>58 762.51</b> |

\* : il est important de noter que le chiffrage financier de ces parties correspond aux frais réellement engagés mais rentre dans le cadre de conventions de recherche. Leur coût respectif peut être considéré comme « faible » par rapport à un développement dans le cadre d'une prestation scientifique.

## 2.8 Conclusion : un dispositif opérationnel

L'étude des relations propriétés-structures de systèmes alimentaires représente un axe fort du laboratoire. De façon à progresser dans la compréhension des mécanismes de structuration de ces systèmes complexes, nous avons conçu un nouvel outil d'observation sous cisaillement adapté à un microscope confocal. Cet outil, cellule d'observation microscopique sous cisaillement entre 2 plans parallèles, a été breveté et nommé RheOptiCAD<sup>®</sup> en vue d'une phase de commercialisation à court terme. Ce dispositif reproduit les conditions thermo-mécaniques classiquement rencontrées en rhéologie tout en offrant la possibilité d'observer la microstructure de

différents ingrédients au sein d'une matrice complexe. L'utilisation d'un microscope confocal permet une acquisition des images dans le temps et/ou dans l'espace. Un logiciel de pilotage et d'acquisition des données simplifie son utilisation tout en s'assurant de son bon fonctionnement. Cette cellule répond parfaitement à des critères tels qu'une adaptabilité sur d'autres microscopes, une simplicité d'utilisation ou encore un encombrement limité. Avant de démarrer l'expérimentation sur des systèmes complexes, nous avons vérifié le bon fonctionnement de la cellule dans un premier temps en travaillant sans échantillon et ensuite en travaillant avec un système modèle.

## Chapitre 3

# Validation du prototype conçu

La validation de la cellule de cisaillement a été effectuée en 2 phases. La première a consisté à utiliser la cellule sans échantillon de façon à vérifier d'une part les propriétés mécaniques des platines (planéité et parallélisme) et d'autre part l'asservissement des moteurs. Dans un second temps, une phase d'utilisation avec un échantillon modèle a permis de valider le bon fonctionnement de la cellule et d'ajuster les paramètres optiques de l'observation au microscope confocal.

### 3.1 Planéité et parallélisme

Avant tout mouvement de déformation, la planéité et le parallélisme des 2 plateaux formant l'entrefer nécessite une phase de validation. Cette dernière a été effectuée de façon optique dans des conditions réelles d'utilisation mais avec de l'air comme échantillon dans l'entrefer. Deux lamelles de microscopie ont été mises en place par dépression et un entrefer de  $500\text{ }\mu\text{m}$  a été défini après initialisation. L'idée était d'aller observer les différentes réflexions optiques des lamelles de microscopie sur toute la gamme d'amplitude des 2 plateaux. À l'aide d'un objectif à air  $\times 10$ , 0.3 O.N. (Leica, Allemagne) et d'un laser He/Ne 543 nm, les plans confocaux correspondant aux réflexions à l'interface air-verre ont été déterminés. Pour un entrefer donné, quatre réflexions correspondant aux 2 faces de chaque lamelle sont observables. Pour 3 positions de plateaux ( $x = -6$ ; 0 et 6 mm), une série d'images ( $512 \times 32$  pixels) en  $z$  a été enregistrée. L'intervalle entre chaque image est de  $1\text{ }\mu\text{m}$ . En juxtaposant la série d'images puis en traçant le profil d'intensité de la série (Figure 33), on repère très bien les 4 réflexions, correspondant chacune à un maximum d'intensité. Le nombre d'images entre les 2 réflexions centrales fournit la valeur, en  $\mu\text{m}$ , de l'entrefer mesuré optiquement.

En répétant trois fois cette méthodologie pour les positions centrales et extrêmes ( $x = -6$ ; 0 et 6 mm et  $x = -7$ ; 0 et 7 mm respectivement pour les plateaux inférieur et supérieur), on trace la  $z$ -position des plateaux en fonction de leur  $x$ -position (Figure 34). L'entrefer déterminé optiquement correspond bien à un entrefer de  $500\text{ }\mu\text{m}$  pour chacune des  $x$ -positions. On note

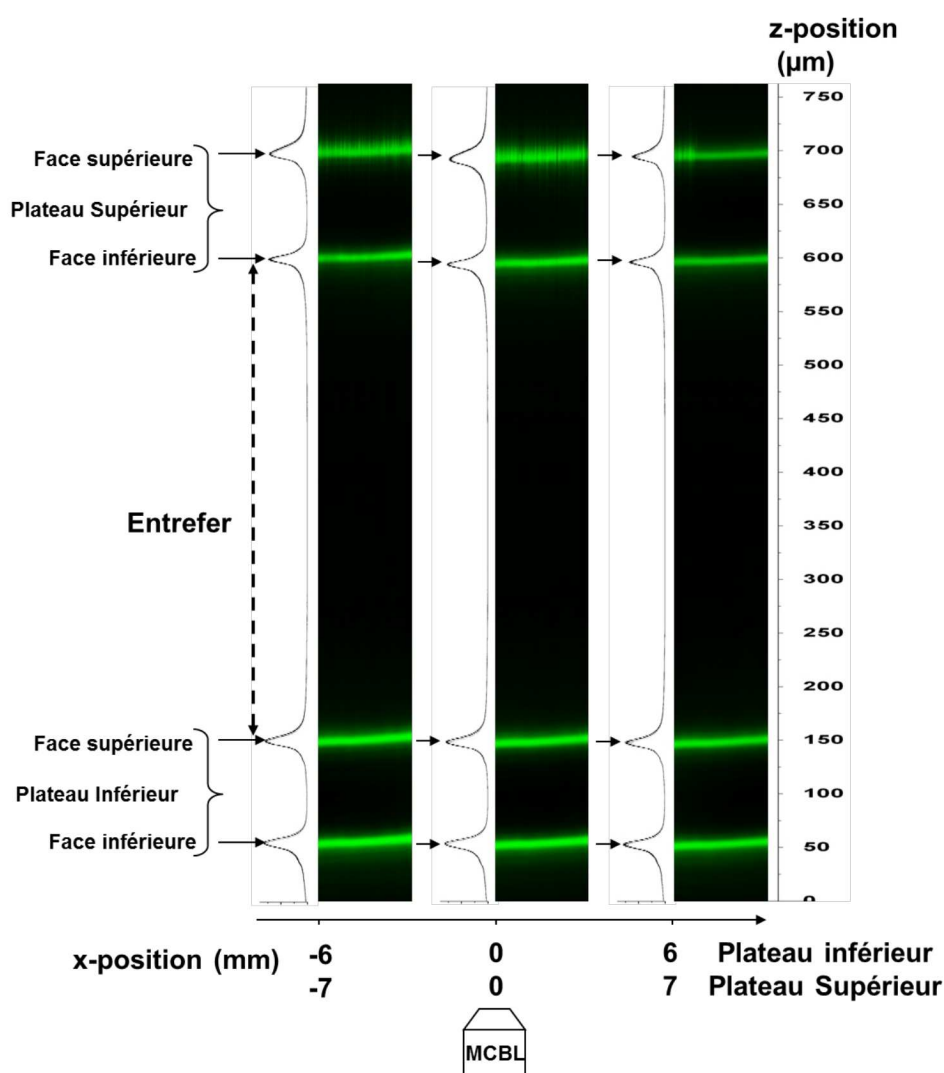


Figure 33 – Validation de la planéité et du parallélisme par méthode optique  
 Pour chaque position, 800 images sont juxtaposées et le profil d'intensité est tracé à gauche. Chaque maximum d'intensité, indiqué par une flèche, correspond à une réflexion

que sur un trajet total de plus de 10 mm, la position des plateaux ne varie que très peu, de l'ordre de  $5 \mu\text{m}$ , soit 1% de l'entrefer. Le choix d'utiliser la dépression pour fixer les lamelles aux bâtis en aluminium permet donc une parfaite répétabilité du parallélisme et de la planéité des plateaux. On s'affranchit aussi de l'épaisseur variable des lamelles, commercialement vendues entre 130 et  $160 \mu\text{m}$  d'épaisseur en utilisant la fonction d'initialisation de l'entrefer. Toutes les mesures ont été effectuées à  $20^\circ\text{C}$ .

Cette vérification est systématiquement effectuée avant une série d'expériences. Si la planéité et le parallélisme des plateaux venaient à ne pas être assurés, l'utilisateur pourra utiliser 3 micro-vis disposées sur chaque plateau pour récupérer ces défauts. De façon générale, nous avons observé une très bonne reproductibilité de ces 2 critères lorsque la cellule est utilisée « en routine » et les micro-vis n'ont été utilisées que lors de la première utilisation de la cellule pour établir la planéité et le parallélisme puis lors de l'utilisation de la cellule après un transport.

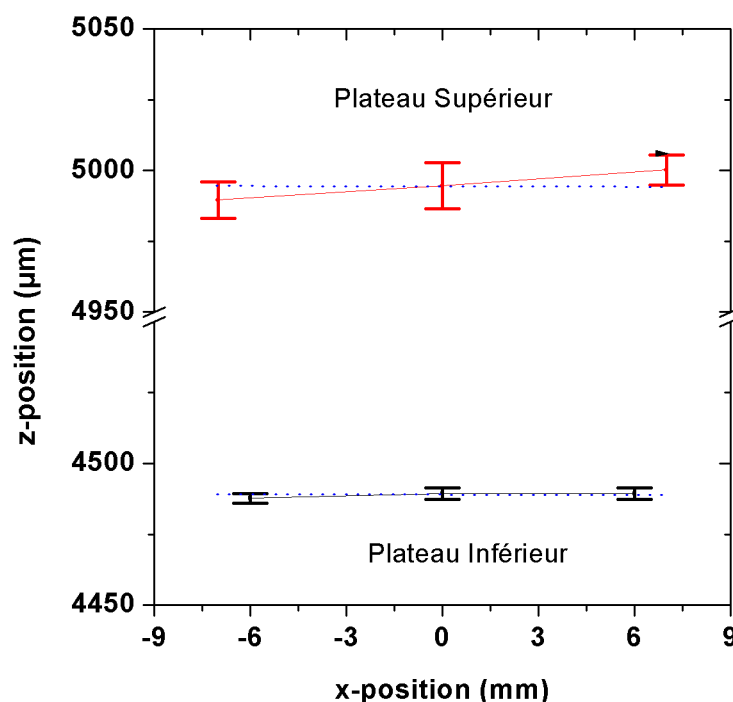


Figure 34 – Position en  $z$  de chacun des plateaux en fonction de leur position en  $x$   
 Entrefer = 500  $\mu\text{m}$ . 3 répétitions avec 3 paires de lamelles différentes  
 Les pointillés bleus représentent la planéité parfaite

## 3.2 Asservissement et contrôle des moteurs

Les premières utilisations de la cellule s'effectuent sans échantillon et consistent à déplacer les plateaux selon les différents modes de déformation possibles. L'objectif est de valider son bon fonctionnement général, de comparer les mouvements effectifs des plateaux en fonction de la consigne imposée, de s'assurer des conditions de sécurité mises en place dans le logiciel et surtout de s'approprier la cellule. Ces étapes ont été effectuées hors microscope.

Dans toutes les figures suivantes, sauf indication contraire, les courbes positives correspondent à la position du plateau supérieur et les courbes négatives à la position du plateau inférieur. Par ailleurs, le terme « Position », correspondant à l'axe des ordonnées, est synonyme d'amplitude. Il a été préféré car les courbes tracées résultent des valeurs d'un codeur, enregistrant la position de chaque plateau au cours du temps.

### 3.2.1 Première configuration d'asservissement

Lors de la première livraison du logiciel, un seul jeu de gains statiques ( $k_P$ ,  $k_I$  et  $k_D$ ) et dynamiques ( $k_1$ ,  $k_2$  et  $k_3$ ) a été défini pour tous les moteurs. Les gains statiques sont relatifs à l'asservissement en position de la platine et les gains dynamiques permettent d'ajuster l'asservissement des vitesses. Une série d'essais « à vide », c'est-à-dire sans matière au sein de



l'entrefer, a été réalisée pour chaque type de déformation. Pour tous ces essais, l'entrefer a une valeur fixée à 1 mm.

En balayant une gamme d'amplitude de 0.01 à 5 mm par plateau, on effectue une série de saut-relaxation (Figure 35a). Ces tests permettent d'observer que, dans le cas de la plus grande déformation ( $\gamma = 10$ ), le temps nécessaire pour atteindre la consigne est de 250 ms maximum. Cette valeur est du même ordre de grandeur que celles observées pour des moteurs de rhéomètres ou d'autres systèmes de cisaillement. En revanche, en regardant le comportement des plateaux aux temps très courts (0 - 0.02 s, Figure 36a), on remarque que les moteurs ne démarrent pas simultanément. Ces écarts peuvent être dus à une mauvaise configuration des gains en lien avec l'inertie de chacun des plateaux. En effet, lors de la conception mécanique initiale, la platine motorisée de l'entrefer « portait » la platine du plateau supérieur. Il a vite été mis en évidence que le contrôle de l'entrefer par translation verticale était difficile dans cette configuration mécanique. Pour pallier ce problème, les 2 platines ont été inversées, le plateau supérieur « portant » maintenant la platine de l'entrefer.

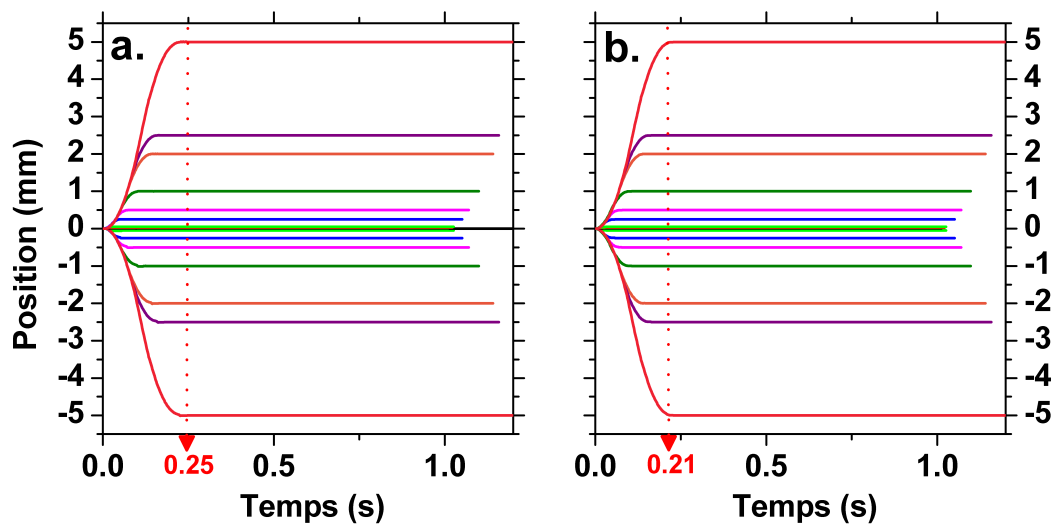


Figure 35 – Comparaison des courbes de saut-relaxation pour les 2 configurations de gains  
(a) 1<sup>ère</sup> configuration ; (b) 2<sup>nde</sup> configuration  
Les courbes correspondent à des amplitudes différentes de déplacement

Dans le cas du mouvement continu, une gamme de déformation ( $\gamma = 0.01 ; 0.1 ; 1$  ou  $10$ ) a été testée pour 3 taux de cisaillement ( $\dot{\gamma} = 0.1 ; 1$  ou  $10 \text{ s}^{-1}$ ). Les courbes correspondant aux positions des plateaux au cours du temps sont présentées dans les figures 37a, 37c, 37e. Des décalages de position au démarrage de plateaux, des incréments non similaires et trop importants, en particulier pour le plateau inférieur sont observés. L'augmentation de la vitesse semble réduire ces écarts, mais des artéfacts subsistent toujours.

Enfin, quelques essais d'oscillation du plateau supérieur ont été effectués, en variant les amplitudes et les fréquences d'oscillation. Les mouvements effectifs sont trop saccadés, par-

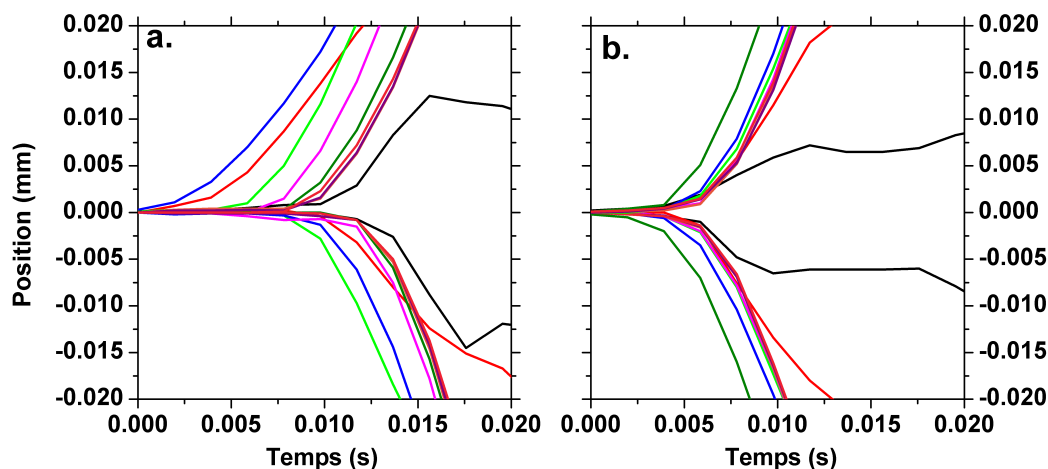


Figure 36 – Comparaison des courbes de saut-relaxation pour les 2 configurations de gains  
Zoom 0-0.02 s

(a) 1<sup>ère</sup> configuration ; (b) 2<sup>de</sup> configuration

Les courbes correspondent à des amplitudes différentes de déplacement

ticulièrement à faible fréquence ( $f = 0.1$  Hz, Figure 38a). En augmentant la fréquence, ces discontinuités sont lissées mais existent toujours. De plus, sur une période de 10 s d'oscillation, d'une part l'amplitude n'est jamais vraiment atteinte et d'autre part, elle ne reste pas constante au cours de l'oscillation (Figure 38b).

### 3.2.2 Seconde configuration d'asservissement

Au regard des résultats de positionnement, de dynamique de vitesse et de synchronisation des platines après la première configuration, une seconde phase d'asservissement a été effectuée. La principale modification de cette seconde configuration consiste à établir 3 jeux de gains différents selon les vitesses et les amplitudes de déplacement des platines motorisées : *low*, *medium*, *high*. Les valeurs des gains statiques ( $k_P$ ,  $k_I$  et  $k_D$ ) et dynamiques ( $k_1$ ,  $k_2$  et  $k_3$ ) varient selon l'amplitude et la dynamique choisies par l'utilisateur. Ces modifications ont aussi pris en considération les contraintes mécaniques et en particulier le poids porté par la platine supérieure. La possibilité d'effectuer des oscillations avec le plateau inférieur de façon à déformer des systèmes et les observer dans un plan focal plus proche de la lamelle inférieure en fonction des caractéristiques de l'objectif (immersion et distance de travail), a également été intégrée.

Dans le cas des déformations de type saut-relaxation, la seconde configuration améliore légèrement le temps nécessaire pour atteindre la consigne ( $t = 0.21$  s pour  $\gamma = 10$ , Figure 35). En regardant de plus près entre 0 et 0.02 s (Figure 36b), la seconde configuration permet surtout d'optimiser considérablement la synchronisation des 2 platines au démarrage.

De la même façon que pour les mouvements de saut-relaxation, dans le cas de déformations continues, les différences entre les 2 configurations se voient principalement aux temps très

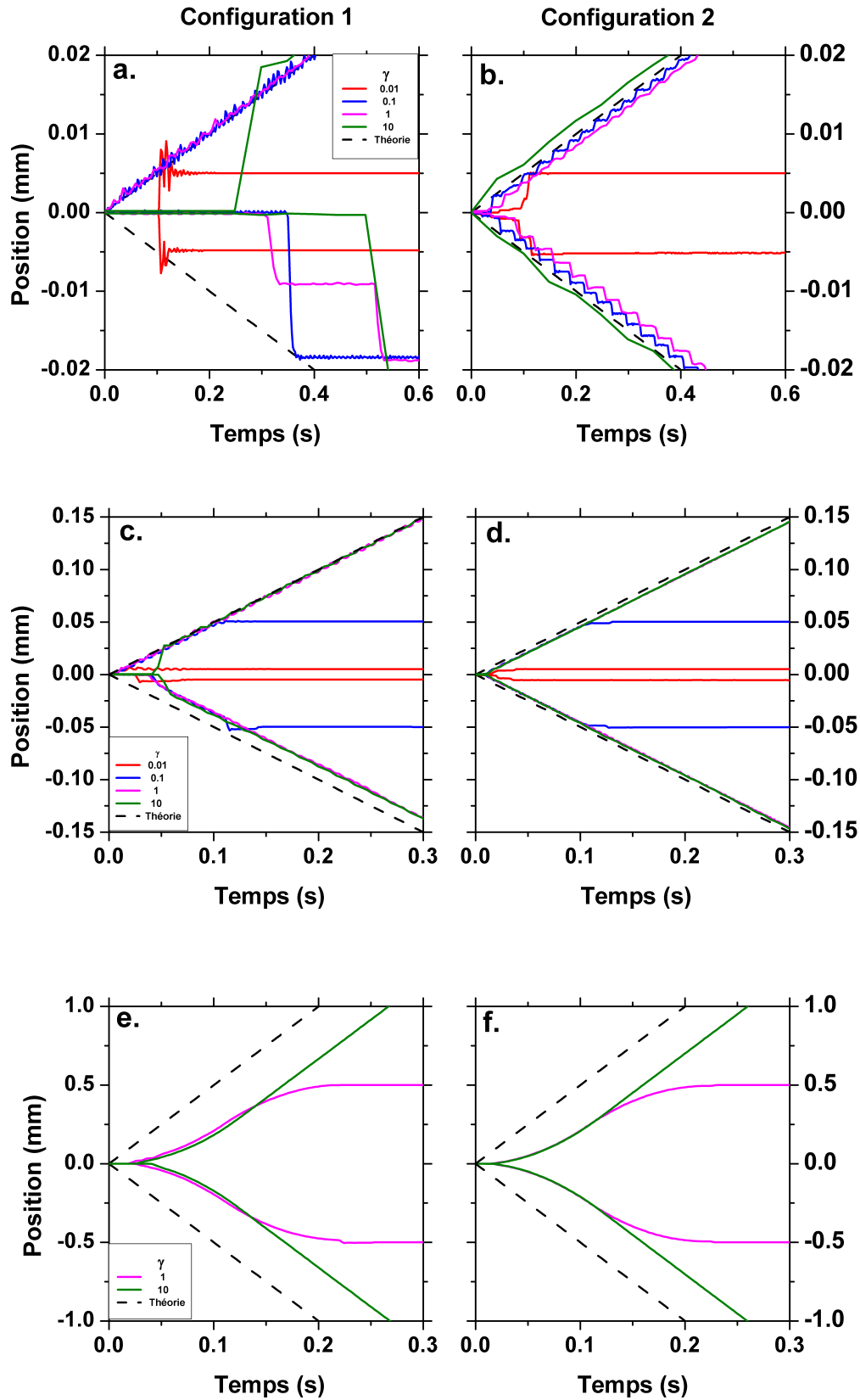


Figure 37 – Comparaison des courbes de déformations continues en fonction de la configuration des moteurs (a,c,e) 1<sup>ère</sup> configuration ; (b,d,f) 2<sup>de</sup> configuration  
 (a,b)  $\dot{\gamma} = 0.1 \text{ s}^{-1}$  ; (c,d)  $\dot{\gamma} = 1 \text{ s}^{-1}$  ; (e,f)  $\dot{\gamma} = 10 \text{ s}^{-1}$

faibles. Les platines ont des mouvements beaucoup moins saccadés, les pas de déplacements sont plus fins et la synchronisation des mouvements entre les 2 plateaux est optimale. Les figures 37b, 37d, 37f montrent l'évolution de la précision du positionnement des platines entre la première et la seconde configuration. Les 2 plateaux démarrent simultanément, quelles que soient les gammes de déformation et de cisaillement choisies. L'évolution de la position au cours du temps est plus précise, due à un pas plus fin qui réduit considérablement l'impression de saccades observée lors de la première configuration.

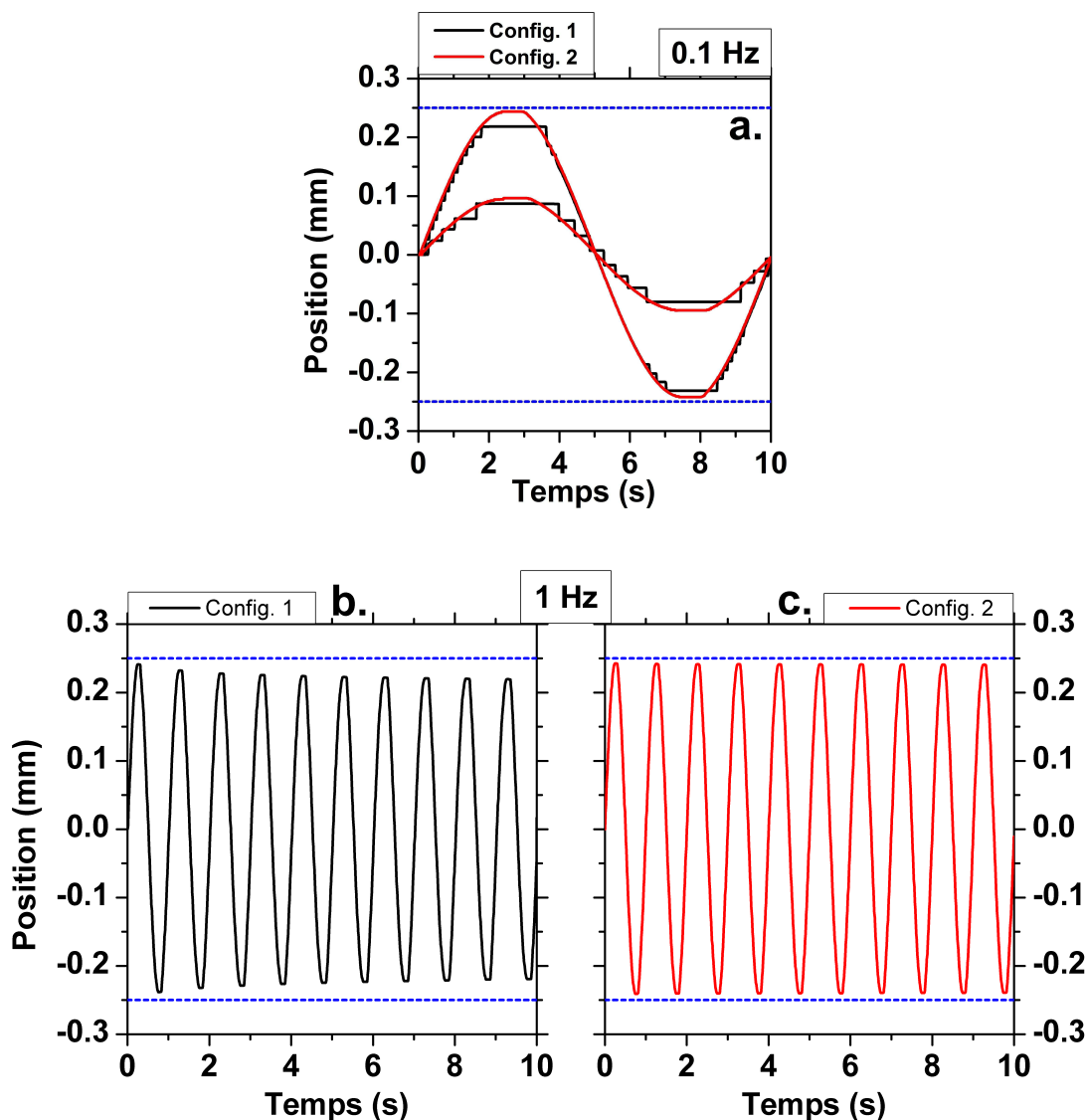


Figure 38 – Comparaison des oscillations en fonction la configuration des moteurs pour différentes fréquences (a)  $f = 0.1$  Hz ; (b,c)  $f = 1$  Hz  
 — 1<sup>ère</sup> configuration ; — 2<sup>de</sup> configuration

Enfin, une meilleure configuration des moteurs a permis d'affiner les mouvements d'oscillations du plateau supérieur. Les « escaliers » observés aux faibles fréquences et amplitudes lors de la première configuration ont disparu (Figure 38a). Les oscillations sont plus stables dans le temps (Figure 38c), elles atteignent leurs consignes d'amplitude et de fréquence et

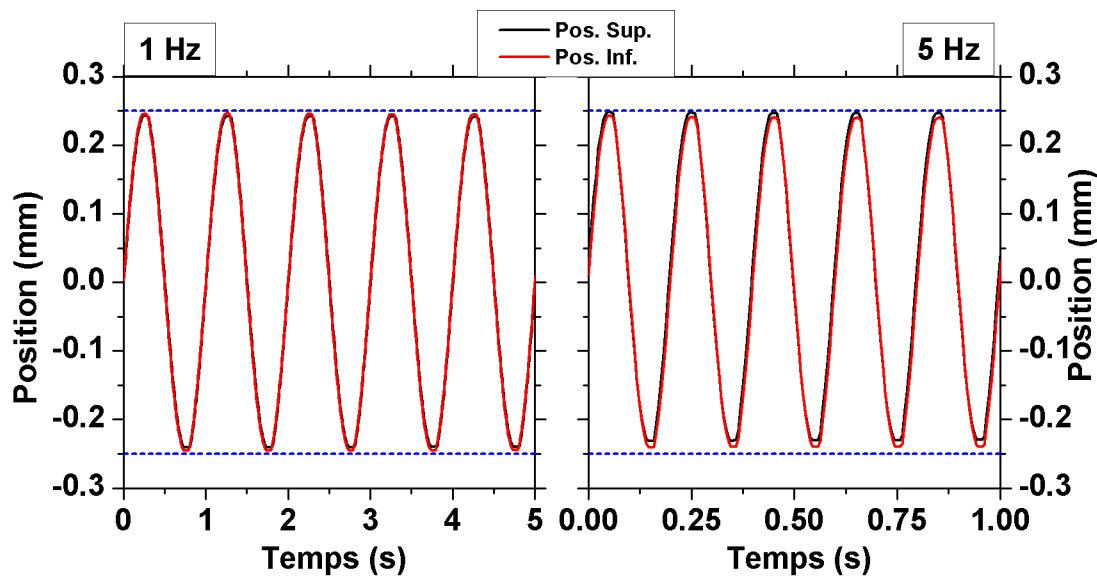


Figure 39 – Positionnement des plateaux supérieur et inférieur au cours des oscillations pour 2 fréquences d'oscillation, 1 et 5 Hz

ne présentent pas d'écroulement au niveau de l'amplitude maximale. De plus, les oscillations du plateau inférieur sont parfaitement synchrones avec celles du plateau supérieur. Aucun déphasage n'apparaît au cours du temps, les courbes sont superposées pour toutes fréquences ou amplitudes (Figures 39). Toutefois, aux fortes fréquences ( $\geq 5$  Hz), un léger décalage est observé entre les 2 plateaux. Une configuration des moteurs plus fine pour ces fréquences peut réduire ces différences.

Ces étapes de validation des moteurs et de leurs mouvements étaient indispensables. La configuration 2 permet de s'assurer des bons mouvements des platines de translation imposant la déformation et le cisaillement. Les différences entre valeurs imposées et valeurs effectives sont minimales. Les temps de réaction et les pas pourraient encore probablement être affinés puisqu'il n'y a pas de limites par rapport aux capacités des platines motorisées. Cependant ce niveau de précision n'est pas nécessaire dans notre cas, l'échelle d'observation ne permettant pas de visualiser des déformations inférieures à  $5 \mu\text{m}$ .

Ensuite, une phase de mise en mouvement sur le microscope a été réalisée avec comme principal objectif la rédaction de procédures de mise en place, d'une part du prototype sur le microscope et d'autre part d'un échantillon à observer.

### 3.3 Pilotage de la température

Les paramètres PI sont définis en fonction de la puissance du module Peltier, des dimensions des plateaux, des propriétés des matériaux utilisés (aluminium) et des gammes de températures désirées. Une méthode dite de boucle ouverte a été utilisée pour trouver le meilleur compromis

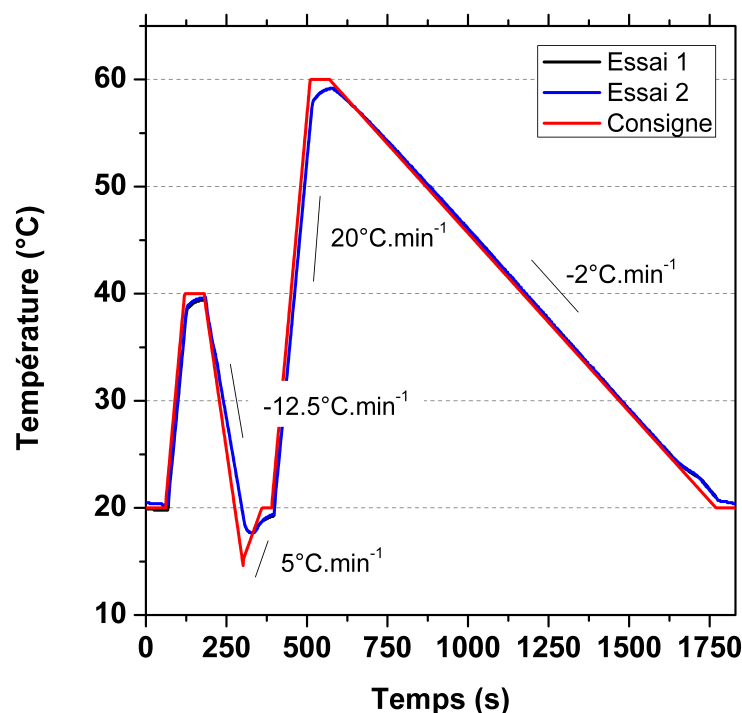


Figure 40 – Profil de régulation de température - Superposition de 2 essais (courbes bleue et noire) et comparaison à la consigne (courbe rouge)

des valeurs de PI. L'utilisateur génère lui-même, dans un fichier Excel, le profil de température désiré au cours du temps, puis l'exécute par l'intermédiaire d'un terminal TCL. La figure 40 montre un profil varié de rampe de chauffe et de refroidissement. Les profils théoriques et enregistrés sont donnés. On remarque le très bon accord entre la consigne (courbe rouge) et la valeur effective de température obtenue (courbes bleue et noire), de même que la parfaite répétabilité de la régulation. Il est intéressant de noter qu'une rampe de  $20^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$  est réalisable.

Grâce à un thermocouple de type T ( $\varnothing = 80\ \mu\text{m}$ ) placé au centre d'un entrefer de 1 mm contenant une huile PDMS, une calibration a également été effectuée. Elle consiste à comparer la température du plateau supérieure donnée par la sonde RTC  $10\text{K}\Omega$  et la température de l'échantillon. Une rampe de chauffe de  $20^{\circ}\text{C}$  à  $50^{\circ}\text{C}$ , à  $5^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ , a été réalisée puis un refroidissement et une stabilisation à  $20^{\circ}\text{C}$  pendant 30 min environ. Les différentes températures ont été enregistrées et reportées dans la figure 41. La température du plateau est toujours légèrement supérieure à celle dans le produit mais cette différence reste très faible :  $0.65^{\circ}\text{C}$  lors de la phase de chauffe puis se stabilise autour de  $0.2^{\circ}\text{C}$  lorsque la température reste constante à  $20^{\circ}\text{C}$ . On considère l'écart mesuré comme faisant partie de l'erreur de mesure, la précision d'un thermocouple étant connue de l'ordre de  $1^{\circ}\text{C}$ . Il est à noter que cette calibration a été effectuée grâce à une huile PDMS, moyen conducteur thermique. Par conséquent, un décalage légèrement plus important entre la consigne et la température de l'échantillon pourrait être

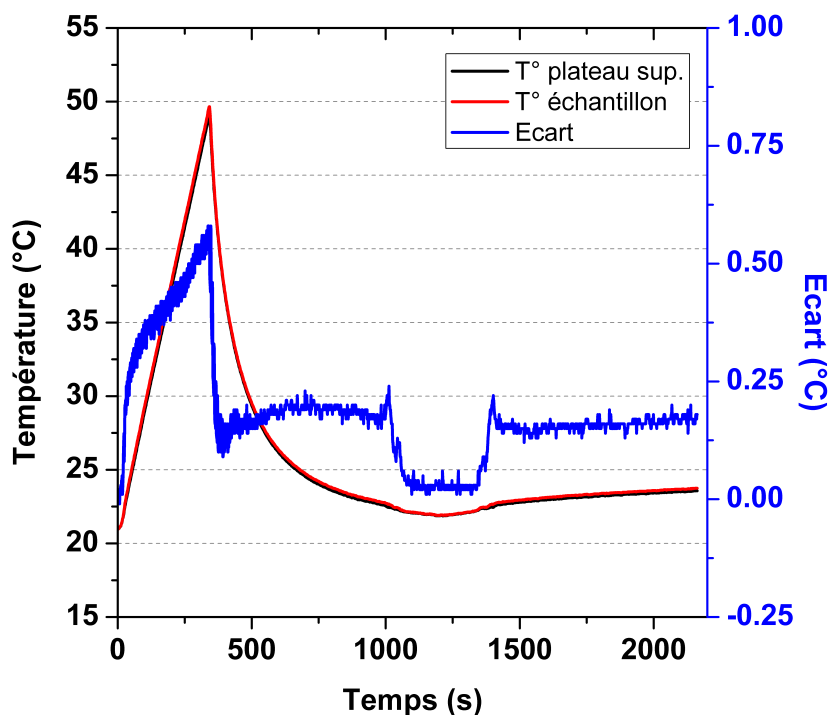


Figure 41 – Profil de température et suivi de l'écart entre la température du plateau supérieur et celle de l'échantillon PDMS. Entrefer = 1 mm.

observé dans le cas d'un système contenant par exemple de l'air, bon isolant thermique.

### 3.4 Premiers essais grâce à un système modèle

Cette étape entre aussi dans le cadre de la validation pour 2 raisons. D'une part, il s'agissait des premières expériences d'utilisation de la cellule sur le microscope permettant ainsi de vérifier la facilité d'utilisation, les protocoles de mise en place et le bon fonctionnement général de la cellule. D'autre part, il s'agissait de mettre en place des paramètres d'observation en présence d'un échantillon de consistance moyenne par rapport à la gamme visée dans le cahier des charges (voir Partie I, chapitre 2). Ces essais ont eu pour objectifs de définir différents paramètres d'acquisition d'images mais aussi de vérifier les propriétés de ZVP, la planéité et le parallélisme ou encore la bonne réponse des plateaux aux mouvements imposés en présence d'un échantillon. Les premières expériences d'observation sous cisaillement ont été effectuées à l'aide d'un système modèle non-alimentaire. Un gel transparent de PMMA contenant des microsphères ( $\varnothing = 1 \mu\text{m}$ ) fluorescentes (Bonnecaze et Cloitre, 2010) a été placé au sein d'un entrefer de  $500 \mu\text{m}$ . Pour ces essais, un objectif à eau  $\times 40$  (0.8 O.N., distance de travail = 3.3 mm) et un laser Ar 488 nm ont été utilisés. Les images ( $512 \times 64$  pixels) ont été enregistrées au cours du temps soit dans le plan vitesse-vorticité ( $xy$ ), soit dans le plan vitesse-gradient de vitesse ( $xz$ ). Les films ont été reconstitués grâce à ImageJ (version 1.45, National Institute of Health,

Bethesda, Md, USA).

Nous avons tout d'abord pu vérifier l'immobilité des particules situées dans un champ de vitesse nulle, et ce pour différentes vitesses de cisaillement ou déformations. De plus, lors d'une déformation linéaire, l'observation dans un plan focal quelconque montre uniquement un mouvement des microsphères dans la direction de la vitesse ( $x$ ). Cette observation confirme la planéité et le parallélisme des plateaux d'une part et fournit une information quant au non-glissement de la matière en contact avec la lamelle d'autre part.

Dans un second temps, nous avons fait varier le ratio de vitesses entre le plateau inférieur et supérieur ( $V_{inf}/V_{sup}$ ).

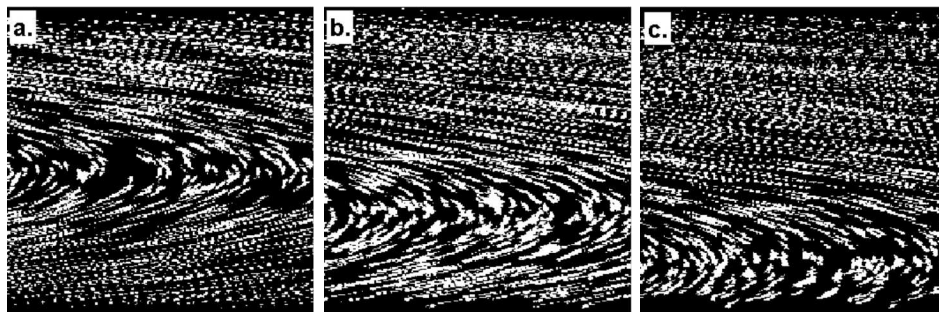


Figure 42 – Images dans le plan vitesse-gradient pour différents ratios  $V_{inf}/V_{sup}$  : 1 (a), 0.36 (b) et 0.13 (c)  
Entrefer = 500  $\mu\text{m}$  et la hauteur de l'image correspond à l'entrefer

Les microsphères contenues dans le système modèle décrivent une parabole lorsqu'elles sont observées dans le plan vitesse-gradient (Figure 42). La position du ZVP correspond à la ligne où les particules ne bougent pas, c'est-à-dire le sommet de la parabole. Lorsque la vitesse des 2 plateaux est égale, on vérifie bien que le ZVP se situe au centre de l'entrefer (Figure 42a). Sa position est facilement modifiable en diminuant le rapport des vitesses c'est-à-dire en augmentant la vitesse du plateau supérieur et en diminuant celle du plateau inférieur. Le ZVP se rapproche donc de la lamelle inférieure (Figures 42b, 42c). Toujours dans le cas d'un entrefer de 500  $\mu\text{m}$ , le champs de vitesse nulle le plus proche de la lamelle a été atteint pour  $z_{ZVP} = 50 \mu\text{m}$ . Ces 3 images sont en accord avec celles obtenues par Wu *et al.* (2007) qui montrent le plan vitesse-gradient d'une dispersion pour différents rapports de vitesse mais avec un entrefer beaucoup plus faible (45  $\mu\text{m}$ ). Mais nos conditions opératoires nous ont permis d'acquérir suffisamment d'images dans la direction du gradient pour balayer un entrefer 10 fois plus grand que Wu *et al.* (2007).

Des mouvements oscillatoires ont été réalisés pour différentes fréquences et amplitudes, tout en acquérant des images au cours du temps. Un exemple d'oscillation du plateau supérieur ( $A_0 = 0.2 \text{ mm}$ ,  $f = 0.5 \text{ Hz}$ ), pour un entrefer de 700  $\mu\text{m}$  est montré dans la figure 43. L'amplitude a été choisie de façon à conserver le déplacement de certaines particules dans la taille de l'image. En traçant le signal sinusoïdal théorique ainsi que celui fourni par l'acquisition des données grâce à la carte de commande Galil DMC-4030 sur toutes les images jointes au



cours du temps, on note une parfaite superposition avec le mouvement de particules. Aucun retard ou déphasage n'a été observé dans nos conditions.

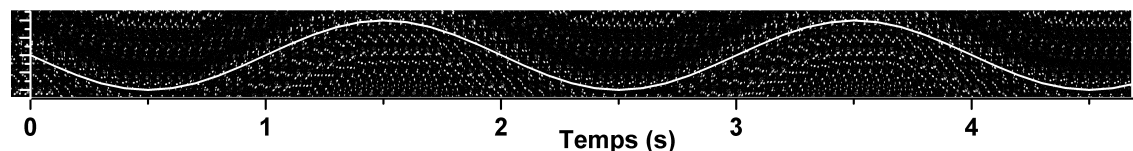


Figure 43 – Exemple d'une oscillation ( $A = 0.2 \text{ mm}$ ,  $f = 0.5 \text{ Hz}$ ) d'un microgel contenant des microsphères fluorescentes ( $\varnothing = 1 \mu\text{m}$ ) à  $T = 20^\circ \text{C}$  - Axe Y : Amplitude de déplacement du plateau inférieur au cours du temps  
Accord entre images au cours du temps et signal théorique (ligne blanche)

### 3.5 Conclusion : un dispositif fonctionnel

La validation sans échantillon des mouvements et de la régulation de température sont des étapes essentielles dans le développement et l'optimisation de notre cellule d'observation sous cisaillement. Elle permet de s'assurer que les solutions techniques mises en place fonctionnent correctement et répondent bien au cahier des charges défini. Certes, et c'est tout l'intérêt de l'instrumentation, il sera possible de poursuivre l'optimisation de certains paramètres pour obtenir une meilleure précision ou des gammes de travail plus larges par exemple. L'optimisation principale à mettre en œuvre concerne une mesure de la contrainte engendrée par la déformation. Une solution rapide à développer serait de récupérer l'intensité du courant des moteurs au cours du temps et de la déformation. Cette intensité électrique est proportionnelle à la contrainte. Une autre solution envisagée serait la mise en place d'un capteur de force surface de type piezo-électrique mais nous ne maîtrisons pas l'influence du positionnement de ce capteur sur les autres propriétés (planéité, parallélisme, déformation). Des pistes de réflexion comme l'intégration de la pression comme second paramètre thermodynamique, l'achat d'un objectif de microscopie dédié à la cellule, l'amélioration de la précision des fonctionnalités déjà existantes, le couplage et l'automatisation du pilotage de la cellule et du microscope restent d'actualité.

Néanmoins, l'outil développé est fonctionnel et répond au cahier des charges initial. Il permet d'observer des systèmes complexes, en termes de couplage mécanique et optique. Grâce à un système modèle généreusement fourni par le Pr. Michel CLOÎTRE (ESPCI ParisTech, Paris), nous avons pu effectuer les premières observations sous cisaillement. L'acquisition d'images au cours du temps permet de suivre le mouvement ou non de particules dans l'entrefer, validant ainsi les fonctionnalités de déformation du prototype conçu. Ce microgel transparent, mono-disperse et non thermo-sensible possède les propriétés optiques idéales pour s'approprier et valider la cellule d'observation sous cisaillement développée. Les milieux plus complexes que nous souhaitons observer sont plus délicats à caractériser. C'est pourquoi, pour compléter le travail de développement de la cellule, il fallait impérativement la tester avec de tels systèmes.

## **Deuxième partie**

# **Microstructures de pâtes de farine sous contraintes thermo-mécaniques**



Le développement de la cellule de cisaillement ayant nécessité un peu plus de 2 années, son utilisation avait pour principal objectif de la prendre en main, de développer des méthodologies d'utilisation, de mise en place d'échantillon, d'observation des systèmes, d'analyse de données. Nous nous sommes donc orientés vers le choix des pâtes de farine, système bien connu et maîtrisé au laboratoire et dont les connaissances reposent sur de nombreux travaux précédents. Ces travaux ont mis en exergue des comportements rhéologiques particuliers en fonction de la formulation, des hypothèses relatives aux interactions entre ingrédients ou à l'influence des paramètres procédés sur la structuration des pâtes céréalieres ou le produit fini et ses qualités organoleptiques. La préparation des échantillons est simple, rapide et reproductible. De nombreux auteurs ont déjà effectué l'observation de systèmes céréaliers à différentes échelles en utilisant de nombreux outils, de la caméra à la tomographie. Ces études ont permis d'imager la microstructure des pâtes de farine mais pas sous cisaillement.

Ce système multiphasique n'est pas le plus simple et le plus adapté à analyser par rhéoptique. Il possède de nombreuses limites parmi lesquelles son hétérogénéité, sa forte consistance, ses propriétés élastiques, son opacité ou encore sa sensibilité à tout cisaillement. Mais ce choix est voulu puisque nous souhaitons tester notre cellule de cisaillement développée dans des conditions limites pour vérifier que les réponses et solutions techniques choisies pour répondre au cahier des charges étaient pertinentes telles que :

- la puissance des moteurs pour déformer la matrice ;
- l'asservissement et le pilotage des moteurs pour ajuster le ZVP et visualiser des plans proches de l'objectif ;
- les limites de déplacement, vitesses et fréquences effectives que peut atteindre la cellule de cisaillement ;
- un objectif à immersion pour améliorer la qualité de l'observation ;
- la fonction « Température » ;
- des outils d'analyse d'images et de texture des pâtes.

L'utilisation de la cellule de cisaillement avec des pâtes de farine nous permet, entre autres, d'identifier les limites de fonctionnement et les améliorations à apporter à la cellule pour les prototypes voire les versions commerciales ultérieures.

La partie suivante (Partie II) se découpe classiquement en 3 chapitres. Dans un premier temps (Chapitre 1), un état des lieux des caractérisations rhéologiques et microscopiques des structures de pâtes de farine et de leurs corrélations sera décrit. Le chapitre 2 s'attardera à décrire les conditions opératoires utilisées pour caractériser par rhéologie puis rhéoptique les pâtes de farine choisies et l'analyse des résultats par morphologie mathématique. Enfin un dernier chapitre (Chapitre 3) présentera les résultats obtenus avant de discuter de nombreuses idées d'optimisation à tous les niveaux et des perspectives de travail indispensables au développement d'un outil complet et intégratif.

---



## **Chapitre 1**

# **État de l'art sur les pâtes de farine : microstructures et propriétés rhéologiques**

### **1.1 Pâte de farine : définition, formulation et fabrication**

Les produits céréaliers tels que ceux destinés aux produits de panification sont composés de farine, d'eau, de sel et d'un agent levant. Ces recettes comportent parfois une faible quantité d'éléments gras et/ou sucrés. La farine et l'eau sont les ingrédients principaux d'une pâte de farine. De façon simplifiée, la farine de blé est constituée d'eau (14%), de protéines (7 - 15%), d'amidon (63 - 72%), de polysaccharides non amylacés (4.5 - 5%) et de lipides (1 - 2%). Les farines utilisées dans la fabrication des produits de panification sont des farines relativement riches en protéines. Le terme « pâte à pain » est utilisé pour les pâtes contenant de la levure et « pâte de farine » pour les recettes sans levure.

La fabrication d'une pâte de farine s'effectue par mélange mécanique des ingrédients listés précédemment. Ce processus comporte 3 étapes essentielles : le pétrissage, la fermentation et la cuisson. Dans le cadre de notre étude, nous nous limiterons à la première étape, le pétrissage. L'élaboration d'une pâte à pain ou de farine a lieu au moment du pétrissage qui, par une action mécanique à l'aide d'un pétrin, assure l'homogénéisation, l'aération et la structuration de la pâte. L'homogénéisation permet la répartition des constituants et donc le contact entre eux, ce qui favorise l'hydratation de la farine. Les mouvements des bras d'un pétrin permettent d'intégrer de l'air au cours du pétrissage et donc d'aérer la pâte. Enfin, des liaisons intermoléculaires (ponts disulfures) se créent entre les chaînes de protéines (les gluténines), dépliées par l'absorption d'eau, qui s'alignent sous forme de faisceaux, conséquence du cisaillement et de l'étirement dus aux forces imposées par le pétrissage. Des liaisons intramoléculaires ont lieu au sein des gliadines, protéines qui s'enchevêtrent dans le réseau formé par les gluténines et interagissent avec celles-ci. Ces interactions forment un réseau, le réseau de gluten, dont

la tenue est, par ailleurs, due à des liaisons non covalentes telles que les liaisons hydrogènes, hydrophobes ou à des enchevêtrements entre les chaînes (Blokma, 1990).

Les 3 actions simultanées (homogénéisation, aération et structuration) aboutissent en fin de pétrissage à un mélange cohésif, macroscopiquement homogène (Figure 44a) et microscopiquement constitué d'une dispersion de bulles d'air et de grains d'amidon emprisonnés dans une matrice protéique (Figure 44b).

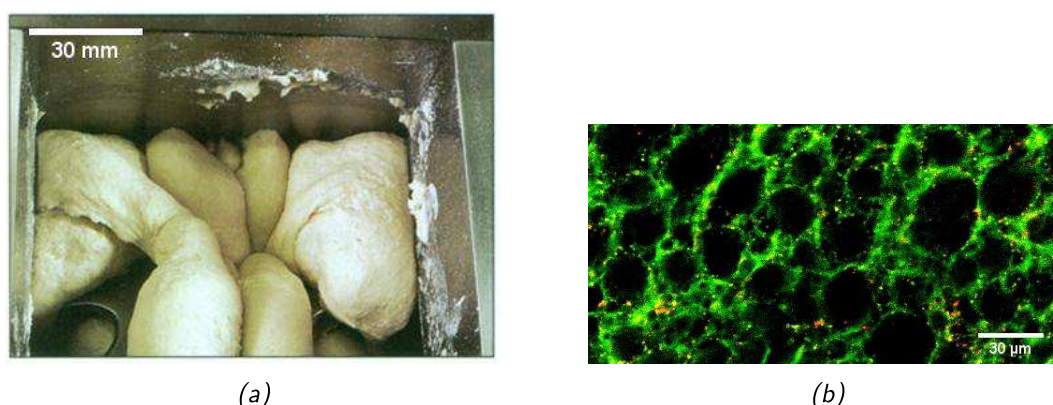


Figure 44 – Exemple d'une pâte à pain à l'échelle macroscopique et microscopique  
 (a) Pâte après pétrissage au Farinograph® Brabender® ; (b) Pâte observée en microscopie confocale  
 Vert : protéines. Rouge : lipides endogènes. Noir : bulles d'air et grains d'amidon. Jaune :  
 co-localisation protéines-lipides

Ce mélange cohésif possède des propriétés viscoélastiques, c'est-à-dire visqueuses aux temps longs et élastiques aux temps courts (Blokma, 1990). Ces propriétés sont largement dépendantes de la composition de la pâte. La teneur en eau, qui assure la solubilité de certains composés, détermine les propriétés rhéologiques de la pâte. L'augmentation de la teneur en eau a un effet plastifiant en favorisant la mobilité des protéines, ce qui a tendance à diminuer la viscosité apparente de la pâte. Autrement dit, l'énergie nécessaire à la déformation de la pâte est inversement proportionnelle à la teneur en eau.

Composant minoritaire ajouté dans les produits de panification, l'utilisation du saccharose est limité aux produits de viennoiserie et au pain de mie. Ajouté en faible quantité, le saccharose alimente les levures en favorisant leur développement et la production de CO<sub>2</sub>. Il participe également aux qualités organoleptiques du produit final (saveur et coloration de la croûte) mais selon Lassoued (2005), la teneur en saccharose dans une pâte à pain a aussi une influence sur la microstructure de la pâte et donc sur la texture du produit final. L'ajout de saccharose tend à diminuer la viscosité apparente de la pâte. En revanche, le saccharose conférerait à la pâte un caractère rhéo-durcissant à partir d'une certaine concentration ( $\geq 7\%$ ).

## 1.2 Caractérisation rhéologique

La pâte de farine peut être vue comme une matrice composée d'un réseau de gluten hydraté très viscoélastique rempli par des particules solides, les grains d'amidon. Mais peu d'études renseignent sur la distribution du gluten, de l'eau et de l'amidon et leurs interactions dans cette matrice ainsi que la contribution de chacune de ces phases sur les propriétés rhéologiques. Effectuée principalement à partir de méthodes empiriques, la caractérisation rhéologique des pâtes de farine tente de reproduire des étapes de structuration au cours du procédé mais à une échelle de laboratoire. La difficulté de ces caractérisations repose sur leur pertinence par rapport aux déformations réelles mises en jeu lors du pétrissage. Les outils couramment utilisés (Farinograph<sup>®</sup> Brabender<sup>®</sup>, Alveographe Chopin) permettent de comparer des comportements rhéologiques entre diverses pâtes mais ne fournissent pas des mesures pertinentes par rapport aux vitesses de cisaillement ou déformations mises en jeu lors de la transformation du produit (pétrissage, fermentation, cuisson).

Actuellement, les 2 méthodes fondamentales principalement utilisées pour déterminer les propriétés mécaniques des pâtes à pain sont d'une part, la compression en conditions lubrifiées (LSF) qui permet d'obtenir des informations sur les propriétés extensionnelles des pâtes, et d'autre part les essais en régime harmonique aux petites déformations qui mettent en évidence leur caractère viscoélastique. Seul Lefebvre (2006, 2009) propose une étude assez complète des pâtes à pain dans le domaine non-linéaire en étudiant les effets du cisaillement sur les propriétés rhéologiques des pâtes, tels que son caractère rhéo-fluidifiant ou la dépendance au temps due à des modifications irréversibles de la microstructure lorsque la pâte est cisailée.

La LSF a été introduite pour la première fois par Chatraei *et al.* (1981) pour l'étude de la viscosité en extension biaxiale de polymères fondus. Cette technique repose sur le principe d'une compression uniaxiale d'un échantillon cylindrique entre 2 surfaces parallèles (Figure 45). La hauteur ( $L_0$ ) et le rayon ( $R_0$ ) du cylindre initial varient au cours du temps de compression, la hauteur diminuant et le rayon augmentant de façon à conserver un volume constant. Lorsque la lubrification est parfaite, l'échantillon glisse entre les 2 plateaux et la déformation résultante est une déformation biaxiale. Cette déformation correspond à celle subie par une bande de pâte de farine étirée entre 2 bulles d'air. La LSF est tout à fait adaptée à la caractérisation des propriétés de la pâte puisqu'elle mime la déformation subie au cours du procédé de fabrication. Launay et Michon (2008) décrivent de façon précise l'historique et le principe de cette technique ainsi que les hypothèses nécessaires à son utilisation. Par ailleurs, ils effectuent un état des lieux de l'application de la LSF aux pâtes de farine en détaillant les différents outils utilisés pour réaliser ces essais permettant de déterminer la viscosité extensionnelle apparente des pâtes par compression en conditions lubrifiées.

La compression de l'échantillon dans la direction  $z$  permet d'écrire la déformation de Hencky



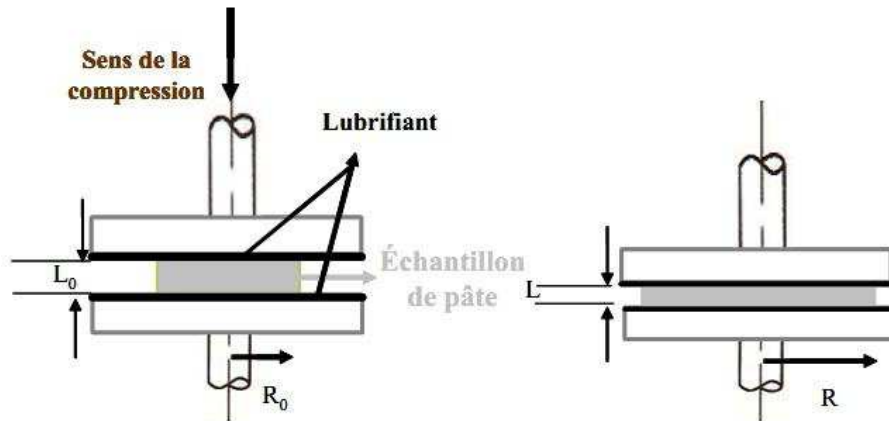


Figure 45 – Schéma de principe de la compression en conditions lubrifiées à volume constant (Lassoued (2005))

dans cette direction comme (Eq. 4) :

$$\epsilon_z = \ln \left( \frac{L(t)}{L_0} \right) \quad (4)$$

Dans le cas d'un matériau incompressible, la déformation biaxiale radiale,  $\epsilon_b$ , et la vitesse d'extension biaxiale correspondante,  $\dot{\epsilon}_b$ , s'écrivent respectivement selon les équations 5 et 6 :

$$\epsilon_x = \epsilon_y = \epsilon_b = -\frac{1}{2} \cdot \epsilon_z = \frac{1}{2} \cdot \ln \left( \frac{L_0}{L(t)} \right) \quad (5)$$

$$\dot{\epsilon}_b = -\frac{1}{2} \cdot \left( \frac{dL(t)}{L(t)} \cdot dt \right) \quad (6)$$

Dans le cas d'un écoulement dans lequel les effets de bords sont négligés, on peut exprimer la contrainte normale selon l'équation 7 :

$$\sigma_b = \frac{F_N(t)}{S(t)} \quad (7)$$

avec  $F_N$  la force normale de compression et  $S(t)$  la surface de contact entre le plateau et l'échantillon à un instant  $t$ . Dans le cas où les plateaux parallèles sont plus grands que le diamètre de l'échantillon comprimé et toujours dans le cas d'un échantillon incompressible, l'équation 7 devient :

$$\sigma_b = \frac{F_N(t)}{\pi \cdot R^2(t)} \quad (8)$$

puis

$$\sigma_b = \frac{F_N(t) \cdot L(t)}{\pi \cdot R_0^2 \cdot L_0} \quad (9)$$

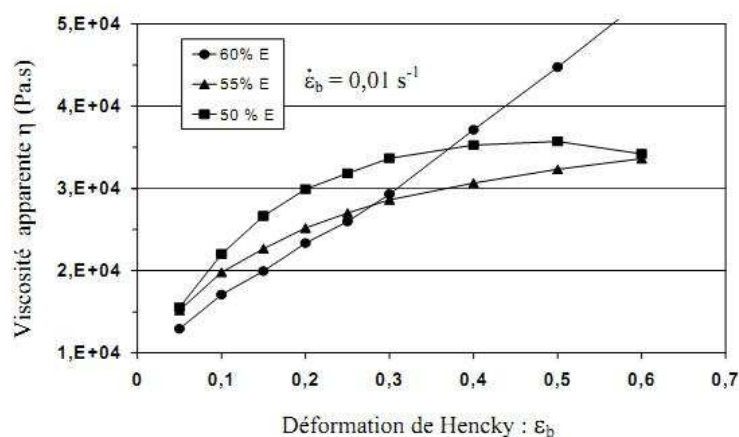
où  $R_0$  et  $L_0$  sont respectivement le rayon et la hauteur initiaux de l'échantillon cylindrique et  $L(t)$  est la hauteur de l'échantillon à un instant  $t$ . Finalement, la viscosité apparente de l'échantillon peut s'écrire (Eq. 10) :

$$\eta_{app} = \frac{\sigma_b}{\dot{\epsilon}_b} \quad (10)$$

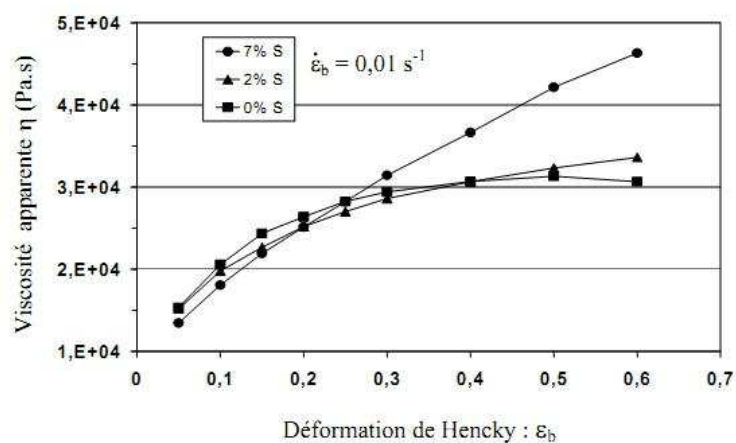
Il est important de noter que les équations 5 - 10 ne sont valides que dans le cas d'une déformation sans cisaillement et d'un échantillon incompressible. Cette dernière hypothèse est généralement admise pour les pâtes à pain (Tanner *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2006) même si certains auteurs (Charalambides *et al.*, 2002) montrent par une technique de gonflement de bulles que les pâtes peuvent être légèrement compressibles avec un coefficient de Poisson supérieur ou égal à 0.45. Plus récemment, Kouassi-Koffi *et al.* (2010) comparent 2 méthodes (vitesse d'extension biaxiale constante ou vitesse de compression constante) de LSF. Ils concluent sur la nécessité de poursuivre les études sur l'influence du lubrifiant et de sa viscosité ainsi que sur la vérification de l'incompressibilité des pâtes. Les déformations biaxiales calculées semblent devoir être légèrement corrigées dans ces conditions.

Cette caractérisation rhéologique par LSF a déjà été effectuée sur des pâtes de farine par Lassoued (2005). Il étudie l'effet de la teneur en eau (Figure 46a) et en saccharose (Figure 46b) sur la viscosité extensionnelle apparente des pâtes. Lassoued (2005) met en avant une inversion des propriétés rhéologiques aux petites et grandes déformations en fonction de la composition. Pour une pâte de farine enrichie en eau (60%) ou en saccharose (7%), la viscosité apparente augmente fortement à partir de  $\epsilon_b = 0.3$ , ce qui n'est pas le cas pour des teneurs plus faibles. Il tente de comprendre ce caractère « rhéo-durcissant » en effectuant des observations par microscopie confocale de la structure des pâtes de farine selon leur composition (Figures 47a et 47b).

Ce travail permet de mettre exergue de façon qualitative l'influence de la composition sur la morphologie du réseau de gluten et en particulier l'ajout de saccharose qui confère aux protéines une structure fibrillaire renforcée. Mais les résultats obtenus soulèvent des questions relatives à la mise en place de l'échantillon pour l'observation qui engendre une orientation dans le réseau ou à l'influence de la température et du temps avant analyse sur le système observé par exemple. L'auteur conclue sur la nécessité d'effectuer des observations dynamiques permettant de coupler rhéologie et microscopie.

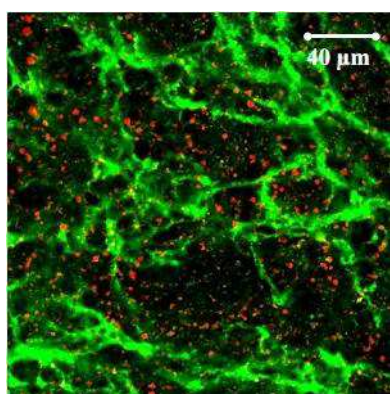


(a)

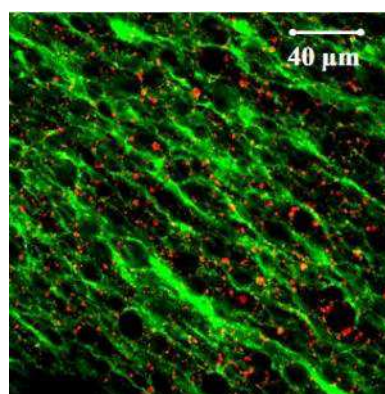


(b)

Figure 46 – Viscosité apparente des pâtes de farine en fonction de la déformation de Hencky ( $\epsilon_b$ ) pour  $\dot{\epsilon}_b = 0.01 \text{ s}^{-1}$ . (a) Effet de la teneur en eau (E, g/100 g de farine); (b) Effet de la teneur en saccharose (S, g/100 g de farine) (Lassoued (2005))



(a)



(b)

Figure 47 – Exemple d'images obtenues par microscopie confocale ( $\times 40$ ) de pâtes de farine. (a) Eau = 60%; (b) Saccharose = 7%. Vert : protéines; Rouge : lipides; Noir : bulles d'air et grains d'amidon; Jaune : co-localisation protéines-lipides (Lassoued (2005))

## 1.3 Microscopie confocale : principe et application aux systèmes alimentaires

### 1.3.1 Principe de la microscopie confocale à balayage laser (MCBL)

La MCBL correspond à une optimisation de la microscopie photonique à épifluorescence. Dans cette dernière, la surface d'un échantillon est éclairée par une lumière monochromatique et la fluorescence émise par la surface mais aussi par les couches sous-jacentes est récupérée, ce qui génère un bruit dans l'image obtenue. La microscopie confocale permet d'obtenir de fines images d'échantillons qui seraient floues si elles étaient observées par microscopie à fluorescence. La raison réside dans la capacité d'un MCBL à concentrer le faisceau en un point focal et à éliminer la lumière réfléchie qui n'appartient pas au plan focal. Un écran contenant un diaphragme (ou « pinhole ») est placé devant le détecteur photomultiplicateur (PMT) et élimine toute la lumière hors du plan focal. Les miroirs rotatifs permettent de scanner l'échantillon pixel par pixel, mais représentent l'étape limitante dans la vitesse d'acquisition des images. Les images obtenues, représentant une fine section de l'échantillon, sont moins bruitées et plus contrastées. La figure 48 décrit schématiquement le principe de fonctionnement de l'appareil. Prasad *et al.* (2007) et Ako (2010) fournissent une description précise des différentes parties, fonctionnalités et paramètres à piloter.

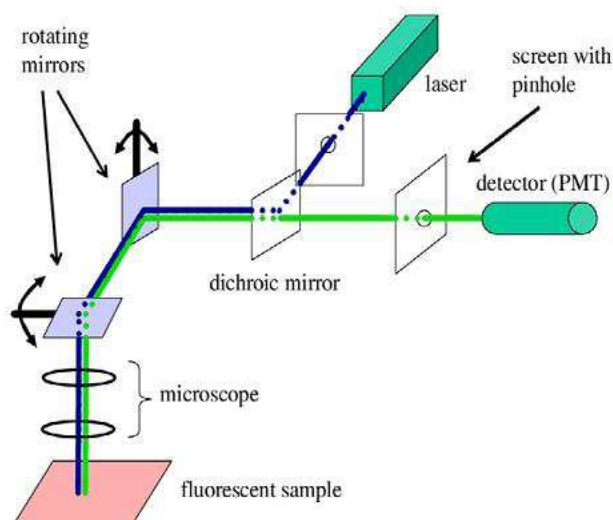


Figure 48 – Schéma simplifié du fonctionnement d'un microscope confocal (Prasad *et al.* (2007))

De plus, la MCBL permet d'obtenir des coupes optiques de l'échantillon soit dans un plan  $xy$  à une profondeur  $z$ , soit dans un plan  $xz$  à une position  $y$ . La collection de séries d'images en  $xy$  pour différents plans focaux (ou profondeurs  $z$ ) offre la possibilité d'une reconstruction en 3D d'un volume de l'échantillon. La profondeur maximale d'observation dépend de la puissance du laser, de l'échantillon et ses propriétés optiques et des caractéristiques de l'objectif. Enfin, la MCBL permet d'obtenir une information sur plusieurs constituants de l'échantillon par une

technique de marquage multiple. On peut donc déterminer leur position ainsi que les zones de co-localisation.

Le marquage multiple repose sur le principe des capacités d'absorption et d'émission de la fluorescence par les fluorochromes. Dans le cas d'un double marquage, il faut choisir des fluorochromes qui sont excités à deux longueurs d'onde bien distinctes et si possible proches des longueurs d'onde des lasers proposées par le microscope confocal. De façon générale, un microscope confocal possède 3 lasers : Ar à 488 nm, He/Ne à 543 nm et He/Ne à 633 nm. Chaque fluorochrome possède son propre spectre d'absorption et d'émission. Il est nécessaire de choisir un laser dont la longueur d'onde est la plus proche du maximum d'absorption du fluorochrome. Ensuite, la position des récepteurs PMT doit être réglée de façon à ne récupérer que la fluorescence émise spécifique de chaque fluorochrome. Un exemple de spectre d'émission de Bodipy 665/676 et de la Rhodamine B est donné dans la figure 49. Les lignes verticales correspondent au laser choisi pour respectivement exciter la Rhodamine B à 543 nm et le Bodipy à 633 nm.

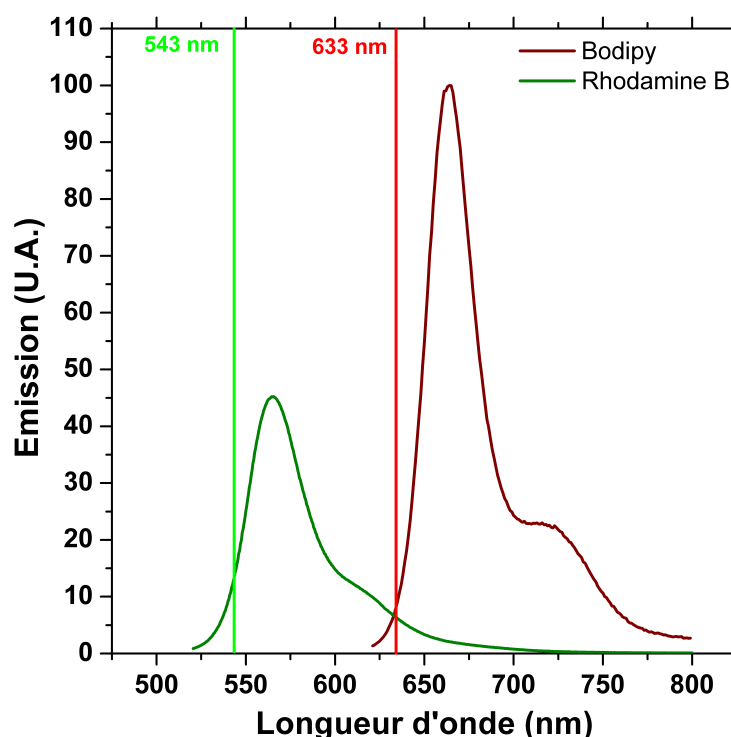


Figure 49 – Spectres d'émission théoriques du Bodipy 665 et de la Rhodamine B en fonction de la longueur d'onde. L'émission est exprimée en unité arbitraire. Les lignes verticales correspondent à la longueur d'onde du laser d'excitation

### 1.3.2 Observation de systèmes alimentaires par MCBL

Depuis le début des années 90, la microscopie confocale a largement été utilisée pour observer des structures alimentaires à l'échelle mésoscopique. Les systèmes émulsionnés (beurre, mar-

garine, double émulsion), amidonnés (patate douce, pain et pâte à pain, spaghetti, Figure 50), systèmes laitiers (yaourt, fromage) ou les systèmes simplifiés (grain d'amidon, émulsion O/W, mélange de biopolymères et interactions) ont été observés et décrits qualitativement par de nombreux auteurs (par exemple Heertje (1993); Tromp (2001); van de Velde *et al.* (2003); Blonk et van Aalst (1993); Durrenberger *et al.* (2001)). Ils fournissent de nombreux éléments clés de l'observation de systèmes aussi complexes et hétérogènes que sont les aliments et leurs modèles. Les différentes techniques de marquages d'ingrédients y sont largement décrites, aussi bien du point de vue du choix des marqueurs que du type de marquage.

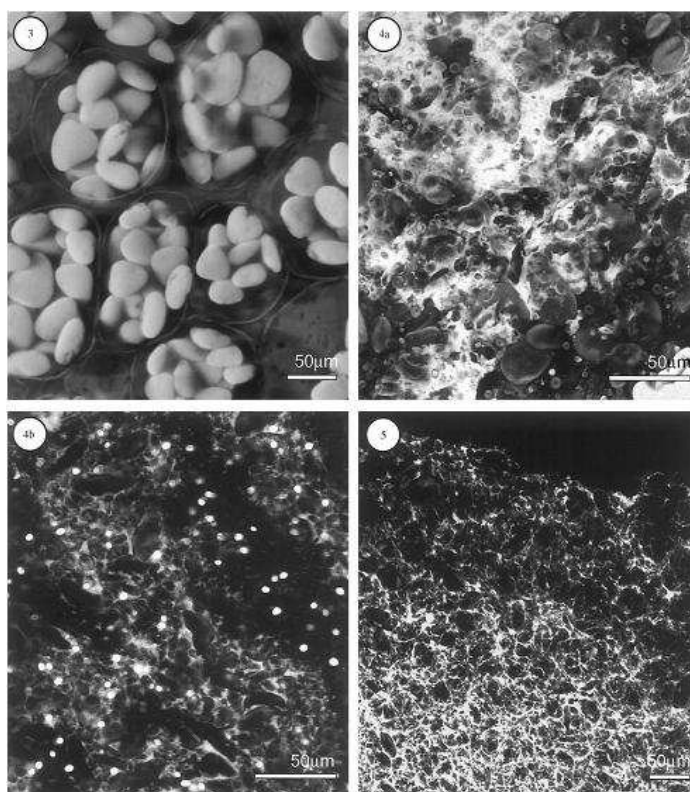


Figure 50 – Exemples de systèmes alimentaires observés par microscopie confocale  
(haut-gauche) : patate douce marquée à la Safranine O ; (haut-droit) : cryo-section de pâte à pain marquée à l'Acide Fuchsine ;  
(bas-gauche) : cryo-section de pain marqué à l'Acide Fuchsine ;  
(bas-droite) : cryo-section de spaghetti cuite marquée à l'Acide Fuchsine  
(Durrenberger *et al.*, 2001)

Une des limites perçues dans ces différents travaux réside dans la non-spécificité du marqueur vis-à-vis de son ingrédient. C'est par exemple le cas du Rouge de Nile (Nile Red) que l'on retrouve régulièrement comme fluorochrome des protéines ou des lipides. Par ailleurs, certains auteurs utilisent la cryo-section, technique permettant une coupe très fine de l'échantillon à observer. Cette technique permet de figer la surface d'un échantillon et d'améliorer l'observation de celle-ci. Néanmoins, cette technique peut avoir une influence sur la microstructure, comme le montrent Baier-Schenk *et al.* (2005), par le suivi *in situ* par MCBL de la formation de cristaux de glace dans des pâtes à pain. Ils montrent aussi l'influence de cycles de congélation/décongélation sur le réseau de gluten des pâtes et concluent sur la non-altération du

réseau au cours de ces cycles, tout au moins à l'échelle observée (Figure 51). De plus, ils expliquent l'orientation du réseau par la mise en place de l'échantillon soumis à une compression inévitable.

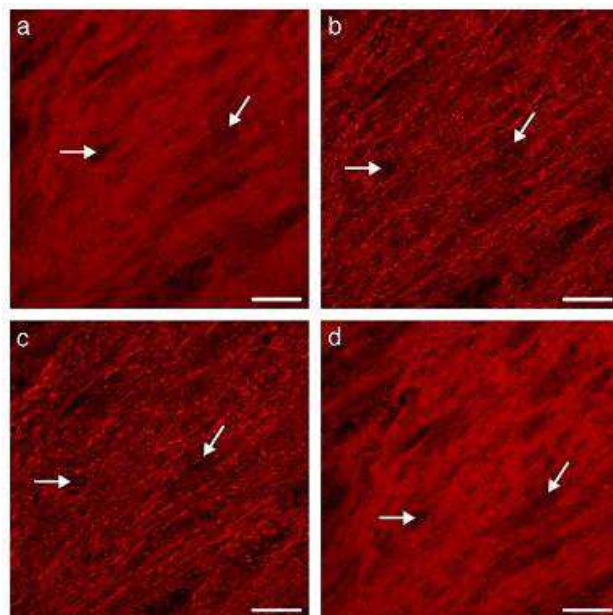


Figure 51 – Influence de cycles de congélation/décongélation sur le réseau de gluten marqué par rhodamine B. (a) avant congélation,  $T = 25^{\circ}\text{C}$ ; (b) état congelé,  $T = -30^{\circ}\text{C}$ ; (c) après 5 cycles,  $T = -30^{\circ}\text{C}$ ; (d) après décongélation,  $T = 10^{\circ}\text{C}$   
Échelle =  $40\ \mu\text{m}$ . Les flèches représentent les mêmes éléments structuraux (Baier-Schenk et al., 2005)

On peut aussi mentionner les travaux de Li *et al.* (2004) et Dubreil *et al.* (2002) qui détaillent des méthodologies de marquages spécifiques du réseau du gluten et des lipides endogènes de la farine. Li *et al.* (2004) décrivent une méthode de marquage des protéines du réseau de gluten par covalence grâce à la Rhodamine B. Dubreil *et al.* (2002) présentent une technique de triple marquage dans la pâte à pain. Ils localisent les lipides à l'aide du Bodipy dissous dans du DMSO, les protéines par diffusion de RhodolGreen dissout dans un tampon phosphate salin (PBS) 10 mM et enfin les  $\alpha$ -purindolines par réaction avec de l'Alexa Fluor 350. La localisation de ces 3 constituants par microscopie confocale permet d'apporter des éléments de compréhension sur les fonctionnalités des lipides et protéines et leur interaction dans la pâte à pain. Enfin, il est intéressant de noter que Peighambardoust *et al.* (2010) ont récemment comparé l'observation de pâtes de farine par MCBL et par microscopie à épifluorescence (EFLM). Dans les 2 cas, un double marquage permettait de localiser le réseau de gluten et les grains d'amidon. Ils concluent sur l'efficacité de l'EFLM à obtenir une qualité d'image équivalente pour un coût bien moindre que la MCBL, tout en fournissant une information sur la microstructure de la pâte. Néanmoins, l'EFLM ne permet quand même pas d'obtenir une qualité d'image équivalente à la microscopie confocale puisque l'observation ne se limite pas à un seul plan focal. L'image obtenue par EFLM est donc bruitée par la lumière émise par les autres plans focaux.



## 1.4 Relations propriétés-structures dans les pâtes céréalières

Comme évoqué précédemment, la caractérisation rhéologique des pâtes céréalières n'est pas suffisante pour comprendre les mécanismes de structuration mis en jeu. Les modifications du réseau de gluten et la migration des lipides ou autres composants de taille micro/mésoscopique peuvent être observées de façon à illustrer la signature optique résultante d'une déformation. De nombreux auteurs se sont donc intéressés à ce couplage entre propriétés et microstructures des pâtes à pain ou de farine. Autio et Laurikainen (1997) font un état des lieux des précédentes études sur les techniques d'observation des pâtes utilisées pour comprendre l'effet des ingrédients ou des procédés sur la pâte ou le pain. L'effet de la teneur en eau sur la rhéologie et la microstructure de la pâte a été étudié par Létang *et al.* (1999). Après avoir caractérisé leurs échantillons par rhéométrie oscillatoire dans le domaine linéaire, l'utilisation d'un ESEM leur permet d'obtenir des informations sur la morphologie du réseau en fonction de la teneur en eau. Ils confirment le fait que plus la quantité d'eau augmente, moins les grains d'amidon sont visibles. Ils sont recouverts à la fois par le réseau de gluten, formant un film, mais aussi par une phase aqueuse. L'observation à différentes étapes du développement de la pâte leur permet ensuite de proposer un modèle moléculaire du comportement du réseau de gluten (Figure 52). Lee *et al.* (2001) ont utilisé un MCBL pour corrélérer les propriétés en extension et sous cisaillement à la microstructure pour différents états de développement des pâtes de farine. Dans ces travaux, la caractérisation rhéologique est séparée de l'observation des microstructures.

Depuis 2004, S.H. Peighambardoust, en collaboration avec d'autres équipes, s'est fortement intéressé aux relations propriétés-structures de la pâte à pain. Il a tout d'abord conçu un outil de cisaillement, basé sur le principe du cône-plan pour étudier différentes formulations de pâtes sous cisaillement (Peighambardoust *et al.*, 2004). Le dispositif permet de calculer l'énergie spécifique mécanique résultante à l'aide du moment et de la vitesse de rotation. Il complète l'étude par des observations en MCBL et des essais en extension. Ces différentes approches lui permettent d'étudier la formation de la microstructure, les propriétés rhéologiques et l'effet du cisaillement sur ces 2 composantes (Peighambardoust *et al.*, 2006; Peressini *et al.*, 2008). Grâce à un nouveau dispositif, basé cette fois-ci sur le principe du cône-cône (Figure 53), ils étudient la migration du gluten sous cisaillement aboutissant à la séparation du gluten et des grains d'amidon. Ils expliquent que le cisaillement a un effet sur la ségrégation des protéines du réseau et plus particulièrement sur le gel macro polymère. Une faible vitesse de rotation et une température ambiante favorisent la séparation du gluten et de l'amidon. Un cisaillement fort et prolongé couplé à une température élevée conduit à un endommagement du réseau, rendant la pâte plus souple et diminuant les forces responsables de la séparation (Peighambardoust et van der Goot, 2010).

L'étude la plus récente sur les relations propriétés-structure a été menée par Upadhyay *et al.* (2012) qui regardent l'effet de la teneur en eau, en levure et en hydrocolloïdes (alginate ou xanthane) sur les propriétés viscoélastiques (rhéologie dynamique) et la taille des bulles d'air (MCBL + analyse d'images). Ils confirment que l'augmentation de la teneur en eau diminue



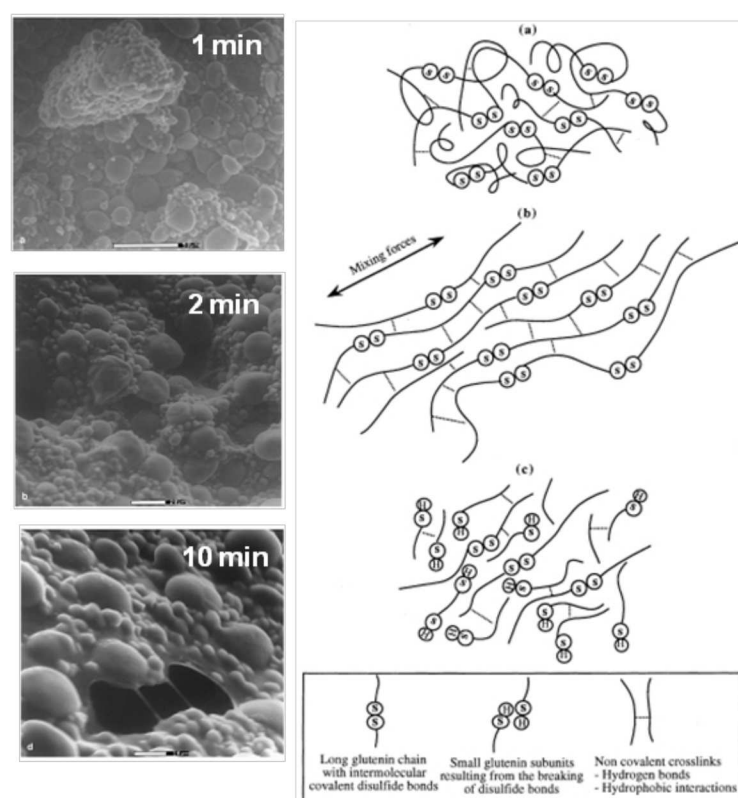


Figure 52 – Images par ESEM de pâtes à pain à différents temps de pétrissage (1 min, 2 min et 10 min) et modèle de comportement du gluten au cours du pétrissage (insuffisant, optimal ou excessif) (Létang et al. (1999)).

les modules élastiques et visqueux mais augmente la taille des bulles. L'effet de la teneur en levure est inverse : plus elle est élevée, plus les modules sont grands et la taille des bulles petite. Pour compléter son étude sur la caractérisation rhéologique en conditions lubrifiées des pâtes de farine, Lassoued (2005) a effectué une série d'observations en fonction de la teneur en eau et/ou en saccharose qui met en avant les différentes structures rencontrées (Figure 54).

Toutes ces études récentes montrent l'intérêt d'une approche couplée propriétés-structures. Jusqu'à aujourd'hui, les études séparent la caractérisation des mésostructures par observation de celle des propriétés physiques et rhéologiques. De plus, la plupart des résultats montrés à ce stade sont encore qualitatifs, ce qui prouve la difficulté de quantifier des phénomènes physico-chimiques au sein d'une pâte à pain.

## 1.5 Quantification de microstructures alimentaires par analyse d'images

Il existe donc depuis quelques années des outils et algorithmes d'analyse d'images relatifs aux produits alimentaires et à leur texture. Il s'agit de faire un lien entre des images acquises au cours du temps ou de l'espace en fonction de divers paramètres pour expliquer des changements

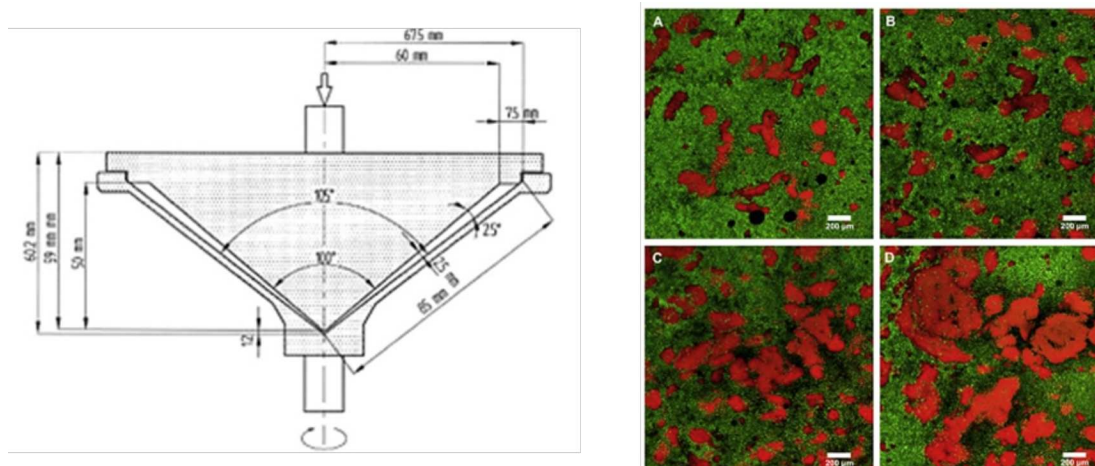


Figure 53 – Schéma de principe du prototype développé et images obtenues par MCBL après cisaillement à différentes positions du cône. A → D : du haut vers le bas du cône. Vert : protéines du réseau de gluten ; Rouge : grains d'amidon (Peighambardoust et al. (2008))

structuraux pouvant être la cause de propriétés rhéologiques ou textures particulières. Pour cela, il existe soit la quantification des éléments présents dans l'image à partir des intensités et de la binarisation des images, soit la quantification des propriétés de structures grâce aux images en niveaux de gris conduisant à des informations morphologiques sur le contenu de l'image.

Bharati *et al.* (2004) décrivent et comparent plusieurs méthodes d'analyse de texture pour étudier la surface et donc la qualité de feuillets métalliques. On retient principalement de ce travail, l'indispensable association entre analyse d'images et traitement statistique. Très récemment, Jekle et Becker (2011) ont développé une méthodologie de quantification de la microstructure de pâte à pain à partir d'images acquises au MCBL. Après avoir binarisé les images selon un seuillage de Huang (Huang et Wang, 1995), ils ont extrait certains paramètres tels que le périmètre et l'aire totale des protéines, la circularité et la taille moyenne des bulles ou encore la dimension fractale. En ajoutant des variables rhéologiques obtenues par différentes expériences, ils tentent par simple traitement statistique de corrélérer les observations au MCBL et les propriétés des pâtes. La limite de cette technique, appliquée aux pâtes de farine, réside dans le fait que les outils utilisés et les paramètres extraits ne fournissent pas d'information morphologique du réseau de gluten. On peut aussi se questionner sur la pertinence de définir une dimension fractale dans le cas de la pâte à pain qui ne représente pas de façon très claire un réseau issu de la répétition d'un motif. Devaux *et al.* (1997, 2008) sont pionniers dans l'application de la technique de morphologie mathématique en niveaux de gris, développé théoriquement par Serra (1982), pour déterminer la granulométrie de poudres dispersées dans une phase continue ou la caractérisation de structures cellulaires de tomates. Par la suite, cette technique a été mise en place sur des mies de pains après cuisson (Lassoued, 2005; Rouillé *et al.*, 2005) mais aussi pour caractériser la microstructure de fromages frais (Fenoul *et al.*, 2008). Elle permet d'obtenir des courbes granulométriques des objets d'une image. Les courbes sont ensuite traitées par analyse en composantes principales (ACP) qui permet le classement

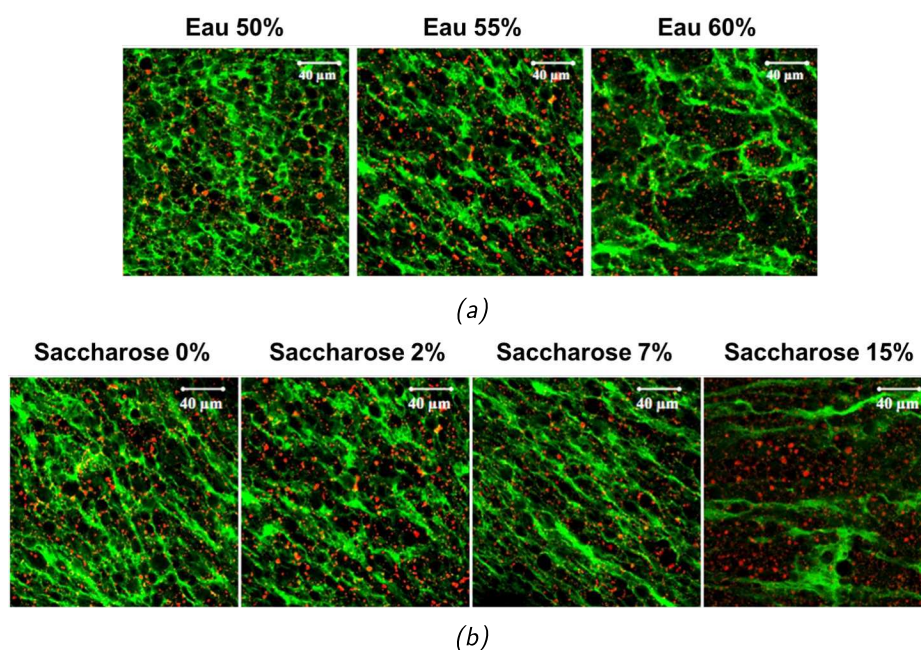


Figure 54 – Série d'images obtenues par microscopie confocale ( $\times 40$ ) de pâtes de farine. (a) Effet de la teneur en eau (saccharose = 2% et huile de colza = 10%); (b) Effet de la teneur en saccharose (eau = 55% et huile de colza = 10%). Vert : protéines; Rouge : lipides; Noir : bulles d'air et grains d'amidon; Jaune : co-localisation protéines-lipides (Lassoued (2005))

des structures alvéolaires en fonction de la finesse des alvéoles (axe 1) et de l'hétérogénéité de la taille des alvéoles (axe 2) (Figure 55). Son principe sera détaillé dans la Partie II, chapitre 2, section 2.4.

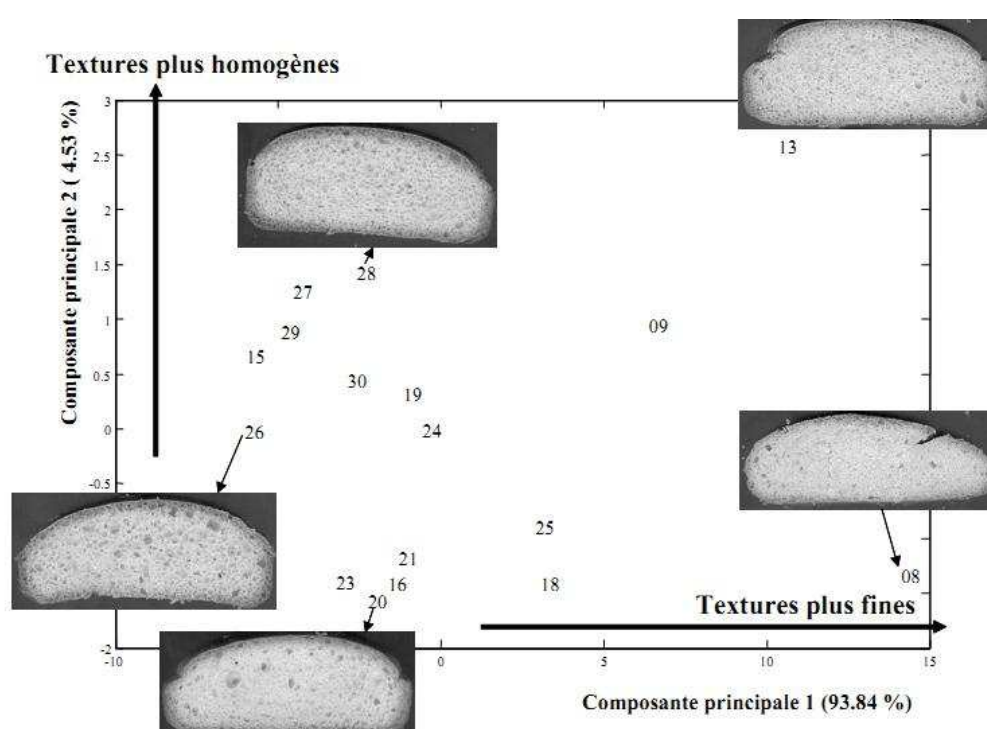


Figure 55 – Carte ACP représentant le positionnement de différentes miettes de pain en fonction des composantes principales. Axe 1 : Finesse des alvéoles. Axe 2 : Hétérogénéité des tailles des alvéoles (Lassoued (2005))



## Chapitre 2

# Matériels et méthodes

### 2.1 Formulation et préparation des pâtes de farine

À partir des travaux de Lassoued (2005), 5 recettes de pâte de farine ont été utilisées pour réaliser des pâtes contenant différentes teneurs en eau ou en saccharose. Le tableau 4 et la figure 56 récapitulent les différentes recettes. La farine est une farine boulangère type 55 (Corde Noire, Soufflet). L'eau utilisée pour les pâtes de farine étudiées était de l'eau déminéralisée (Merck Millipore, Allemagne), le sel est fourni sous forme de NaCl (Sigma Aldrich, France) et le saccharose (Sigma Aldrich, France) était pur.

Tableau 4 – Composition des différentes pâtes de farine étudiées

| Échantillon | Farine<br>(g) | Eau<br>(g) | Sel<br>(g) | Saccharose<br>(g) | Gluten pré-marqué RhoB<br>(mg) |
|-------------|---------------|------------|------------|-------------------|--------------------------------|
| T           | 10            | 5.5        | 0.2        | 0                 | 25                             |
| E+          | 10            | 6          | 0.2        | 0                 | 25                             |
| E-          | 10            | 5          | 0.2        | 0                 | 25                             |
| S+          | 10            | 5.5        | 0.2        | 0.4               | 25                             |
| S++         | 10            | 5.5        | 0.2        | 0.7               | 25                             |

#### 2.1.1 Marquage des différents ingrédients

La méthode de marquage du gluten par la Rhodamine B (RhoB) est celle développée par Li *et al.* (2004) et décrite avec précision dans Lassoued (2005). Ce marquage s'effectue en plusieurs étapes. Tout d'abord, par lixiviation d'une pâte de farine à 33 g en eau pour 100 g de farine, on extrait le réseau de gluten. S'ensuit alors une lyophilisation de ce gluten, dont 100 mg seront dispersés dans 50 mL de solution de Rhodamine B (Molecular Probes Inc., États-Unis) à 0.01% p/v. Le mélange est placé 6 h sous agitation douce et à l'abri de la lumière. Une dialyse des protéines marquées contre de l'eau à 4°C permet d'éliminer la Rhodamine B en

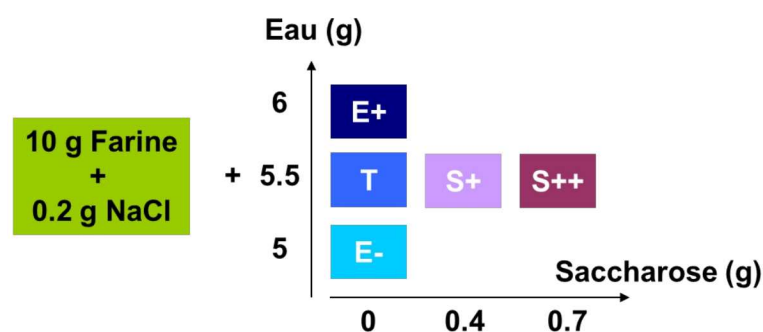


Figure 56 – Représentation schématique des différentes pâtes de farine étudiées  
Les couleurs seront utilisées dans la représentation des résultats

excès et non fixée sur le gluten. Le produit de dialyse est enfin lyophilisé et broyé. La poudre rose obtenue est conservée à l'abri de la lumière. Dans chacune des recettes réalisées, 25 mg de gluten pré-marqué à la Rhodamine B ont été ajoutés à 10 g de farine. La Rhodamine B est excitée par un laser He/Ne de longueur d'onde 543 nm puis émet à partir de 560 nm avec un maximum d'émission situé entre 575 et 600 nm.

Une pâte de farine témoin a été enrichie par 5 ou 10 g/100 g de farine en huile de colza (« Fleur de Colza », Lesieur, France) dans le cadre des essais sous traitement thermique. Les lipides ont été marqués par diffusion de 30  $\mu$ L de Bodipy (Molecular Probes Inc., États-Unis) dissous dans du DMSO. Le Bodipy est excité à l'aide d'un laser He/Ne à 633 nm et l'émission est récupérée entre 650 et 700 nm.

### 2.1.2 Préparation des pâtes à pain

Toutes les recettes ont été préparées selon le même protocole. À l'aide d'un Mixograph (National MGF Co., États-Unis), 10 g de farine et 25 mg de gluten pré-marqué ont été mélangés à 88 rpm pendant 30 s avant l'addition d'eau déminéralisée + NaCl et, le cas échéant, de saccharose dissous. L'ensemble est pétri pendant 4 min 30 s à 88 rpm. Les pâtons formés sont conservés à 4°C à l'abri de la lumière pendant 48 h maximum.

## 2.2 Caractérisation rhéologique des échantillons par LSF

Pour chaque pâte préparée au Mixograph, le pâton est récupéré pour être façonné à l'aide du système de laminage manuel de l'Alvéographe Chopin. On place la pâte sur une planche lubrifiée par l'ajout d'huile de paraffine ( $\eta = 30$  mPa.s) puis grâce à un rouleau, 10 aller-retours successifs à vitesse constante permettent de la laminier. On forme ensuite des cylindres à l'aide d'un emporte-pièce de diamètre 18 mm. La hauteur moyenne des cylindres est de l'ordre de 2.2 - 2.5 mm, ce qui fait un ratio  $2R_0/L_0 = 7.5$ .

Les cylindres sont ensuite laissés au repos pendant 30 min dans un bain d'huile de paraffine avant les essais de compression. La compression est réalisée à volume d'échantillon constant. Le rhéomètre MCR301 (Anton Paar, Autriche) permet d'effectuer des compressions à vitesse de déformation biaxiale ( $\dot{\epsilon}_b$ ) constante. On centre un cylindre de pâte sur un plan Peltier lubrifié par 2.5 mL d'huile de paraffine et réglé à 25°C, on recouvre l'échantillon d'une nouvelle couche d'huile (1.5 mL) puis on approche le plan supérieur ( $\varnothing = 50$  mm) de façon à venir au contact de l'huile. On ajuste le contact jusqu'à obtenir une force normale ( $F_N$ ) égale à 0.1 N. On laisse ensuite l'échantillon relaxer pendant 5 min, de façon à ce que  $F_N = 0.01$  N. On considère alors que le contact entre le plan supérieur et l'échantillon est total. La vitesse d'extension biaxiale a été définie à  $\dot{\epsilon}_b = 0.01 \text{ s}^{-1}$ , vitesse suffisamment lente pour limiter les effets d'élasticité aux temps courts. Le temps d'acquisition total est de 60 s avec un échantillonnage de 400 points (1 point/0.15 s). Les essais ont été réalisés jusqu'à une déformation biaxiale de Hencky  $\epsilon_b = 0.6$  (60%). Cette limite de déformation biaxiale est due à la limite de travail de l'appareil, qui ne peut pas mesurer des forces normales supérieures à 50 N. On répète l'opération 4 fois par recette de pâte.

## 2.3 Observation sous contraintes

Les notions de contra-translation et de champs de vitesse nulle (ZVP) interviennent dans la mise en place de l'observation sous cisaillement. On pourra à la fois isoler un objet déformé tout en l'observant plus proche du plateau inférieur en imposant un ratio  $V_{inf}/V_{sup}$  faible. Dans le cas des pâtes de farine, nous avons choisi une oscillation du plateau inférieur uniquement puisque l'observation s'effectue très proche du plateau inférieur en raison de l'opacité du produit et l'amplitude de déformation est petite.

### 2.3.1 Équilibre entre conditions opératoires mécaniques et optiques

Une expérience d'observation sous cisaillement est réussie si des images permettant une analyse qualitative ou quantitative de l'information recherchée sont obtenues. Cette réussite réside principalement dans le choix des conditions mécaniques et optiques et de leur équilibre. Les spécifications de la cellule étant très proches des conditions de travail classiquement rencontrées en rhéologie, l'observation devient le facteur limitant. Dans le cas d'une observation au microscope confocal, plusieurs paramètres optiques sont à considérer et à ajuster en fonction du système observé et de la contrainte mécanique imposée. De façon un peu réductrice, l'objectif principal de ces ajustements est de réduire le  $\Delta t$  de l'acquisition d'images (augmentation du nombre d'images par seconde) tout en conservant une qualité suffisante (taille et résolution). Toutes les conditions optiques sont déterminées pour minimiser le taux d'acquisition des images, qui lui-même peut devenir une limite de la mécanique. Considérons un taux d'acquisition de 10 ips ( $\Delta t = 100$  ms); il semble logique de ne pas pouvoir suivre une déformation sur un temps inférieur à la seconde pour tenter de reconstituer un film dans le temps. Par



conséquent, cela a une influence sur la vitesse de cisaillement choisie au cours d'une expérience. Détaillons les points clés de l'équilibre entre conditions mécaniques et optiques et leur influence sur l'acquisition d'images.

**Objectif.** Un objectif se caractérise par son grossissement, son milieu d'immersion (air, eau ou huile), son ouverture numérique (O.N.) et sa distance de travail. L'ouverture numérique est directement reliée à la résolution de l'image. Plus l'O.N. est grande, meilleure est la résolution de l'image. Par contre, l'O.N. est inversement proportionnelle à la distance focale de la lentille et donc à la distance de travail. Cette dernière est aussi fortement liée à la différence entre les indices de réfraction du milieu d'immersion et de l'échantillon. Dans le cas d'un entrefer « grand », il existe des objectifs à longue distance de travail qui permettent d'observer plus profondément dans l'échantillon.

**Laser.** Le choix des lasers doit être judicieux en fonction des fluorochromes à exciter dans l'échantillon. Chaque fluorochrome se caractérise par un maximum d'absorption et une gamme d'émission. Lors d'un marquage multiple, il faut éviter que les longueurs d'absorption et d'émission de chacun des fluorochromes ne se chevauchent, de façon à positionner des limites de réception de PMT bien définies et distinctes. La puissance du laser joue un rôle important sur l'acquisition d'images dans l'espace. En effet, l'atténuation de celui-ci dans l'échantillon dépend de son indice de réfraction et détermine la distance d'observation en  $z$  possible. Mais une intensité de laser trop forte engendre une image saturée qui peut nuire à sa qualité et son interprétation. Il faut donc trouver un compromis entre la puissance du laser et le niveau des PMT pour obtenir une image ayant une résolution correcte. Les phénomènes de « photobleaching » ou photodégradation du fluorochrome sont aussi à considérer. Le choix de la Rhodamine B répond à ces critères grâce au marquage du gluten par covalence ce qui augmente la résistance du fluorochrome à ces phénomènes.

**Scanner.** Le scanner du MCBL permet l'acquisition des images pixel par pixel. Sa fréquence de travail est donc directement proportionnelle au taux d'acquisition des images. Sur certains microscopes, l'augmentation de la fréquence peut être compensée par un zoom sur l'image. On peut donc scanner une image plus rapidement mais dans une zone plus petite. De plus, l'option « bi-directionnel » permet de diviser par 2 le temps entre chaque image, mais engendre un déphasage qui peut altérer la qualité de celle-ci. En outre, l'acquisition dans l'espace ( $z$ -direction) doit être calibrée en fonction de la distance à balayer, du pas entre chaque image et du temps de la déformation. Une fois ces paramètres optimisés, on peut très facilement suivre le profil d'écoulement d'un système sous cisaillement. Les microscopes confocaux les plus récents possèdent des technologies de scanner à haute fréquence tout en conservant les qualités de l'image. Ce n'est pas le cas du microscope à notre disposition. À terme, il sera indispensable de se doter d'un outil performant pour approfondir le couplage propriétés-structures à des échelles de temps plus petites.

**Taille de l'image.** Bien évidemment, il s'agit d'un paramètre clé. Plus l'image est grande (en pixels), plus son acquisition sera longue. Le choix de la taille de l'image dépend beaucoup du système observé (un réseau, une dispersion concentrée ou diluée) mais aussi du traitement mécanique imposé. Il faut adapter la déformation et le cisaillement souhaités de façon à conserver des objets dans la fenêtre d'observation. Pour cela on peut utiliser la contra-translation pour imposer de grandes déformations tout en conservant un ou quelques éléments dans la fenêtre d'observation ce qui permet de réduire la taille de l'image. Dans le cas de l'étude du comportement d'un réseau dans son ensemble ou d'un élément de plus grande taille, l'image doit être plus grande et la gamme de déformation plus petite pour garder l'élément dans la zone d'observation.

### 2.3.2 Conditions opératoires choisies

Il est important de noter que ces observations de pâtes de farine sous contraintes servent principalement à valider et tester l'utilisation de la cellule. La mise en place d'un échantillon pâteux, élastique et opaque permet d'atteindre les limites de l'observation sous cisaillement. L'échantillon est déposé au centre de la lamelle inférieure en prenant soin de ne pas engendrer de force extérieure. La descente du plateau supérieur engendre une force qui met en place l'échantillon mais aussi induit une déformation peu contrôlée, mais répétable tant que l'utilisateur fait descendre le plateau toujours d'une manière identique. Par la suite, la vitesse de descente du plateau pourra être ralentie et adaptée au type d'échantillon pour permettre à l'échantillon de relaxer au cours de la déformation. Il est donc nécessaire de laisser reposer 15 min l'échantillon pour relaxer toutes les contraintes induites par la mise en place de l'échantillon. En mettant au point l'observation du réseau de gluten avant d'imposer une contrainte mécanique, on note que la distance en  $z$  d'observation dans l'échantillon est très limitée, de l'ordre de 5 - 10  $\mu\text{m}$ . Les lasers du microscope sont fortement atténués de par l'opacité de la pâte à pain. Enfin, lors de l'acquisition de la première série d'images sous cisaillement, on perd très rapidement le plan focal, et l'entrefer peut varier de  $\pm 10 \mu\text{m}$ . De façon à pouvoir obtenir une série d'images sans perdre le plan focal, il est nécessaire d'effectuer 1 ou 2 pré-cisaillements uniquement destinés à bien mettre en place l'échantillon dans l'entrefer.

Les différents éléments décrits ci-dessus nous ont guidés dans la prise en main de la cellule de cisaillement et la mise en place de méthodologies d'utilisation et d'observation. Cette démarche progressive et dynamique (aller-retour entre conditions optiques-mécaniques) a permis d'acquérir des compétences supplémentaires sur la microscopie confocale. L'observation de pâte de farine sous contraintes thermo-mécaniques est réalisée grâce à la cellule de cisaillement montée sur un microscope confocal à balayage laser TCS AOBS SP2 (Leica, Allemagne). L'entrefer est fixé à 500  $\mu\text{m}$ . Prélevé à l'aide d'une paire de ciseaux, un échantillon est déposé et centré sur la lamelle inférieure préalablement aspirée par dépression. Les observations ont été effectuées grâce à un objectif à eau  $\times 40$  (0.8 O.N.) et un laser He/Ne 543 nm (puissance 65%). Le PMT est placé pour recevoir les longueurs d'ondes comprises entre 560 et 610 nm.

Le scanner du microscope permet un taux de rafraîchissement de 800 Hz, qui génère automatiquement un zoom de  $\times 1.7$ . Pour réduire le temps entre chaque image, on utilise le scanner bi-directionnel. Les images du réseau de gluten (512 pixels  $\times$  256 pixels) sont acquises au cours du temps et/ou dans l'espace. Des mouvements d'oscillation du plateau inférieur ont permis de générer le cisaillement. La fréquence d'oscillation est définie à 0.3 Hz essentiellement pour des raisons de capacités d'acquisition d'images du microscope. Dans ces conditions optiques, le microscope est capable d'enregistrer une image toutes les 250 ms, c'est-à-dire 13 images par période. L'amplitude crête-à-crête de la déformation imposée varie entre 0.2 et 0.8 mm et le temps d'oscillation est de 30 s. La température est constante et fixée à 20°C.

## 2.4 Morphologie mathématique et analyse en composantes principales (ACP)

À partir des images obtenues (format non compressé TIFF), une analyse d'images par morphologie mathématique en niveaux de gris a été effectuée. On utilise un programme développé par Marie-Françoise DEVAUX (INRA Nantes, Devaux *et al.* (1997, 2008)) sous Matlab (The MATHEWORKS, États-Unis) qui permet de convertir les images en niveaux de gris puis d'effectuer le traitement des images par morphologie mathématique. On utilise un élément structurant linéaire de rayon 1 pixel ayant soit un angle d'inclinaison de  $135^\circ$  soit de  $45^\circ$ , de façon à obtenir des informations sur l'orientation du réseau au cours de la déformation. La morphologie mathématique réalise une série d'opérations (dilatation ou érosion) sur l'image en niveaux de gris. Une étape de dilatation permet d'augmenter la somme des niveaux de gris de l'image en remplaçant la valeur de gris des pixels contenus dans l'élément structurant par la valeur la plus élevée rencontrée dans cet élément. Une étape d'érosion réalise l'opération inverse, et par conséquent diminue la somme des niveaux de gris de l'image. Ces opérations sont répétées  $n$ -fois, jusqu'à obtenir une information complète de l'image c'est-à-dire, lorsque celle-ci devient toute « blanche » (après  $n$ -dilatation) ou « noire » (après  $n$ -érosion), correspondant à la disparition de la texture (Figure 57). Le nombre d'étapes de dilatations et d'érosions successives a été fixé à 30.

Une étape d'érosion permet de diminuer la somme totale de niveaux de gris de l'image en remplaçant les objets clairs par des pixels plus foncés. En effectuant des érosions successives, les objets clairs disparaissent progressivement de l'image. On peut donc suivre l'évolution de la somme des niveaux de gris à chaque étape d'érosion, puis la normaliser par rapport à la somme initiale ( $V_i$ ) et calculer la variation entre chaque étape selon l'équation 11.

$$g_i = \frac{V_i - V_{i+1}}{V_0 - V_f} \quad (11)$$

où  $g_i$  est la variation de la somme des niveaux de gris,  $V_i$  la somme des niveaux de gris de l'image à la  $i^{\text{ème}}$  étape de dilatation ou érosion,  $V_0$  est la somme des niveaux de gris de l'image

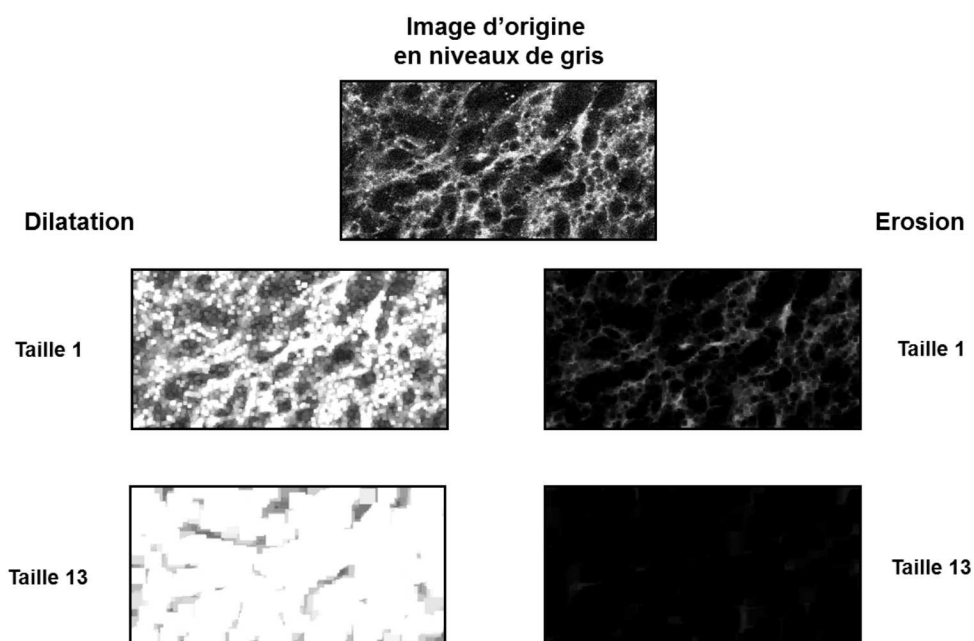


Figure 57 – Exemple de l'évolution d'une image traitée par morphologie mathématique en utilisant un élément structurant carré de rayon 1 pixel

initiale et  $V_f$  est la somme des niveaux de gris de l'image à la  $n^{\text{ème}}$  étape.

La variation de la somme des niveaux de gris entre chaque étape d'érosion permet d'informer sur la façon dont le réseau de gluten correspondant aux pixels clairs disparaît de l'image. Plus « vite » la somme des niveaux diminue, plus fine est la structure du réseau de gluten. De façon contraire, la dilatation augmente la somme des niveaux de gris en éliminant progressivement les objets foncés de l'image à chaque étape. On peut donc tracer l'évolution de  $V_i$  (Figure 58a) et sa variation,  $g_i$ , (Figure 58b) en fonction du nombre d'opérations mathématiques appliquées à l'image initiale. La courbe obtenue renseigne sur la variation d'intensité à chacune des étapes. La partie gauche, correspondant aux dilations, fournit des informations sur les grains d'amidon et les bulles d'air, qui apparaissent en noir et gris foncé sur les images, tandis que les érosions fournissent des informations sur la morphologie du réseau de gluten, qui apparaît en blanc et gris clair.

Les données issues de la morphologie mathématique ( $g_i$  en fonction des étapes de dilatation ou d'érosion) sont ensuite utilisées pour effectuer une analyse en composantes principales (ACP). Cette analyse multidimensionnelle a été réalisée à l'aide d'XLStat (Addinsoft, France), logiciel complémentaire d'Excel (Microsoft, États-Unis). Les coordonnées sont rangées dans un tableau contenant les observations (les images) en ligne et les variables (dilatation/érosion) en colonne. L'ACP fournit des composantes principales, combinaison linéaire des variables d'origine, qui elles-mêmes représentent un pourcentage de la variance des observations.

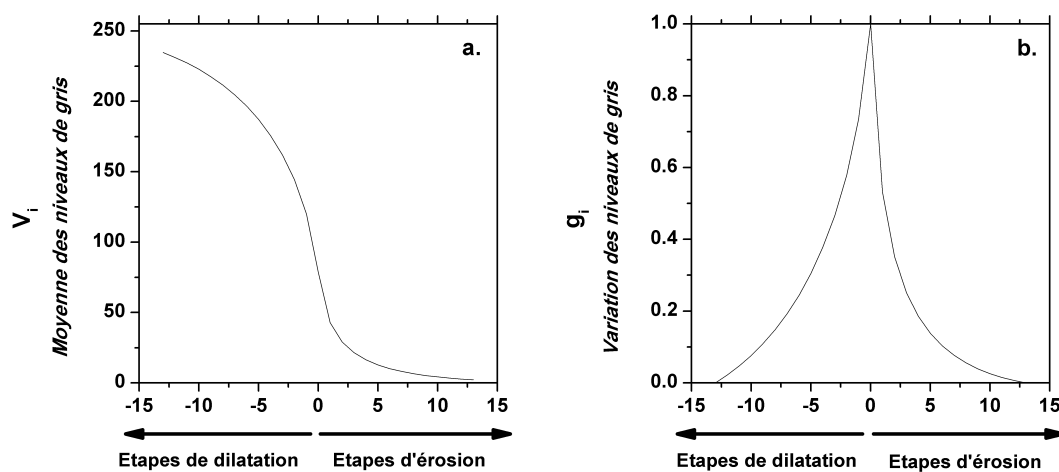


Figure 58 – Courbes d'évolution de la somme (a.,  $V_i$ ) et de la variation (b.,  $g_i$ ) des niveaux de gris en fonction des étapes d'opérations mathématiques (dilatation ou érosion)

## Chapitre 3

# Résultats et Discussion

### 3.1 Caractérisation rhéologique

Les courbes obtenues par LSF permettent de représenter la force normale ( $F_N$ ) de compression en fonction du temps. Grâce aux équations 5 et 9, on peut calculer la viscosité apparente des pâtes de farine en fonction de leur composition. La figure 59 donne la viscosité apparente pour  $\epsilon_b = 0.1$  en fonction de la teneur en eau (Figure 59a) ou de la teneur en saccharose (Figure 59b). Les résultats présentés sont issus de la moyenne de 4 répétitions qui ont fait l'objet d'une ANOVA à un facteur (XLStat, Addinsoft, France) pour vérifier que les valeurs obtenues étaient bien significatives.

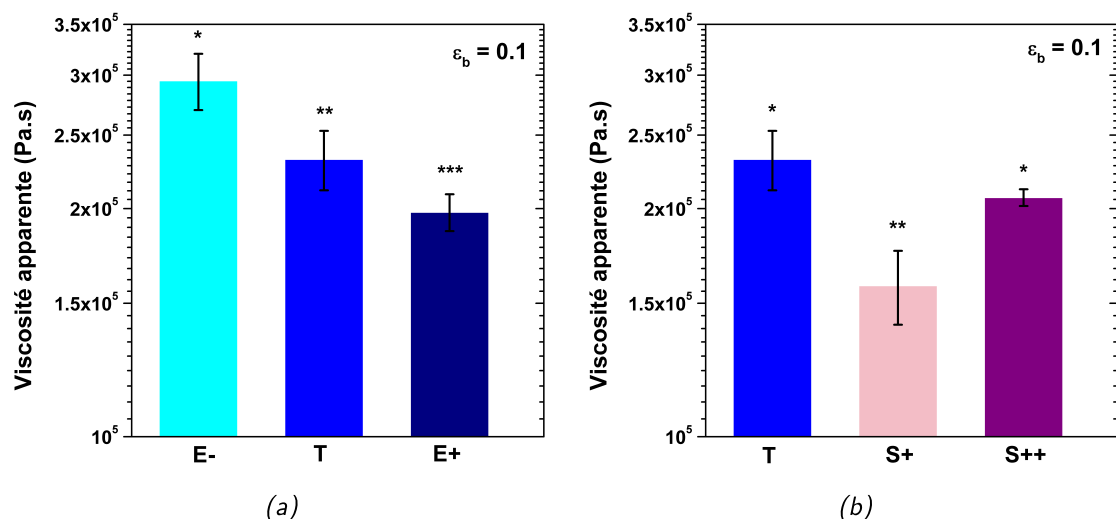


Figure 59 – Viscosité extensionnelle apparente des pâtes de farine mesurée par LSF en fonction de leur composition à  $\epsilon_b = 0.1$ . (a) Effet de la teneur en eau ; (b) Effet de la teneur en saccharose. Les astérisques (\*; \*\*; \*\*\*) représentent des viscosités apparentes significativement différentes selon le test de comparaison des moyennes issues de l'ANOVA.

Lorsque que l'on fait varier la teneur en eau dans une pâte de farine, la viscosité apparente de cette dernière varie. L'ajout d'eau permet de diminuer la viscosité (Figure 59a). Concernant

la teneur en saccharose dans les pâtes, on observe tout d'abord que l'ajout d'une teneur limitée en saccharose permet de diminuer la viscosité de la pâte, alors que l'ajout d'une plus grande quantité de saccharose semble avoir un effet inverse avec une augmentation moindre de la viscosité (Figure 59b). Les échantillons des pâtes **T** et **S+** puis des pâtes **S+** et **S++** ont des viscosités significativement différentes mais les résultats obtenus ne permettent pas de différencier les recettes **T** et **S++**.

Les viscosités calculées à partir des expériences de LSF menées aux petites déformations ( $\epsilon_b = 0.1$ ) sont globalement en accord avec Lassoued (2005) qui avait déjà décrit ce comportement. En revanche, dans son étude l'ajout de saccharose ( $\geq 7\%$ ) permettait de réduire la viscosité de la pâte. Par ailleurs, nos résultats ne montrent pas d'inversion des propriétés rhéologiques aux grandes déformations. D'une part, ces différences peuvent être dues aux ingrédients, la farine utilisée dans notre cas ne possède pas exactement la même composition que celle du travail précédent. D'autre part, les expériences de LSF ont été conduites à l'aide d'un MCR 301 (Anton Paar, Autriche) pouvant travailler à vitesse d'extension biaxiale constante alors que Lassoued (2005) a utilisé un texturomètre TA-XT2 (Stable Micro System, Royaume-Uni) travaillant à vitesse de compression constante. Or, Kouassi-Koffi *et al.* (2010) ont montré que le passage de l'un à l'autre n'est pas trivial et dépend du ratio diamètre/épaisseur de l'échantillon, de la quantité et de la viscosité de l'huile de paraffine utilisée pour lubrifier les essais ou encore du mode de pilotage de vitesse extensionnelle ( $\dot{\epsilon}_b$ ). La faible viscosité de l'huile de paraffine utilisée dans ce travail ( $\eta = 30 \text{ mPa.s}$ ) explique sûrement ces différences de résultats avec Lassoued (2005). Aux grandes déformations, les conditions de lubrification n'étaient pas optimales, la viscosité du lubrifiant étant trop faible et ce, tout particulièrement pour les pâtes **E+**, **S+** et **S++** qui sont plus collantes que les pâtes **E-** et **T**. Les pâtons restaient collés au plateau supérieur à la fin de l'essai montrant que l'huile avait été chassée au cours de l'essai ce qui a entraîné une lubrification imparfaite en fin d'essai.

### 3.2 Observations d'une pâte de farine sous traitement thermique

Quelques essais d'observations sous traitement thermique à température constante ont été réalisés grâce au système Peltier de la cellule d'observation sous cisaillement. À partir d'une pâte de farine témoin légèrement enrichie avec de l'huile de colza (5 g/100 g de farine), l'évolution d'une bulle d'air au cours du temps à une température fixée à 45°C est montrée dans la figure 60. Les zones vertes correspondent au réseau de gluten tandis que les zones orangé ou jaune représentent les gouttes de matière grasse enchâssées dans le réseau ce qui explique leur couleur due à la co-localisation avec les protéines. Initialement, les lipides sont disposés autour de la bulle d'air permettant de la stabiliser (Brooker, 1996). Au cours du temps, la température affecte la microstructure en provoquant des déplacements de gouttelettes ou des coalescences entre elles. Certaines gouttelettes disparaissent ou migrent dans l'image.

L'observation d'une pâte de farine sous traitement thermique n'est pas simple car la diffu-

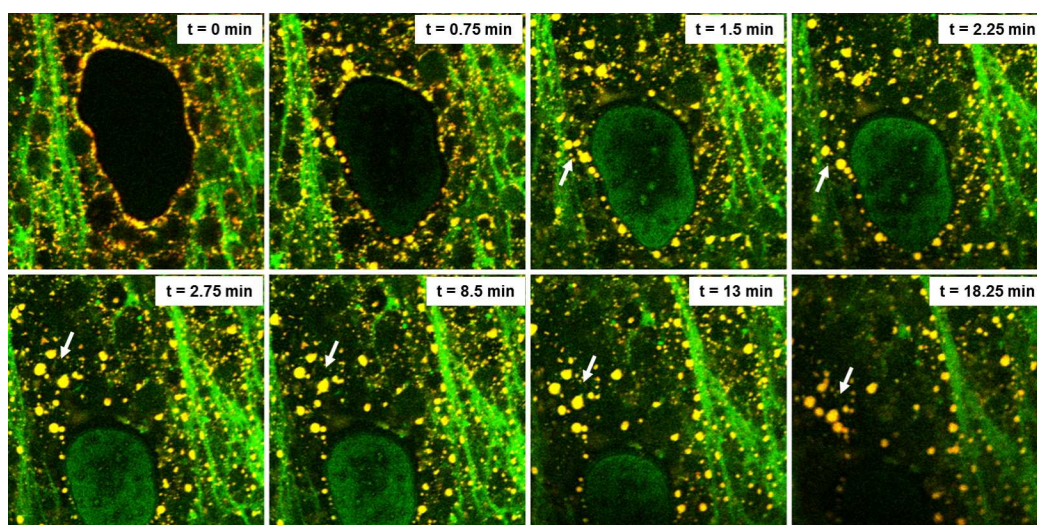


Figure 60 – Évolution d'une bulle d'air au cours du temps à  $T = 45^{\circ}\text{C}$  dans une pâte de farine enrichie en huile de colza (5 g/100 g de farine) et perte du plan focal au cours du temps. Les flèches blanches montrent des gouttelettes d'huile ayant subi des modifications (mouvements, coalescence).  
Image =  $220\ \mu\text{m} \times 220\ \mu\text{m}$

sion de la chaleur dans la matrice entraîne la perte du plan focal au cours du temps. Dès les premières minutes, la bulle initialement isolée disparaît progressivement. Au bout de 18 min, on devine toujours cette bulle en arrière plan de l'image, qui est devenue sombre et floue. En refocalisant l'image en fin d'expérience (Figure 61), la qualité de l'image de la bulle devient meilleure. Les gouttelettes ont une taille plus grande dans un réseau de gluten qui a lui aussi subi quelques modifications.

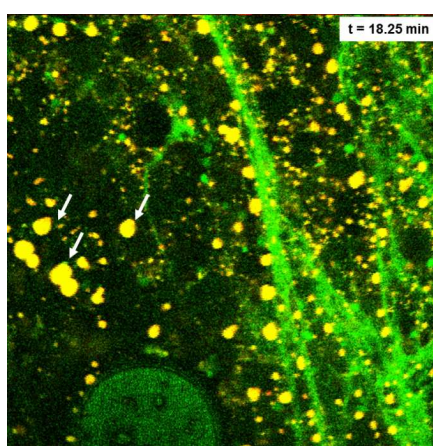


Figure 61 – Dernière image refocalisée d'une pâte de farine maintenue à  $45^{\circ}\text{C}$  pendant 18 min.  
Image =  $220\ \mu\text{m} \times 220\ \mu\text{m}$

La température joue un rôle important sur les ingrédients d'une pâte de farine et sa microstructure au cours du pétrissage. Le suivi de cette évolution n'est pas trivial dans ce cas. La température crée des mouvements de convection, qui sont difficilement contrôlables et rendent l'observation peu évidente. Une méthodologie particulière aux pâtes à pain ou de farine pourrait permettre de suivre l'évolution du réseau de gluten ou des autres constituants de



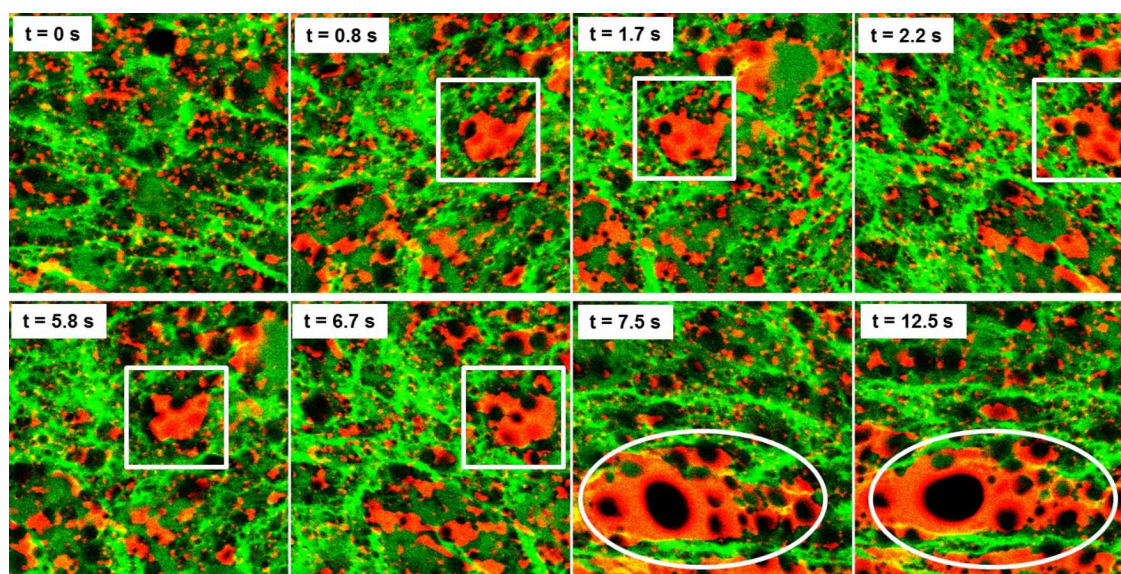


Figure 62 – Séquence d'images d'une pâte de farine enrichie en huile de colza (10g/100 g de farine) soumise à une oscillation ( $A = 1$  mm,  $f = 0.5$  Hz) au cours du temps à  $T = 40^{\circ}\text{C}$ . Vert : protéines du réseau de gluten. Noir : bulles d'air et grains d'amidon. Jaune/Orange : gouttes d'huile et zone de co-localisation lipides-protéines. Le carré blanc et l'ellipse blanche représentent 2 zones d'intérêt. Image =  $220\ \mu\text{m} \times 220\ \mu\text{m}$

la structure sous traitement thermique. Une rampe de température faible et contrôlée couplée à une correction progressive du plan focal devrait être envisagée. L'ajout de levure dans la formulation compliquera aussi ces observations puisque le phénomène de fermentation interviendra et favorisera les mouvements au sein de la matrice par l'intermédiaire de dégagements gazeux.

Enfin, un essai a été réalisé en imposant à la fois un traitement mécanique et thermique à une pâte de farine fortement enrichie en huile de colza (10 g/100 g de farine). En maintenant une température constante à  $T = 40^{\circ}\text{C}$ , un cisaillement oscillatoire ( $A = 1$  mm,  $f = 0.5$  Hz) engendre une déformation de la pâte de farine. La séquence d'images (Figure 62) montre l'évolution de la pâte et de ses constituants au cours du temps de cisaillement.

En s'intéressant particulièrement au devenir des lipides ajoutés dans la recette, il est évident que le traitement thermo-mécanique joue un rôle sur la microstructure. L'ajout d'une quantité importante d'huile crée des taches lipidiques réparties autour des bulles d'air. Ces taches peuvent être de taille très différentes selon leur positionnement dans le réseau de gluten. La section carrée montre que l'oscillation engendre la création de bulles d'air au sein de cette tache lipidique puis leur disparition. Le temps d'oscillation a aussi un effet sur la tache dont la surface orangée augmente mais aussi sur la localisation des bulles qui n'est pas toujours identique. L'ellipse blanche montre une région d'intérêt n'appartenant pas au champs d'observation en début du cisaillement. Elle permet de montrer la déformation d'une bulle d'air largement entourée d'huile à des temps différents. Les lipides se répandent au cours du cisaillement par coalescence. L'effet de la température n'est pas clairement mis en avant dans cette série d'images même si l'on peut la soupçonner de favoriser la coalescence des nappes de lipides.

L'observation de pâtes de farine enrichies en huile de colza et soumises à un traitement thermique montre une évolution de la répartition des lipides dans la matrice. Le cisaillement engendre des zones de co-localisation, qui semblent grandir au cours du temps. L'observation est possible à une température supérieure à la température ambiante sur des temps d'observation courts, de l'ordre de 10 à 20 s. Le maintien de la température sur des temps plus longs (supérieurs à la minute) crée des phénomènes de convection dans la matrice entraînant la perte du plan focal et le suivi en temps réel d'une zone d'intérêt. Par conséquent, observer les pâtes de farine sous traitements thermo-mécaniques nécessite le développement de méthodologies particulières telle qu'une correction du plan focal couplée à une faible rampe de température. Néanmoins, ces quelques essais ont permis de mettre en avant des potentialités intéressantes de la cellule d'observation sous cisaillement.

### 3.3 Observations de pâtes de farine sous contraintes mécaniques

Dans le cadre de ce travail méthodologique sur l'acquisition de structures sous cisaillement, nous nous sommes limités à l'étude du réseau de gluten des pâtes de farine formulées. Sur toutes les images suivantes, seul le réseau de gluten est représenté (en vert).

#### 3.3.1 Microstructures initiales en fonction de la composition

Après avoir laissé l'échantillon au repos pendant 30 min dans le but de favoriser la relaxation après la mise en place entre les 2 plateaux de la cellule de cisaillement, la microstructure des pâtes avant toute déformation est observée. Comme expliqué précédemment, la consistance et l'opacité de la pâte de farine empêchent d'observer à des plans focaux profonds par rapport au plateau inférieur. Néanmoins, pour éviter des artéfacts dus au contact avec les lamelles en verre, une distance de 5 - 10  $\mu\text{m}$  au dessus de la lamelle inférieure a systématiquement été utilisée pour effectuer les observations.

La figure 63 fournit une image initiale des pâtes étudiées en fonction de leur composition. Pour rappel, la couleur verte représente le réseau de gluten marqué par covalence à la Rhodamine B et les zones sombres ou noires correspondent à des bulles d'air ou des grains d'amidon enchâssés dans le réseau protéique. La pâte de farine témoin (**T**), contenant 5.5 g d'eau et 0 g de saccharose se caractérise par un réseau de gluten où les zones sombres sont réparties de façon homogène et les fibres constituant le réseau de gluten de façon uniforme.

##### 3.3.1.1 Effet de la teneur en eau

L'observation par microscopie confocale permet de mettre en évidence les détails du réseau de gluten en fonction de la teneur en eau. En prenant comme référence la pâte témoin (**T**), le réseau de gluten semble globalement uniforme avec une distribution des bulles d'air répartie

---

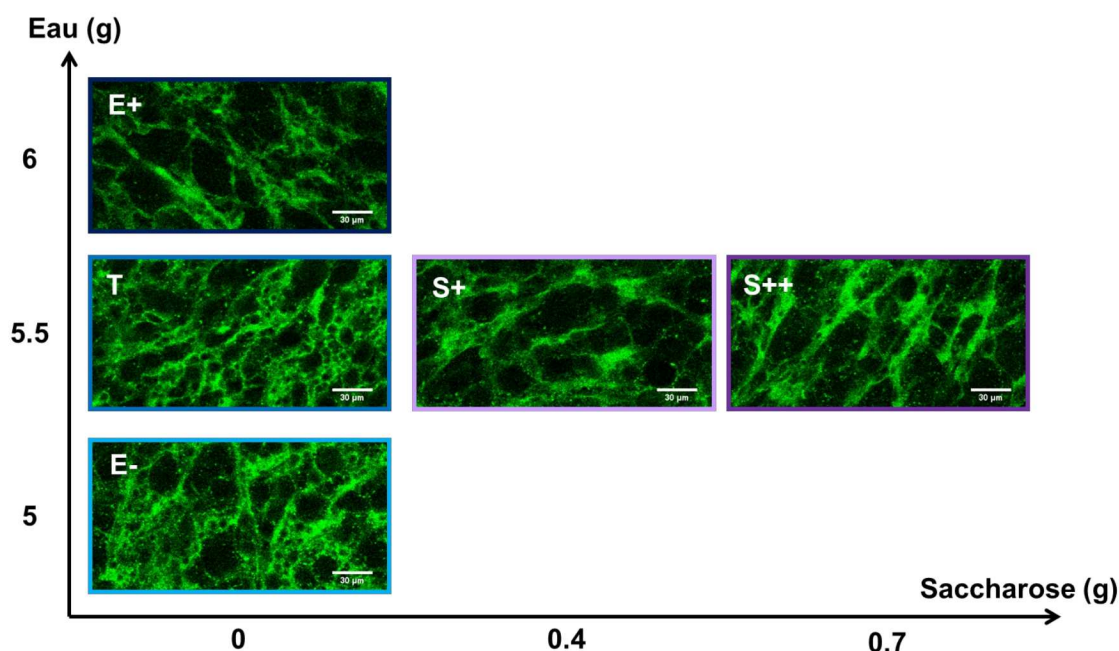


Figure 63 – Microstructures de pâtes de farine avant déformation en fonction de la teneur en eau et/ou en saccharose. Vert : protéines du réseau de gluten marqué par covalence à la Rhodamine B. Objectif :  $\times 40$  à eau. Profondeur d'observation =  $10\ \mu\text{m}$ .  $T = 20^\circ\text{C}$ . Images =  $220\ \mu\text{m} \times 110\ \mu\text{m}$

sur tout le réseau. L'intensité de la couleur verte de la pâte **T** sert de référence et indique un niveau de concentration en protéines dans les fibres constituant le réseau de gluten. Lorsque l'on diminue la quantité d'eau dans la pâte (**E-**), l'intensité de vert semble plus prononcée mais avec une répartition toujours uniforme. Il n'y a pas de contraste fort entre les zones sombres et le réseau de gluten vert. L'intensité de la couleur verte renseigne aussi sur une concentration en protéines plus élevée localement dans la pâte **E-** que dans les pâtes **T** ou **E+**, avec des sortes de fibres clairement visibles. Malgré le bruit de fond dû à l'atténuation du laser, on peut remarquer la présence de nombreuses petites bulles au sein du réseau de la pâte **E-**, comparé à la pâte **T** dont les zones sombres sont de tailles hétérogènes, comprises entre  $5$  et  $30\ \mu\text{m}$  et comparé à la pâte **E+** qui possède de larges zones sombres entre ses fibres de gluten. Par ailleurs, ces importantes (en taille) zones sombres observées dans les pâtes **T** et **E+** contribuent à l'impression d'hétérogénéité du réseau de gluten. Ces résultats sont en accord avec Lassoued (2005) et Bloksma (1990), ce qui montre que la composition de la farine influence peu la structure du réseau au regard de la variation induite par le changement de teneur en eau.

### 3.3.1.2 Effet de la teneur en saccharose

Proscrit dans la fabrication des pains français et de la baguette, le saccharose entre comme ingrédient minoritaire dans la composition des produits de panification destinés à la viennoiserie (pain de mie, viennois). Malgré son classement dans les ingrédients minoritaires lors de la fabrication des pâtes de farine de cette étude, le saccharose semble avoir un effet majoritaire sur

la structure de la pâte. L'addition de saccharose (**S+**) change considérablement la morphologie du réseau protéique. Le réseau de gluten présente un caractère fibrillaire non observé dans la pâte **T**. Le saccharose semble donc favoriser l'état d'agrégation des protéines qui forment des structures fibrillaires. En augmentant encore sa teneur (**S++**), le saccharose permet de renforcer ces fibres, que l'on observe plus larges. Par voie de conséquence, le réseau devient discontinu et composé de fibres et les zones sombres représentent une part importante dans la région d'intérêt observée.

Les échantillons ont été laissés 30 min au repos avant observation pour permettre la relaxation des forces de compression lors de la mise en place. Dans le cas des échantillons ne contenant pas de saccharose (pâtes **E-**, **T** et **E+**), la pâte ne présente pas d'orientation particulière résultant de cette mise en place. En revanche, l'ajout de saccharose et son effet sur la structure du réseau couplé à la compression lors de la mise en place de l'échantillon peuvent expliquer l'orientation observée dans les pâtes **S+** et **S++**. Les pâtes relaxent moins bien ou conservent une structure orientée en présence de saccharose. Cette pré-orientation semble même plus prononcée dans le cas de la pâte **S++** que de la pâte **S+**.

### 3.3.2 Microstructures sous contraintes mécaniques

Les différentes pâtes de farine de cette étude ont été soumises à une déformation par l'intermédiaire d'un mouvement sinusoïdal ( $A = 0.4$  mm,  $f = 0.3$  Hz) du plateau inférieur pendant 30 s. Les figures 64 et 65 représentent une séquence d'images au cours de 2 périodes d'oscillation ( $t = 1 - 4$  s et  $28 - 31$  s) en fonction de la composition. Ces 2 périodes sont isolées afin de discuter des évolutions du réseau de gluten au cours d'une période mais également de l'application de la déformation et du cisaillement, fonction sinusoïdale du temps pendant 30 s. On élimine les premières images ( $t \leq 1$  s) correspondant à la mise en route du dispositif.

Dans la description des images obtenues au cours de la déformation, les planches d'images (Figures 64 et 65) sont utilisées et chaque image est codée de la façon suivante : **X\_t** où **X** représente le code de la composition (**E-**, **T**, **E+**, **S+** ou **S++**) et **t** correspond au temps écoulé depuis le début de l'application de la déformation suivant une fonction sinusoïdale du temps. Par exemple, la photo de la pâte à pain enrichie en eau à 1.75 s est notée : **E+\_1.75**.

#### 3.3.2.1 Effet de la teneur en eau

Les images utilisées dans la description ci-après font référence à la figure 64. Considérons dans un premier temps les images obtenues lors des premières secondes d'oscillation, entre  $t = 1$  et  $t = 4$  s. Après une première seconde de mise en action du plateau inférieur, les images **T\_1** et **T\_1.25** correspondent au réseau de gluten pour une déformation maximale ( $\gamma = 0.8$ ) et une vitesse de cisaillement quasiment nulle. Le plateau inférieur part ensuite en sens opposé et les photos **T\_1.5** à **T\_2.5** montrent l'orientation du réseau de gluten en sens opposé. Ce comportement est sensiblement le même pour les pâtes **E-** et **E+**. Il est intéressant de noter

que le réseau de gluten est toujours fortement orienté lorsque la déformation est faible ou nulle ( $\gamma$  compris entre 0 et 0.2) et quasiment non orienté pour la déformation maximale.

Après 30 s d'oscillation, les images obtenues lors de la dernière période sont comparées aux images obtenues lors de la première pour un même échantillon. Le comportement est similaire avec une orientation du réseau de gluten lorsque la déformation est petite mais la vitesse de cisaillement élevée. En revanche, quelques différences apparaissent concernant l'état du réseau. Les zones sombres sont de plus grande taille dans les pâtes **E+** (image **E+\_1** comparée à l'image **E+\_30.75**) ce qui implique un réseau plus discontinu. Dans ces conditions, l'orientation du réseau est moins visible même si elle est toujours présente (**E+\_28.25**). Ces poches noires résultent sûrement de la fracture de certaines parties du réseau de gluten, fragilisé sous l'effet du cisaillement. Ce phénomène a aussi lieu dans la pâte **E-** mais de façon moins prononcée. Le réseau de gluten de la pâte **E+** semble donc plus sensible à un cisaillement que les réseaux de la pâte témoin **T** et de la pâte **E-**.

### 3.3.2.2 Effet de la teneur en saccharose

Comme décrit précédemment, l'ajout de saccharose change la morphologie du réseau de gluten en favorisant l'agrégation des protéines sous forme de fibres. Cette agrégation est d'autant plus significative que la teneur en saccharose est importante. De plus, une pré-orientation du réseau apparaît avec l'ajout de saccharose. Toutes les images décrites dans ce paragraphe font référence à la figure 65. Comme pour l'influence de la teneur en eau, la microstructure ne suit pas la déformation mais plutôt la vitesse du plateau inférieur. En effet, les images **S+\_0**, **S+\_1.25** et **S+\_2.75** sont clairement similaires et très peu orientées. En revanche, l'agrégation des protéines en fibres accentue cette impression d'un réseau fibrillaire orienté dans la direction du cisaillement (images **S+\_1** et **S+\_3** puis **S++\_1** et **S++\_3**).

Au bout de 30 s d'oscillation, on remarque également que, aussi bien pour la pâte **S+** que la pâte **S++**, des zones sombres sont apparues. Les fibres résultant de l'agrégation des protéines se sont donc renforcées au cours du temps de cisaillement. Cette évolution est particulièrement visible sur l'image **S++\_30.25** comparée à l'image **S++\_1.5**. D'une façon très qualitative, le temps d'oscillation a aussi une influence sur l'orientation des fibres, qui semblent plus orientées après 30 s de cisaillement. Les images **S++\_3** et **S++\_30** illustrent cette idée. Le saccharose a donc tendance à favoriser la formation d'un réseau de gluten fibreux et les cisaillements répétés pendant 30 s favorisent le renforcement des fibres.

Ces descriptions qualitatives montrent des différences claires entre les comportements des échantillons en lien avec leur composition, la déformation et le temps de la déformation. Le réseau de gluten subit des modifications structurales au cours du cisaillement (réarrangement de protéines, fracture de certaines parties du réseau, tailles des zones sombres (amidon et bulles)). Grâce à ces clichés, des microstructures sont superposées au cours du temps aux propriétés rhéologiques des pâtes. Mais la description qualitative de ces images est limitante car ne prenant pas en compte la morphologie et les réelles différences de contraste ainsi que les limites de

l'œil humain qui ne voit au maximum que 16 niveaux de gris sur les 256 existants. Il est donc indispensable de développer des méthodes d'analyse d'images permettant une quantification des modifications morphologiques du réseau de gluten en fonction de la composition mais également du cisaillement.



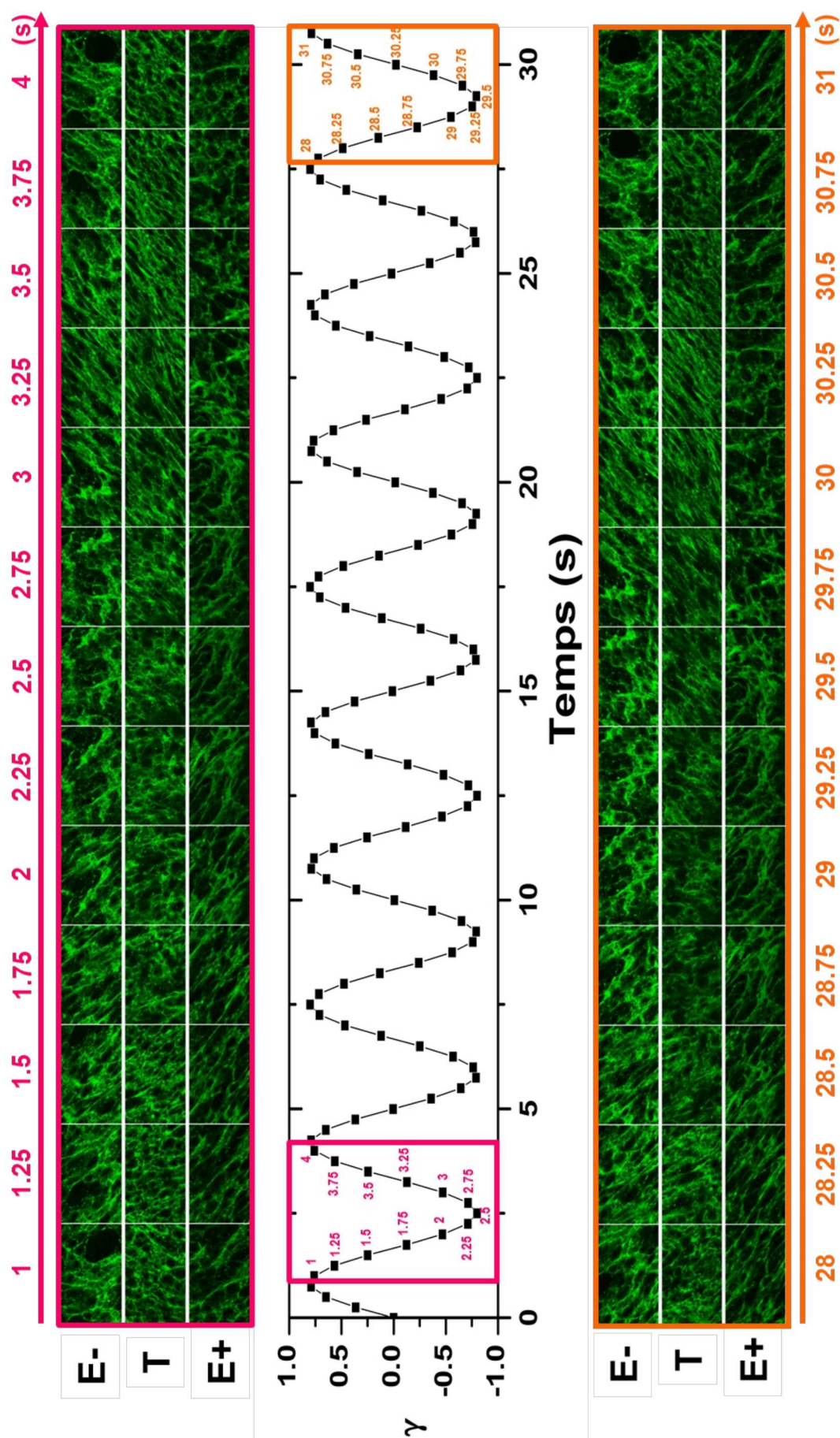


Figure 64 – Séquences d'images de pâtes à teneur en eau variable en fonction de la déformation imposée ( $\gamma$ ) ; 5 g d'eau (E-), 5.5 g (T) et 6 g (E+)

Haut :  $t = 1 - 4$  s. Bas :  $t = 28 - 31$  s. Image =  $220 \mu\text{m} \times 110 \mu\text{m}$

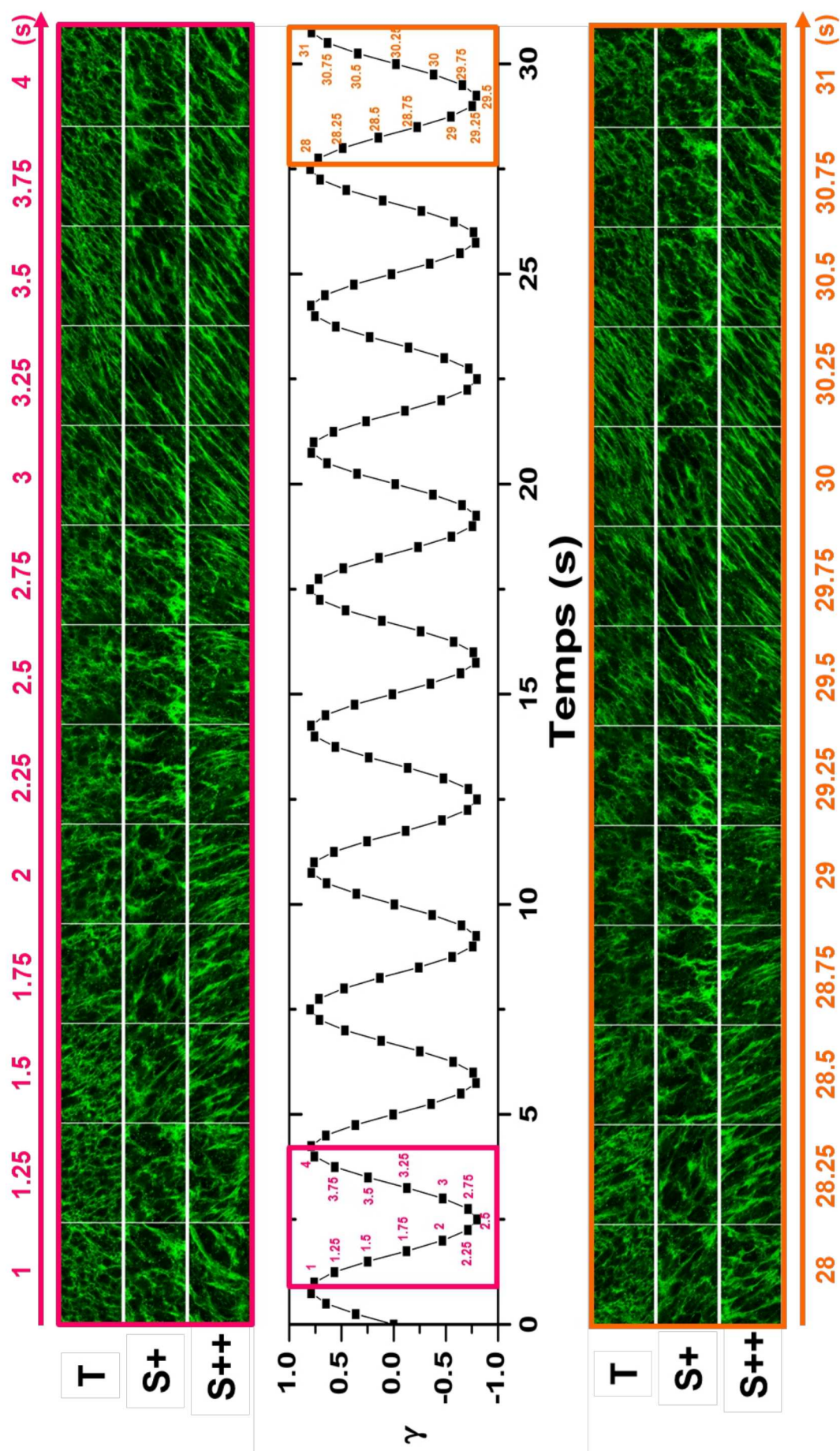


Figure 65 – Séquences d'images de pâtes à teneur en saccharose variable en fonction de la déformation imposée ( $\gamma$ ); 0 g (T), 4 g (S+) et 7 g (S++)

Haut :  $t = 1 - 4$  s. Bas :  $t = 28 - 31$  s. Image =  $220 \mu\text{m} \times 110 \mu\text{m}$



### 3.3.3 Vers une quantification des microstructures et de leur évolution au cours de la déformation

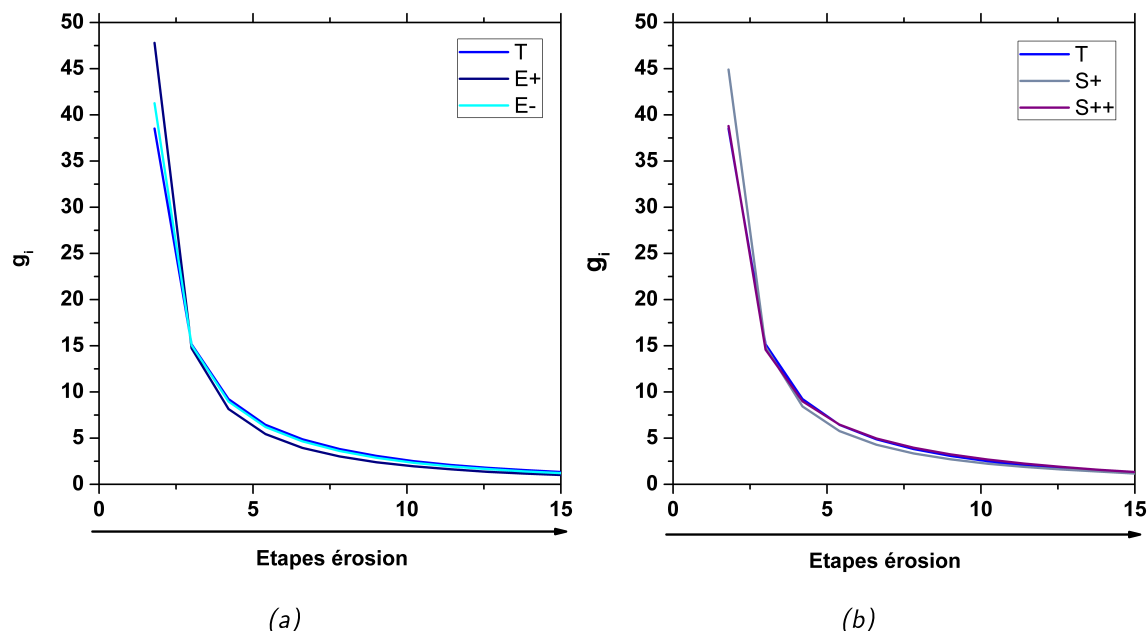


Figure 66 – Courbes obtenues par morphologie mathématique sur les images initiales avec un élément structurant linéaire orienté à  $135^\circ$

(a) Effet de la teneur en eau ; (b) Effet de la teneur en saccharose

Les 130 images présentées dans les planches 64 et 65 sont donc traitées en utilisant la morphologie mathématique. Les courbes de variations de la somme des niveaux de gris sont obtenues. Les figures 66a et 66b représentent un exemple de variation des niveaux de gris en fonction des étapes d'érosion pour les images avant déformation. Après l'étude qualitative précédente mettant en avant des différences de morphologie du réseau de gluten, nous nous sommes intéressés uniquement aux étapes d'érosion, qui diminuent les niveaux de gris en faisant disparaître les objets clairs. En fonction de la composition, ces courbes diffèrent par leur sommet et la façon dont elles « descendent » au cours des étapes d'érosion successives. Les courbes de la figure 66 ne sont pas superposées et montrent des différences. Les coordonnées de ces courbes sont ensuite analysées à l'aide d'une analyse en composantes principales (ACP).

Dans la suite, nous nous sommes concentrés uniquement sur les images comprises entre 1 et 2.5 s d'une part puis 28 et 29.5 s d'autre part, de façon à étudier l'effet du niveau de déformation ( $\gamma = 0.2$  et  $0.8$ ) et l'effet du cisaillement (début ou fin des 30 s d'oscillation) sur la structure du réseau en fonction de la recette des pâtes. La figure 67 représente le positionnement des 70 images (7 images  $\times$  2 intervalles  $\times$  5 recettes) sur le plan formé par les 2 axes principaux de l'ACP. Ces axes représentent 98.6% de la variance totale. Quelques images correspondant aux points positionnés aux extrémités sont ajoutées pour visualiser en quoi les structures diffèrent. En comparant les images **E+\_1** et **S+\_29**, positionnées aux extrémités de l'axe 1, des différences dans l'intensité de la couleur verte au sein du réseau de gluten sont

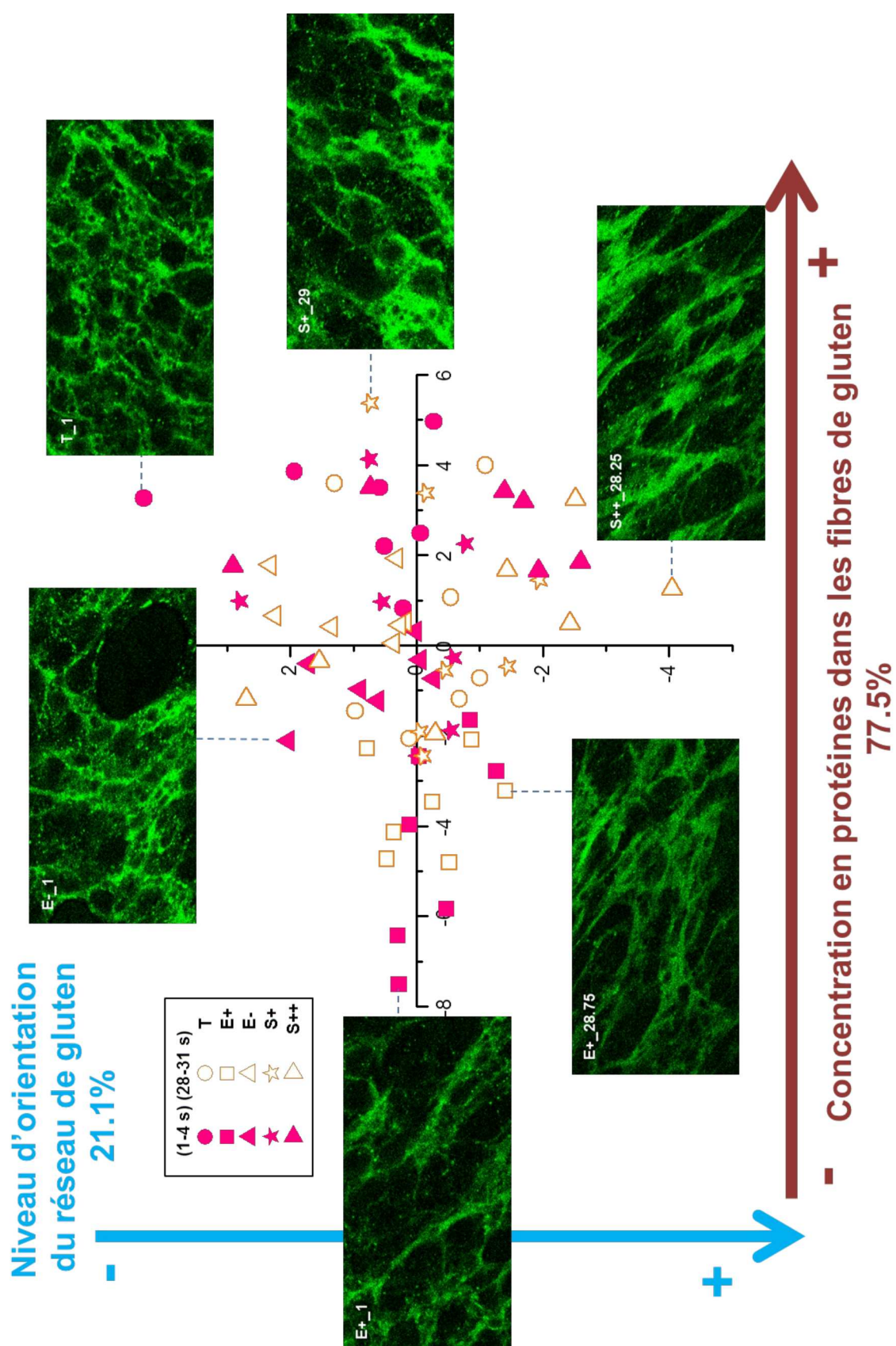


Figure 67 – ACP représentant les images entre  $t = 1$  et  $t = 2.5$  s (▲, ●, ■, ★, ►) et entre  $t = 28$  et  $t = 29.5$  s (△, ○, □, ☆, ▷) pour toutes les recettes  
Détermination des 2 axes principaux et proposition d'interprétation. Les 6 images correspondent aux extrémités de l'ACP. Image =  $220 \mu\text{m} \times 110 \mu\text{m}$

clairement visibles. L'image **S+\_29** présente un réseau de gluten comportant des fibres de gluten de couleur verte très intense séparées par des zones noires. Or, plus la couleur verte est marquée, plus la concentration en protéines est localement importante. La photo **E+\_1** montre un réseau de gluten pour lequel la couleur verte est répartie de façon beaucoup plus homogène sur toute la photo et de façon moins intense. Même s'il y a des alternances de zones foncées et de zones plus claires, il y a beaucoup moins de fibres de gluten très concentrées en protéines. Les photos **E+\_28.75** et **E-\_1**, positionnées à gauche sur l'axe 1, présentent les mêmes réseaux de gluten diffus sans fibres très concentrées en protéines. L'axe 1 de l'ACP semble donc opposer les images présentant un réseau de gluten à concentration en protéines répartie de façon relativement homogène dans toute la pâte (à gauche) aux images possédant un réseau de gluten comportant des fibres concentrées en protéines alternant avec des zones peu concentrées (à droite).

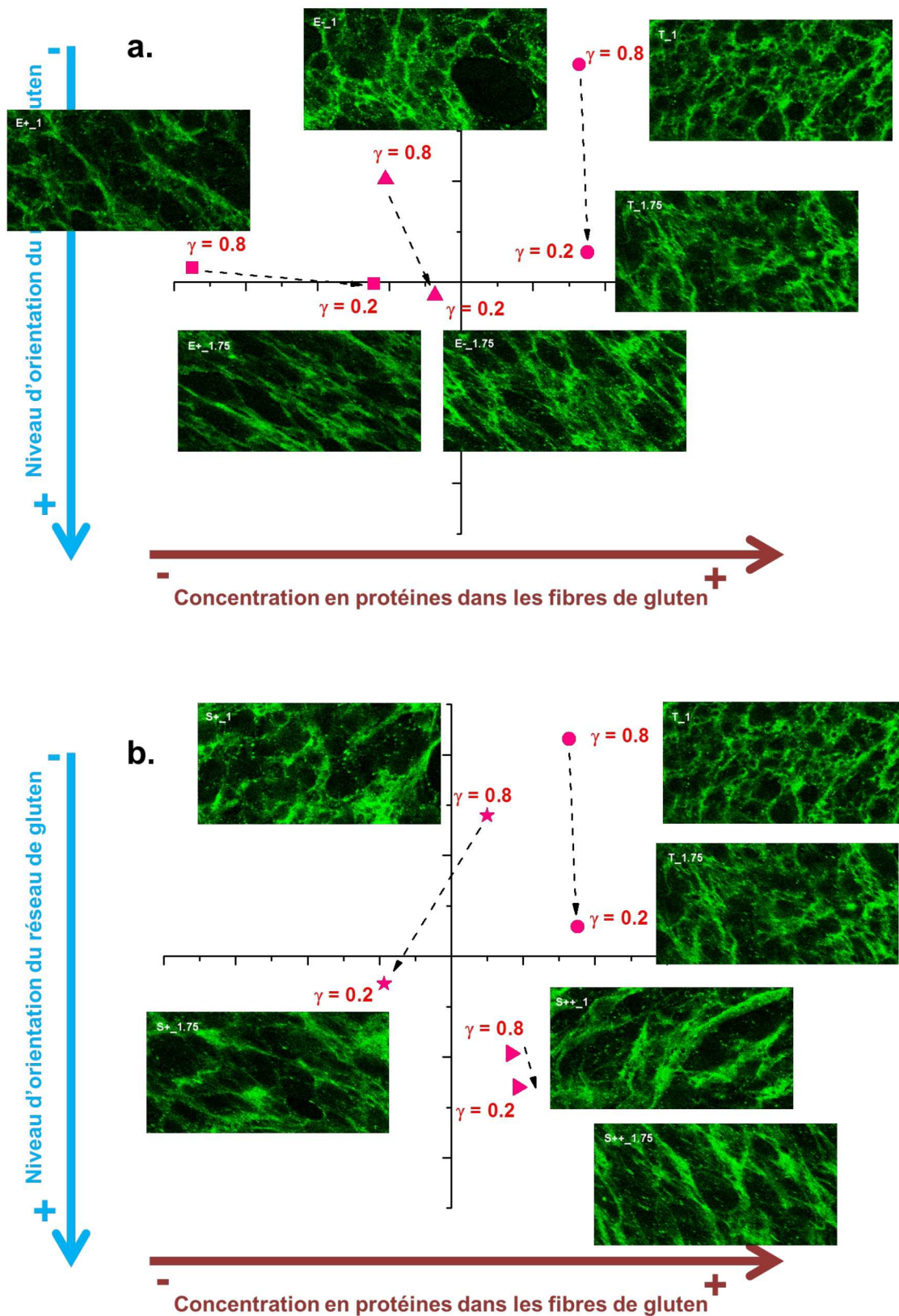
Les photos **T\_1** et **S++\_28.75**, positionnées aux extrémités opposées de l'axe 2 de l'ACP, se situent au même niveau de l'axe 1 et pourtant présentent des morphologies très différentes de leur réseau de gluten. Hormis la structure fibrillaire renforcée par l'ajout de saccharose déjà décrite précédemment, les 2 images ne présentent pas du tout le même niveau d'orientation du réseau de gluten. L'image **S++\_28.75** possède un réseau bien plus orienté que l'image **T\_1**, de même que l'orientation du réseau de gluten dans **E+\_28.75** est plus prononcée que celle observée dans **E-\_1**. L'axe vertical (axe 2) semble donc permettre de différencier les morphologies des images selon le niveau d'orientation du réseau de gluten, les images présentant un réseau de gluten très orienté se situent en bas de l'axe 2, alors que les images ne présentant pas d'orientation du réseau se situent en haut de cet axe.

Comme décrit ci-dessus, les 2 axes principaux, représentant 98.6% de la variance totale, fournissent donc des informations d'une part sur la concentration en protéines dans les fibres du réseau de gluten et d'autre part sur l'orientation de ce même réseau.

L'évolution du positionnement sur la carte de ces images en fonction de la déformation, du cisaillement et de la composition des pâtes a été suivie. Afin d'identifier les effets de façon séparée, les différents points associés à leur image sont représentés pour décrire les changements structuraux ayant eu lieu au cours de la déformation sinusoïdale imposée pendant 30 s. Chacune des cartes ci-après possède exactement les mêmes axes que l'ACP générale. L'effet de la déformation est donc étudié ( $\gamma = 0.2$  ou  $0.8$ , Figures 68) ainsi que l'effet du temps de cisaillement (début ou fin) pour chacun des effets de la composition (teneur en eau, Figures 69 ou en saccharose, Figures 70).

### 3.3.3.1 Effet de la déformation

En considérant uniquement les images de la première oscillation, l'effet du niveau de déformation sur la structure du réseau de gluten en fonction de la composition est comparé. Seuls les points à  $t = 1$  s et  $t = 1.75$  s et leurs images correspondantes sont laissés sur la carte ACP pour faciliter la lecture (Figures 68). Le niveau de déformation a un effet important sur la structure



des pâtes. Les points **T\_1**, **E\_-1**, **S+\_1** et dans une moindre mesure **S++\_1**, correspondant à  $\gamma = 0.8$ , se déplacent vers le bas selon l'axe 2 conduisant aux points **T\_1.75**, **E\_-1.75**, **S+\_1.75** et **S++\_1.75** pour  $\gamma = 0.2$ . Ce déplacement correspond à une orientation du réseau de gluten, qui est donc plus prononcée aux faibles déformations, c'est-à-dire aux fortes vitesses de cisaillement. Les images respectives associées aux points précédents montrent cette évolution du niveau d'orientation et confirment l'interprétation de l'axe 2 proposée à partir de l'ACP générale (Figure 67). Que ce soit donc en faisant varier la teneur en eau (Figure 68a) ou celle en saccharose (Figure 68b), le passage des grandes aux petites déformations favorise l'orientation du réseau de gluten.

L'effet semble moins prononcé sur la pâte **E+** dont la diminution du niveau de déformation a plutôt tendance à concentrer en protéines les fibres du réseau de gluten tout en l'orientant légèrement (images **E+\_1** et **E+\_1.75**). La raison de ce comportement pourrait résider dans une pré-orientation oblique dans l'image **E+\_1**, sans doute induite lors la mise en place de l'échantillon, qui expliquerait le positionnement beaucoup plus bas du point de la pâte **E+** par rapport aux pâtes **T** et **E-**.

### 3.3.3.2 Effet de la teneur en eau

Aux petites déformations ( $\gamma = 0.2$ , Figure 69a), les pâtes **T** et **E-** se différencient au cours du temps principalement selon l'axe 1 tandis que **E+** va évoluer selon l'axe 2. Les images **T\_1.5**, **T\_28.75** et **E\_-1.5**, **E\_-28.75** illustrent un comportement opposé des pâtes **T** et **E-**. La pâte **T** a tendance à perdre en intensité de couleur verte au cours du cisaillement, alors que la pâte **E-** présente des fibres plus épaisses et intense en couleur, correspondant à un renforcement des fibres en protéines. Le temps de cisaillement a donc un effet opposé sur ces 2 recettes, diminuant d'une part la concentration en protéines dans les fibres du réseau dans la pâte **T** et en augmentant d'autre part cette concentration dans la pâte **E-**. La pâte **E+** subit quant à elle une légère migration vers le bas, synonyme d'orientation de son réseau. Les images **E+\_1.5** et **E+\_28.75** montrent bien cette orientation au cours du cisaillement pour un même niveau de déformation.

En augmentant la déformation ( $\gamma = 0.8$ , Figure 69b), les images correspondant aux 3 recettes montrent des comportements différents au cours du cisaillement. La pâte **T** évolue selon l'axe 2, avec une forte orientation de son réseau après 27 s d'oscillation. À l'opposé, la pâte **E+** se distingue par un décalage de son point vers la droite (passage de l'image **E+\_1** à **E+\_28**), qui s'interprète par une concentration plus élevée en protéines dans les fibres du réseau de gluten. Située entre les 2 recettes précédentes, la pâte **E-** présente un comportement intermédiaire. L'image **E\_-28** montre l'évolution au cours du temps par rapport à l'image **E\_-1**. Une orientation du réseau ainsi qu'une intensité plus forte en vert sont clairement visibles sur l'image **E\_-28**.



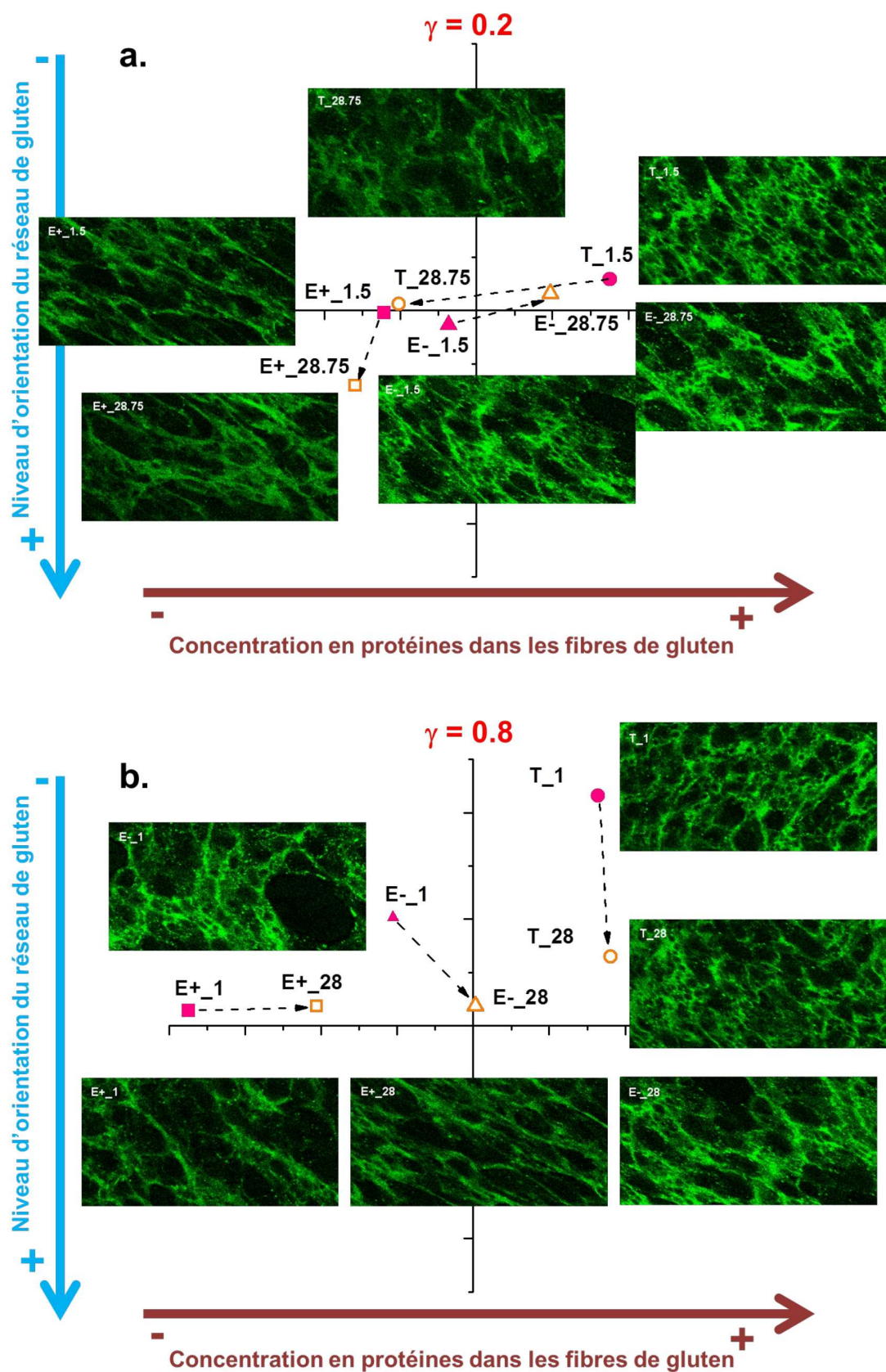


Figure 69 – Cartes des images correspondant à l'effet de la teneur en eau et du temps d'application des sinusoides sur la microstructure de pâtes de farine pour (a)  $\gamma = 0.2$  ou (b)  $\gamma = 0.8$ .  
Image =  $220 \mu m \times 110 \mu m$

### 3.3.3.3 Effet de la teneur en saccharose

Comme décrit précédemment, l'ajout de saccharose confère au réseau de gluten un caractère fibrillaire sûrement dû à une agrégation des protéines favorisée par la présence de saccharose. Cette microstructure particulière ne possède donc pas le même comportement sous cisaillement que celles rencontrées lors de l'ajout d'eau. Les figures 70a et 70b permettent de positionner les images et leur morphologie sur la carte ACP en fonction de la déformation et du temps de l'oscillation.

De manière générale, on remarque que l'ajout de saccharose décale toutes les images vers le bas par rapport au témoin et ce, quels que soient la déformation et le temps de cisaillement. Les microstructures sont donc plus orientées et d'autant plus que la teneur en saccharose est élevée (pâte **S++** plus orientée que **S+**). Les images correspondant aux recettes enrichies en saccharose sont placées à droite sur la carte, présentant une structure fibrillaire concentrée en protéines.

Aux petites déformations, les pâtes **T** et **S+** subissent des modifications opposées au cours du temps de cisaillement avec un comportement similaire à l'effet d'une diminution d'eau. L'image **S+\_1.5** devient **S+\_28.75**, qui présente une structure plus intense avec des zones vertes bien prononcées. Dans le même temps, **T\_28.75** montre l'effet du temps du cisaillement sur la pâte **T** en lui conférant un réseau moins intense et plus diffus d'un point de vue de la concentration en protéines dans les fibres. Le cisaillement modifie donc fortement la concentration protéique fibrillaire des pâtes **T** et **S+** aux petites déformations. Sur ces 2 recettes, les modifications relatives à l'orientation de leur réseau sont légères, avec **S+\_28.75** qui semble un peu moins orienté que **S+\_1.5**. Les images **S++\_1.75** et **S++\_28.75** permettent d'illustrer une légère accentuation de l'orientation du réseau au cours du cisaillement pour la pâte **S++** aux petites déformations, mais ne montrent pas d'évolution de la concentration protéique dans les fibres du réseau de gluten.

En augmentant la déformation, les différences sont plus axées sur l'orientation du réseau de gluten mais avec encore une fois des comportements différents pour les 3 recettes. Comme décrit ci-dessus, la pâte **T** s'oriente fortement au cours du cisaillement pour les grandes déformations. L'image **S+\_28** montre un réseau de gluten plus orienté que **S+\_1**. On note aussi la présence de zones sombres plus grandes en taille et la perte d'intensité dans les fibres du réseau de gluten, ce qui impliquerait une sorte de dilution ou de désagrégation des fibres par le cisaillement. Le temps de cisaillement aux grandes déformations semble donc avoir un double effet sur la pâte **S+** en favorisant son orientation tout en diminuant la concentration locale en protéines au sein des fibres. Comme observé pour les petites déformations, le temps de cisaillement a peu d'effet sur la pâte **S++**. Le point **S++\_28** se décale légèrement vers la droite et le bas par rapport à celui **S++\_1**. Les images correspondantes montrent effectivement que les fibres du réseau sont plus légèrement vertes après 27 s de cisaillement et l'orientation plus prononcée.

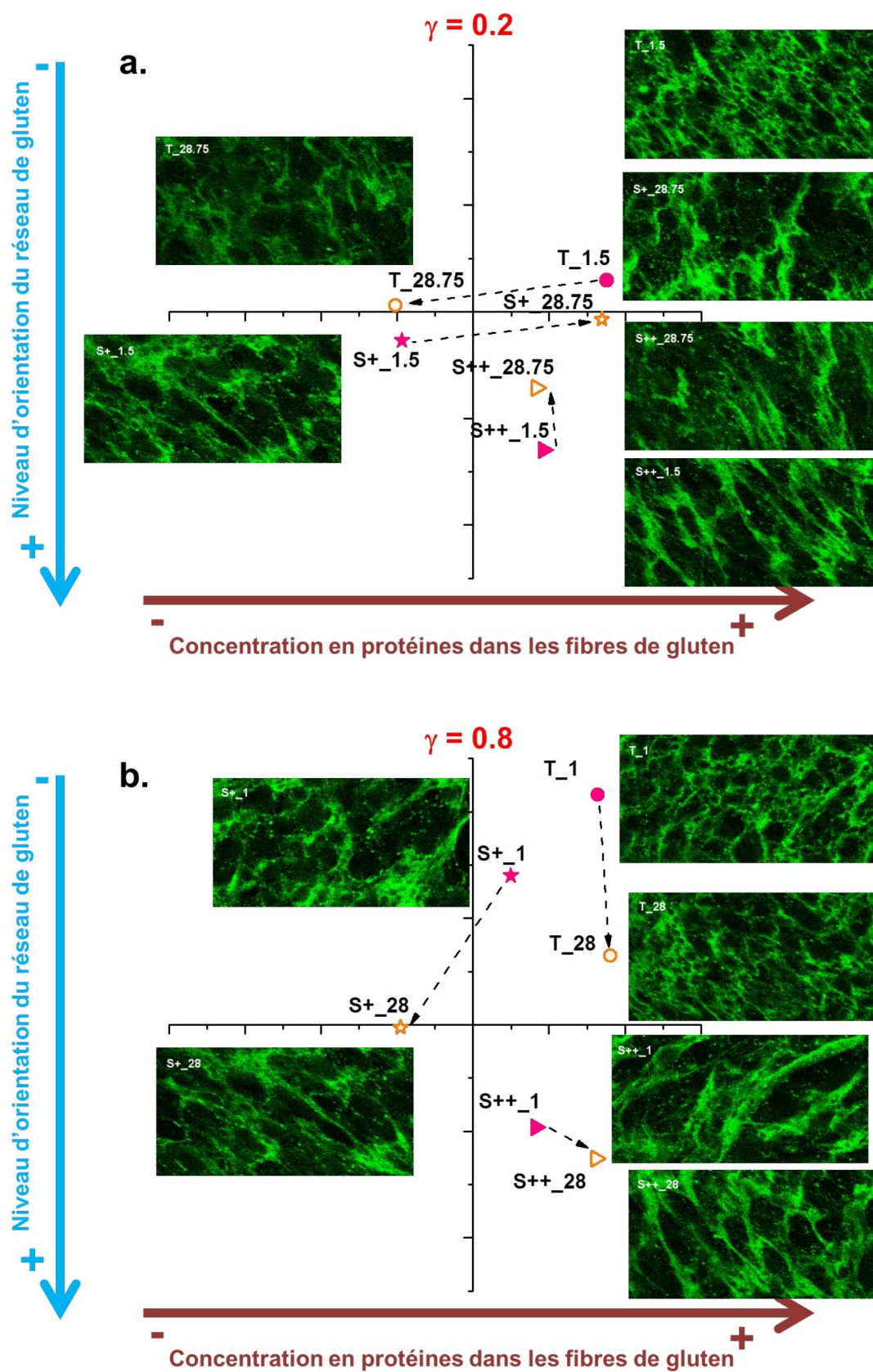


Figure 70 – Cartes des images correspondant à l'effet de la teneur en saccharose et du temps d'application des sinusoides sur la microstructure de pâtes de farine pour (a)  $\gamma = 0.2$  ou (b)  $\gamma = 0.8$ .  
Image =  $220 \mu\text{m} \times 110 \mu\text{m}$



Tous ces éléments permettent donc, grâce à la morphologie mathématique, de suivre et d'interpréter l'évolution d'un réseau de gluten soumis à une contrainte mécanique au cours du temps. La morphologie du réseau de gluten dépend d'une part de la composition de la pâte et d'autre part du niveau de déformation et du temps de cisaillement auxquels il est soumis.

## Chapitre 4

# Conclusions sur l'observation de pâtes de farine sous contraintes

Grâce à la cellule d'observation sous cisaillement développée au cours de ce travail, l'évolution de la microstructure d'un réseau de gluten en fonction de la composition de pâtes de farine a été étudiée. L'acquisition d'images de ce type de système, dont les propriétés optiques ne sont pas optimales, permet de valider le fonctionnement de l'outil développé dans des conditions limites de son utilisation. Un compromis satisfaisant a été trouvé entre les conditions de fonctionnement mécaniques et optiques.

Cette étude méthodologique a permis de mettre en avant de façon qualitative les différences entre des pâtes de compositions variables en eau et en saccharose, tout en prenant en compte l'effet du niveau de déformation et du temps de cisaillement. Le niveau de teneur en eau dans la pâte entraîne la formation de réseaux de morphologie différente. La pâte témoin et la pâte moins riche en eau présentent des réseaux de gluten répartis sur toute la surface et de couleur relativement homogène et contenant de petites zones plus sombres. Le réseau de gluten de la pâte enrichie en eau par rapport au témoin est constitué de fibres plus ou moins concentrées en protéines espacées par des zones de couleur noires. Les zones sombres, représentant les bulles d'air et les grains d'amidon, sont particulièrement prononcées dans la pâte enrichie en eau par rapport au témoin. L'ajout de saccharose confère au réseau de gluten une structure particulière, en favorisant l'agrégation des protéines sous forme de fibres. La densité de ces fibres est proportionnelle à la quantité de saccharose ajoutée. Les images obtenues montrent une dépendance de l'orientation de la microstructure à la vitesse de déplacement du plateau. Le saccharose induit une orientation primaire qui facilite l'orientation des fibres au cours de la déformation. Le temps de cisaillement joue un rôle sur la structure du réseau de gluten en permettant de renforcer ou de diminuer le niveau d'agrégation des protéines ou de détruire certaines structures engendrant ainsi des zones sombres de plus grandes tailles.

Une approche quantitative par une analyse d'image utilisant la méthode de morphologie mathématique couplée à une analyse statistique a permis de positionner les différentes images

sur des cartes. Les morphologies du réseau de gluten se différencient selon 2 axes principaux : la concentration en protéines du réseau de gluten et l'orientation de ce même réseau. Cette approche permet de quantifier ces différences de structures en fonction de la déformation et du temps d'oscillation.

La concentration en protéines des fibres du réseau de gluten et l'orientation de ce dernier influencent nécessairement les propriétés rhéologiques des différentes pâtes étudiées. Néanmoins, le classement des viscosités apparentes obtenues par compression en conditions lubrifiées en fonction de la composition ne semble pas corrélé avec les types de réseau observés avec la cellule et leur évolution mise en évidence par l'analyse d'images. Par exemple, l'ajout d'eau (pâte **E+**) ou de saccharose (pâte **S+**) dans une pâte de farine témoin (**T**) diminue la viscosité apparente des pâtes mais les points correspondants sur le plan de l'analyse en composante principale ne sont pas positionnés au même endroit et ne se déplacent pas de la même manière en fonction du niveau de déformation et après un cisaillement de 30 s. Les réseaux de gluten correspondant n'ont pas la même morphologie initiale (concentration en protéines dans les fibres, pré-orientation induite par la mise en place). La difficulté à établir un lien entre la viscosité mesurée dans cette étude et les résultats de l'observation sous cisaillement peut s'expliquer tout d'abord par le fait que la déformation subie par la pâte lors de la caractérisation rhéologique est une extension biaxiale alors que la cellule d'observation sollicite les pâtes par cisaillement entre deux plans. Les fibres du réseau de gluten ne sont donc pas sollicitées de la même manière dans les deux types d'essais. De plus, le niveau de pré-orientation lors de la mise en place joue un rôle non négligeable sur les propriétés rhéologiques mesurées Davidou *et al.* (2008). L'orientation observée dans les pâtes **E-** et **S++** avant la déformation existe très probablement dans les pâtons pour les essais rhéologiques. Elle pourrait même être renforcée par la mise en forme effectuée par extrusion d'une bande de pâte, puis laminage. Typiquement, une mesure de la force au cours du cisaillement permettrait de lier les propriétés rhéologiques aux observations microscopiques sous contraintes.

---

## Conclusion Générale - Perspectives

À l'issue de ce travail, un prototype de cellule d'observation sous cisaillement a été mis au point, validé à vide, sur système modèle puis sur système complexe, et breveté. Il est d'un encombrement faible (20 cm x 20 cm x 20 cm) et d'un poids réduit (3 kg). Facilement transportable, il est adaptable à n'importe quel microscope en changeant sa base (1 plaque, 4 vis). Le logiciel de pilotage, muni d'une interface graphique simple et conviviale, rend la cellule aisée à prendre en main. Ce nouveau dispositif permet de déformer une matrice par translation tout en maîtrisant son environnement thermique et en observant sa microstructure à l'échelle mésoscopique à l'aide d'un microscope confocal à balayage laser. Les gammes des déformations et de vitesses de cisaillement correspondent à celles classiquement rencontrées en rhéologie. L'entrefer variable et pilotable facilite la mise en place de certains types de systèmes complexes. Enfin, un système de maintien des lamelles par aspiration favorise une mise en place rapide et reproductible tout en assurant planéité et parallélisme au sein de l'entrefer.

L'utilisation d'un microscope confocal autorise l'observation dans le temps et/ou dans l'espace d'un ou plusieurs composants d'intérêt dans un système multiphasique. Cette cellule d'observation sous cisaillement permet donc par couplage rhéo-optique de visualiser la signature optique résultant d'une déformation au sein d'un échantillon dans des conditions de température contrôlées. L'étude de l'évolution de la mésostructure en dynamique, au cours d'un traitement thermo-mécanique est donc rendue possible. Elle permet d'illustrer et d'interpréter le comportement rhéologique des systèmes complexes tout en maîtrisant les paramètres thermo-mécaniques responsables de leur structuration au cours de la transformation.

Les solutions techniques choisies résultent d'un compromis entre les différents aspects rhéologique, mécanique, optique et financier. Elles intègrent des notions de simplicité d'utilisation tout en conservant des propriétés de répétabilité et de reproductibilité. La cellule de cisaillement pourra néanmoins être optimisée. Tout d'abord, son potentiel et ses multiples applications peuvent être approfondis par les nouveaux outils d'observation (caméra rapide, microscope confocal à scanner rapide) et une maîtrise plus poussée des marqueurs fluorescents spécifiques d'ingrédients fonctionnels. D'autre part, concernant la cellule au sens strict, l'implémentation prioritaire pourrait être une mesure de la force engendrée par la déformation. Une

piste possible consiste à utiliser le courant des moteurs pour estimer cette force. Une autre solution pourrait être envisagée en plaçant un capteur de force surfacique sur les plateaux. Dans un second temps, une enceinte fermée permettant le cisaillement par circulation d'un fluide et le contrôle de la pression pourrait être envisagée mais nécessiterait quelques modifications peu évidentes au sein de la géométrie de la cellule. Il est probable que d'autres idées d'optimisation de la cellule de cisaillement viendront au fur et à mesure de son utilisation pour observer sous cisaillement des systèmes divers.

Grâce à un système modèle, transparent et newtonien, le fonctionnement de la cellule a été validé. Ce système présentait l'intérêt d'avoir des propriétés optiques permettant au laser du microscope confocal de pénétrer assez profondément dans la matière ce qui a facilité le suivi du mouvement de particules fluorescentes dans l'entrefer. Ses premières utilisations ont ensuite été effectuées à l'aide d'un système alimentaire complexe, les pâtes de farine. De consistance importante, en limite supérieur du cahier des charges de la cellule, et de densité optique forte, réduisant la pénétration du laser, la pâte de farine a permis de tester la cellule dans des conditions un peu « extrêmes ». Il a été possible de cisailer la pâte sans glissement des lamelles par rapport au support, ce qui a permis de valider complètement le système de fixation. Par ailleurs, l'ensemble des éléments fonctionnels de la cellule a été validé (entrefer, déplacement des moteurs, parallélisme et planéité). À l'aide des observations effectuées, nous avons mis en évidence de façon qualitative les potentialités du contrôle thermique dans ce type de système en illustrant le devenir de la matière grasse dans une pâte soumise à un traitement thermo-mécanique. Par ailleurs, une contrainte mécanique en oscillation appliquée pendant 30 s à différentes recettes de pâtes de farine a mis en avant le comportement du réseau de gluten et son évolution en fonction de la déformation et de la composition. Une quantification de ces différences a également été mise au point à partir d'une méthode d'analyse d'images, la morphologie mathématique. Cette technique peut être facilement adaptée à d'autres systèmes complexes pour obtenir des informations sur la morphologie des éléments le composant, telles que la granulométrie, l'orientation d'un réseau ou la concentration locale d'un constituant.

Le couplage propriétés rhéologiques-microstructures nécessite globalement le développement d'outils de traitement d'images en allant jusqu'à une observation 3D par reconstruction des images à partir de celles obtenues en 2D suivant plusieurs plans focaux positionnés à différentes profondeurs dans l'échantillon. Ce couplage doit aussi permettre d'extraire des paramètres de quantification de l'évolution du système au cours de la déformation. Les fonctionnalités que présente la cellule de cisaillement développée couplées à une analyse d'images simultanée fourniraient aux rhéologues un outil complet, dynamique et évolutif. Enfin, l'apport de la modélisation peut facilement s'intégrer à cette démarche expérimentale. Par exemple, en considérant un grain d'amidon dans une matrice newtonienne, l'étude de son comportement par observation sous traitements thermo-mécaniques pourrait permettre de comprendre son comportement dans une matrice contenant du lait et/ou des carraghénanes et les interactions entre chacun des constituants. La modélisation peut permettre d'apporter des outils de prédiction pour le comportement de systèmes réels et favoriser l'ingénierie inverse.

Enfin, des essais préliminaires ont aussi été effectués sur des gels de carraghénanes. La cinétique de sa gélification au cours d'un traitement thermique et mécanique a été suivie dans l'espace et une fracture au sein du gel a été observée. De même, l'utilisation de la cellule de cisaillement pourra permettre d'observer le phénomène de glissement aux parois, la caractérisation des divers types d'écoulement, la cristallisation de particules sous cisaillement ou encore la sédimentation d'une charge solide au sein d'un système complexe. Ce travail de thèse et l'application présentée permettent finalement de mettre en avant les potentialités diverses que représente ce nouveau dispositif dans le but de pouvoir contribuer à la compréhension des liens entre propriétés rhéologiques et structures microscopiques de systèmes complexes.

---



# Bibliographie

- Ako, K. (2010). *Elements de la structure des gels protéiques par microscopie confocale*. Thèse de doctorat, Université du Maine, 117 p.
- Assighaou, S. et Benyahia, L. (2007). Dispositif d'observation de gouttes sous déformation : développement et validation. *Rhéologie*, **11** : 45–56.
- Astruc, M. (2001). *Etude rhéo-optique des mécanismes de dispersions de mélanges sous cisaillement simple*. Thèse de doctorat, Ecole des Mines de Paris, Sophia-Antipolis, 219 p.
- Astruc, M., Vervoort, S., Nouatin, H., Coupez, T., De Puydt, Y., Navard, P., et Peuvrel-Disdier, E. (2003). Experimental and numerical study of the rotation and the erosion of fillers suspended in viscoelastic fluids under simple shear flow. *Rheologica Acta*, **42** (5) : 421–431.
- Autio, K. et Laurikainen, T. (1997). Relationships between flour/dough microstructure and dough handling and baking properties. *Trends in Food Science & Technology*, **8** (6) : 181–185.
- Baier-Schenk, A., Handschin, S., von Schönau, M., Bittermann, A., Bächli, T., et Conde-Petit, B. (2005). In situ observation of the freezing process in wheat dough by confocal laser scanning microscopy (CLSM) : Formation of ice and changes in the gluten network. *Journal of Cereal Science*, **42** (2) : 255–260.
- Baravian, C., Snabre, P., et Flaud, P. (2001). Rhéologie - Microstructure des fluides complexes : un nouvel appareil de rhéo-optique. Dans *XVème Congrès Français de Mécanique*, p. 3 – 7.
- Barnes, H. (2000). Measuring the viscosity of large-particle (and flocculated) suspensions - a note on the necessary gap size of rotational viscometers. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, **94** (2-3) : 213–217.
- Bentley, B. et Leal, L. (1986). A computer-controlled 4 roll mill for investigations of particle and drop dynamics in two-dimensional linear shear flows. *Journal of Fluid Mechanics*, **167** : 219–240.



- Besseling, R., Isa, L., Weeks, E., et Poon, W. (2009). Quantitative imaging of colloidal flows. *Advances in colloid and interface science*, **146** (1-2) : 1–17.
- Bharati, M., Liu, J., et MacGregor, J. (2004). Image texture analysis : methods and comparisons. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, **72** (1) : 57–71.
- Birkhofer, B., Eischen, J., Megias-Alguacil, D., Fischer, P., et Windhab, E. (2005). Computer-Controlled Flow Cell for the Study of Particle and Drop Dynamics in Shear Flow Fields. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, **44** (17) : 6999–7009.
- Bloksma, A. (1990). Dough structure, dough rheology and baking quality. *Cereal Foods World*, **35** (2) : 237–244.
- Blonk, J. et van Aalst, H. (1993). Confocal scanning light microscopy in food research. *Food Research International*, **26** (4) : 297–311.
- Bonnecaze, R. et Cloitre, M. (2010). Micromechanics of Soft Particle Glasses. Dans M. Cloitre, rédacteur, *High Solid Dispersions*, tome 236 de *Advances in Polymer Science*, p. 117161. Springer Berlin / Heidelberg.
- Bower, C., Gallegos, C., Mackley, M., et Madiedo, J. (1999). The rheological and microstructural characterisation of the non-linear flow behaviour of concentrated oil-in-water emulsions. *Rheologica Acta*, **38** (2) : 145–159.
- Brooker, B. (1996). The Role of Fat in the Stabilisation of Gas Cells in Bread Dough. *Journal of Cereal Science*, **24** (3) : 187–198.
- Charalambides, M., Wanigasooriya, L., Williams, G., et Chakrabarti, S. (2002). Biaxial deformation of dough using the bubble inflation technique. I. Experimental. *Rheologica Acta*, **41** (6) : 532–540.
- Chatraei, S., Macosko, C., et Winter, H. (1981). Lubricated Squeezing Flow : A New Biaxial Extensional Rheometer. *Journal of Rheology*, **25** (4) : 433.
- Comas-Cardona, S. et Tucker, C. (2001). Measurements of droplet deformation in simple shear flow with zero interfacial tension. *Journal of Rheology*, **45** (1) : 259.
- Davidou, S., Michon, C., Ben Thabet, I., et Launay, B. (2008). Influence of Shaping and Orientation of Structures on Rheological Properties of Wheat Flour Dough Measured in Dynamic Shear and in Biaxial Extension. *Cereal Chemistry*, **85** (3) : 403–408.
- Devaux, M., Bouchet, B., Legland, D., Guillon, F., et Lahaye, M. (2008). Macro-vision and grey level granulometry for quantification of tomato pericarp structure. *Postharvest Biology and Technology*, **47** (2) : 199–209.
- Devaux, M., Robert, P., Melcion, J., et Le Deschault de Monredon, F. (1997). Particle size analysis of bulk powders using mathematical morphology. *Powder Technology*, **90** (2) : 141–147.
-

- Deyrail, Y. et Cassagnau, P. (2004). Phase deformation under shear in an immiscible polymer blend : Influence of strong permanent elastic properties. *Journal of Rheology*, **48** (3) : 505.
- Dubreil, L., Biswas, S., et Marion, D. (2002). Localization of Puroindoline-a and Lipids in Bread Dough Using Confocal Scanning Laser Microscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50** (21) : 6078–6085.
- Durrenberger, M., Handschin, S., Conde-Petit, B., et Escher, F. (2001). Visualization of Food Structure by Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM). *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, **34** (1) : 11–17.
- Fenoul, F., Le Denmat, M., Hamdi, F., Cuvelier, G., et Michon, C. (2008). Confocal scanning laser microscopy and quantitative image analysis : application to cream cheese microstructure investigation. *Journal of Dairy Science*, **91** (4) : 1325–33.
- Fuller, G. (1997). Optical rheometry of complex fluid interfaces. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, **2** (2) : 153–157.
- Grizzuti, N. et Bifulco, O. (1997). Effects of coalescence and breakup on the steady-state morphology of an immiscible polymer blend in shear flow. *Rheologica Acta*, **36** (4) : 406–415.
- Guido, S. et Villone, M. (1998). Three-dimensional shape of a drop under simple shear flow. *Journal of Rheology*, **42** (2) : 395.
- Hamberg, L., Walkenstrom, P., Stading, M., et Hermansson, A. (2001). Aggregation, viscosity measurements and direct observation of protein coated latex particles under shear. *Food Hydrocolloids*, **15** (2) : 139–151.
- Heertje, I. (1993). Structure and function of food product - a review. *Food Structure*, **12** (3) : 343–364.
- Huang, L.K. et Wang, M.J.J. (1995). Image thresholding by minimizing the measures of fuzziness. *Pattern Recognition*, **28** (1) : 41–51.
- Jekle, M. et Becker, T. (2011). Dough microstructure : Novel analysis by quantification using confocal laser scanning microscopy. *Food Research International*, **44** (4) : 984–991.
- Keates, P., Mitchell, G., Peuvr, E., Riti, J., et Navard, P. (1993). A novel X-ray rheometer for in situ studies of polymer melts and solutions during shear flow. *Journal of non-newtonian fluid mechanics*, **52** (2) : 197–215.
- Kouassi-Koffi, J., Launay, B., Davidou, S., Kouamé, L., et Michon, C. (2010). Lubricated squeezing flow of thin slabs of wheat flour dough : comparison of results at constant plate speed and constant extension rates. *Rheologica Acta*, **49** (3) : 275–283.
-

- Lassoued, N. (2005). *Structure alvéolaire des produits céréaliers de cuisson en lien avec les propriétés rhéologiques et thermiques de la pâte : Effet de la composition*. Thèse de doctorat, ENSIA, 163 p.
- Launay, B. et Michon, C. (2008). Biaxial extension of wheat flour dough : lubricated squeezing flow and stress relaxation properties. *Journal of Texture Studies*, **39** (5) : 496–529.
- Lee, L., Ng, P.K., Whallon, J., et Steffe, J. (2001). Relationship Between Rheological Properties and Microstructural Characteristics of Nondeveloped, Partially Developed, and Developed Doughs. *Cereal Chemistry*, **78** (4) : 447–452.
- Lefebvre, J. (2006). An outline of the non-linear viscoelastic behaviour of wheat flour dough in shear. *Rheologica Acta*, **45** (4) : 525–538.
- Lefebvre, J. (2009). Nonlinear, time-dependent shear flow behaviour, and shear-induced effects in wheat flour dough rheology. *Journal of Cereal Science*, **49** (2) : 262–271.
- Létang, C., Piau, M., et Verdier, C. (1999). Characterization of wheat flour water doughs. Part I : Rheometry and microstructure. *Journal of Food Engineering*, **41** (2) : 121–132.
- Levitt, L., Macosko, C., et Pearson, S.D. (1996). Influence of normal stress difference on polymer drop deformation. *Polymer Engineering & Science*, **36** (12) : 1647–1655.
- Li, W., Dobraszczyk, B., et Wilde, P. (2004). Surface properties and locations of gluten proteins and lipids revealed using confocal scanning laser microscopy in bread dough. *Journal of Cereal Science*, **39** (3) : 403–411.
- Mather, P., Stüber, H., Chaffee, K., Haddad, T., Romo-Urbe, A., et Lichtenhan, J. (1996). A novel rheological microscope for flow studies of thermotropic polymers and polymers blends : droplet deformation. Dans *Material Research Society Symposium - Vol. 425*, p. 137–142.
- Mighri, F. et Huneault, M. (2001). Dispersion visualization of model fluids in a transparent Couette flow cell. *Journal of Rheology*, **45** (3) : 783.
- Nicolas, Y. et Paques, M. (2003). Microrheology : An Experimental Technique to Visualize Food Structure Behavior Under Compression-Extension Deformation Conditions. *Journal of Food Science*, **68** (6) : 1990–1994.
- Noetinger, B., Petit, L., Guazzelli, E., et Clément, M. (1987). Réalisation d'une cellule à cisaillement elliptique. *Revue de Physique Appliquée*, **22** (9) : 1025–1032.
- Peighambardoust, S., Dadpour, M., et Dokouhaki, M. (2010). Application of epifluorescence light microscopy (EFLM) to study the microstructure of wheat dough : a comparison with confocal scanning laser microscopy (CSLM) technique. *Journal of Cereal Science*, **51** (1) : 21–27.
-

- Peighambardoust, S., Hamer, R., Boom, R., et van der Goot, A. (2008). Migration of gluten under shear flow as a novel mechanism for separating wheat flour into gluten and starch. *Journal of Cereal Science*, **48** (2) : 327–338.
- Peighambardoust, S. et van der Goot, A. (2010). Migration of gluten under shear flow : Influence of process parameters on separation behaviour. *Food Chemistry*, **118** (3) : 712–718.
- Peighambardoust, S., van der Goot, A., Hamer, R., et Boom, R. (2004). A New Method to Study Simple Shear Processing of Wheat Gluten-Starch Mixtures. *Cereal Chemistry*, **81** (6) : 714–721.
- Peighambardoust, S., van der Goot, A., van Vliet, T., Hamer, R., et Boom, R. (2006). Microstructure formation and rheological behaviour of dough under simple shear flow. *Journal of Cereal Science*, **43** (2) : 183–197.
- Peressini, D., Peighambardoust, S., Hamer, R., Sensidoni, A., et van der Goot, A. (2008). Effect of shear rate on microstructure and rheological properties of sheared wheat doughs. *Journal of Cereal Science*, **48** (2) : 426–438.
- Prasad, V., Semwogerere, D., et Weeks, E. (2007). Confocal microscopy of colloids. *Journal of Physics : Condensed Matter*, **19** (11) : 113102.
- Rouillé, J., Della Valle, G., Devaux, M., Marion, D., et 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 Chemistry*, **82** (1) : 20–27.
- Rusu, D. (1997). *Etude in-situ, par diffusion de la lumière, de la morphologie de mélanges de polymères immiscibles, pendant un cisaillement simple*. ENSMP, Paris, 192 p.
- Rusu, D., Genoe, D., van Puyvelde, P., Peuvrel-Disdier, E., Navard, P., et Fuller, G. (1999). Dynamic light scattering during shear : measurements of diffusion coefficients. *Polymer*, **40** (6) : 1353–1357.
- Serra, J. (1982). *Image Analysis and Mathematical Morphology*. Academic Press Inc, London, UK, 610 p.
- Tanner, R., Dai, S., et Qi, F. (2008). Bread dough rheology in biaxial and step-shear deformations. *Rheologica Acta*, **47** (7) : 739–749.
- Taylor, G. (1934). The Formation of Emulsions in Definable Fields of Flow. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Containing Papers of a Mathematical and Physical Character (1905-1934)*, **146** (858) : 501–523.
- Tolpekin, V., Duits, M., van den Ende, D., et Mellema, J. (2004). Aggregation and breakup of colloidal particle aggregates in shear flow, studied with video microscopy. *Langmuir*, **20** (7) : 2614–27.
-

- Tromp, H. (2001). Confocal scanning light microscopy (CSLM) on mixtures of gelatine and polysaccharides. *Food Research International*, **34** (10) : 931–938.
- Tsakalos, V., Navard, P., et Peuvrel-Disdier, E. (1998). Deformation and breakup mechanisms of single drops during shear. *Journal of Rheology*, **42** (6) : 1403.
- Upadhyay, R., Ghosal, D., et Mehra, A. (2012). Characterization of Bread Dough : Rheological Properties and Microstructure. *Journal of Food Engineering*, **109** : 104 – 113.
- van de Velde, F., Weinbreck, F., Edelman, M., Van der Linden, E., et Tromp, H. (2003). Visualisation of biopolymer mixtures using confocal scanning laser microscopy (CSLM) and covalent labelling techniques. *Colloids and Surfaces B : Biointerfaces*, **31** (1-4) : 159–168.
- van der Linden, E., Sagis, L., et Venema, P. (2003). Rheo-optics and food systems. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, **8** (4-5) : 349–358.
- van Puyvelde, P., Yang, H., Mewis, J., et Moldenaers, P. (1998). Rheo-Optical Probing of Relaxational Phenomena in Immiscible Polymer Blends. *Journal of Colloid and Interface Science*, **200** (1) : 86–94.
- Varadan, P. et Solomon, M. (2003). Direct visualization of flow-induced microstructure in dense colloidal gels by confocal laser scanning microscopy. *Journal of Rheology*, **47** (4) : 943.
- Wagner, N. (1998). Rheo-optics. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, **3** (4) : 391–400.
- Wang, C., Dai, S., et Tanner, R. (2006). On the compressibility of bread dough. *Korea-Australia Rheology Journal*, **18** (3) : 127–131.
- Wannaborworn, S., Mackley, M., et Renardy, Y. (2002). Experimental observation and matching numerical simulation for the deformation and breakup of immiscible drops in oscillatory shear. *Journal of Rheology*, **46** (5) : 1279.
- Wu, Y., Brand, J., van Gemert, J., Verkerk, J., Wisman, H., van Blaaderen, A., et Imhof, A. (2007). A new parallel plate shear cell for in situ real-space measurements of complex fluids under shear flow. *The Review of scientific instruments*, **78** (10) : 103902.
- Yamane, H., Takahashi, M., Hayashi, R., Okamoto, K., Kashihara, H., et Masuda, T. (1998). Observation of deformation and recovery of poly(isobutylene) droplet in a poly(isobutylene)/poly(dimethyl siloxane) blend after application of step shear strain. *Journal of Rheology*, **42** (3) : 567.
-

# **Annexes**



## A Détails financiers de la conception du RheOptiCAD®

| LEMO                                    |    |         |          |           |  |  |
|-----------------------------------------|----|---------|----------|-----------|--|--|
| Reference                               | Qt | PUHT    | TOTAL HT | TOTAL TTC |  |  |
| Fiche                                   |    |         |          |           |  |  |
| FFA.08.303.CI.AC42Z                     | 6  | 11.26 € | 67.58 €  | 80.83 €   |  |  |
| FFA.08.302.CI.AC42Z                     | 2  | 10.68 € | 21.35 €  | 25.54 €   |  |  |
| FFA.IS.302.CI.AC42Z                     | 1  | 20.03 € | 20.03 €  | 23.95 €   |  |  |
| Poulet pour manchon                     |    |         |          |           |  |  |
| FFM.08.130.LC                           | 8  | 1.17 €  | 9.36 €   | 11.19 €   |  |  |
| FFM.18.130.LC                           | 1  | 2.92 €  | 2.92 €   | 3.49 €    |  |  |
| Manchon                                 |    |         |          |           |  |  |
| GMA.OB.035.RA                           | 2  | 2.42 €  | 4.83 €   | 5.78 €    |  |  |
| GMA.OB.035.RB                           | 2  | 2.42 €  | 4.83 €   | 5.78 €    |  |  |
| GMA.OB.035.RR                           | 2  | 2.42 €  | 4.83 €   | 5.78 €    |  |  |
| GMA.OB.035.RJ                           | 1  | 2.42 €  | 2.42 €   | 2.89 €    |  |  |
| GMA.OB.035.RV                           | 1  | 2.42 €  | 2.42 €   | 2.89 €    |  |  |
| GMA.IB.040.RN                           | 1  | 2.76 €  | 2.76 €   | 3.30 €    |  |  |
| Embase                                  |    |         |          |           |  |  |
| ERA.08.303.CLL                          | 6  | 7.67 €  | 46.04 €  | 55.07 €   |  |  |
| ERA.08.302.CLL                          | 2  | 6.51 €  | 13.02 €  | 15.58 €   |  |  |
| ERA.IS.302.CLL                          | 1  | 14.60 € | 14.60 €  | 17.46 €   |  |  |
| Rondelle                                |    |         |          |           |  |  |
| GRA.08.269.GA                           | 2  | 0.42 €  | 0.84 €   | 1.01 €    |  |  |
| GRA.08.269.GB                           | 2  | 0.42 €  | 0.84 €   | 1.01 €    |  |  |
| GRA.08.269.GR                           | 2  | 0.42 €  | 0.84 €   | 1.01 €    |  |  |
| GRA.08.269.GJ                           | 1  | 0.42 €  | 0.42 €   | 0.51 €    |  |  |
| GRA.08.269.GV                           | 1  | 0.42 €  | 0.42 €   | 0.51 €    |  |  |
| GRA.IS.269.GN                           | 1  | 0.42 €  | 0.42 €   | 0.51 €    |  |  |
|                                         |    | HT      |          | TTC       |  |  |
| TOTAL                                   |    |         | 208.53 € | 264.08 €  |  |  |
| THORLABS                                |    |         |          |           |  |  |
| Reference                               | Qt | PUHT    | TOTAL HT | TOTAL TTC |  |  |
| Drouille filette                        |    |         |          |           |  |  |
| N250L3                                  | 6  | 8.70 €  | 52.20 €  | 62.43 €   |  |  |
| Bouton adjuster amovible                |    |         |          |           |  |  |
| F3SSK1                                  | 6  | 4.90 €  | 29.40 €  | 35.16 €   |  |  |
| Vis de réglage                          |    |         |          |           |  |  |
| F3SS25                                  | 4  | 17.20 € | 68.80 €  | 82.28 €   |  |  |
| F3SS12                                  | 6  | 7.70 €  | 46.20 €  | 55.26 €   |  |  |
|                                         |    | HT      |          | TTC       |  |  |
| TOTAL                                   |    |         | 196.60 € | 235.13 €  |  |  |
| NORHEM                                  |    |         |          |           |  |  |
| Reference                               | Qt | PUHT    | TOTAL HT | TOTAL TTC |  |  |
| Bouton Poussoir détecteur fin de course |    |         |          |           |  |  |
| 03020-5061                              | 3  | 40.69 € | 122.07 € | 146.00 €  |  |  |
|                                         |    | HT      |          | TTC       |  |  |
| TOTAL                                   |    |         | 122.07 € | 146.00 €  |  |  |

| DELL                                      |      |             |             |             |  |     |
|-------------------------------------------|------|-------------|-------------|-------------|--|-----|
| Reference                                 | Qt   | PUHT        | TOTAL HT    | TOTAL TTC   |  |     |
| Ordinateur portable                       |      |             |             |             |  |     |
| E-4300                                    | 1    | 1 082.00 €  | 1 082.00 €  | 1 294.07 €  |  |     |
|                                           |      | HT          |             | TTC         |  |     |
| TOTAL                                     |      |             | 1 082.00 €  | 1 294.07 €  |  |     |
| SAVAC- HAVAS VOYAGE                       |      |             |             |             |  |     |
| Reference                                 | Qt   | PUHT        | TOTAL HT    | TOTAL TTC   |  |     |
| Collaboration - Valorisation scientifique |      |             |             |             |  |     |
| Deplacement Pays-Bas                      | 1    | 681.83 €    | 681.83 €    | 815.47 €    |  |     |
| ISFRS 2012                                | 1    | 418.06 €    | 418.06 €    | 500.00 €    |  |     |
| Food Colloids                             | 1    | 501.67 €    | 501.67 €    | 600.00 €    |  |     |
|                                           |      | HT          |             | TTC         |  |     |
| TOTAL                                     |      |             | 1 601.56 €  | 1 915.47 €  |  |     |
| CAD INSTRUMENTS                           |      |             |             |             |  |     |
| Reference                                 | Qt   | PUHT        | TOTAL HT    | TOTAL TTC   |  |     |
| Etude-Conception                          |      |             |             |             |  |     |
| Pré-étude                                 | 1    | 4 500.00 €  | 4 500.00 €  | 5 382.00 €  |  |     |
| Etude-Conception                          | 1    | 10 500.00 € | 10 500.00 € | 12 558.00 € |  |     |
|                                           |      | HT          |             | TTC         |  |     |
| TOTAL                                     |      |             | 15 000.00 € | 17 940.00 € |  |     |
| DOC.MICRO                                 |      |             |             |             |  |     |
| Reference                                 | Qt   | PUHT        | TOTAL HT    | TOTAL TTC   |  |     |
| Refrigérateur WaterCooling                |      |             |             |             |  |     |
|                                           | 1    | 22.07 €     | 22.07 €     | 26.40 €     |  |     |
|                                           |      | HT          |             | TTC         |  |     |
| TOTAL                                     |      |             | 22.07 €     | 26.40 €     |  |     |
| INRA                                      |      |             |             |             |  |     |
| Reference                                 | Qt   | PUHT        | TOTAL HT    | TOTAL TTC   |  |     |
| Microscopie Confocale                     |      |             |             |             |  |     |
|                                           | 62.5 | 30.00 €     | 1 875.00 €  | 2 242.50 €  |  |     |
|                                           |      | HT          |             | TTC         |  |     |
| TOTAL                                     |      |             | 1 875.00 €  | 2 242.50 €  |  |     |
| MONTANT TOTAL                             |      |             |             |             |  |     |
|                                           |      |             |             | 49 120.26 € |  | TTC |
|                                           |      |             |             | 58 762.51 € |  |     |

| KNF                                        |    |             |             |             |  |  |
|--------------------------------------------|----|-------------|-------------|-------------|--|--|
| Reference                                  | Qt | PUHT        | TOTAL HT    | TOTAL TTC   |  |  |
| Pompe à vide                               |    |             |             |             |  |  |
| N86KN-18                                   | 1  | 287.70 €    | 287.70 €    | 344.09 €    |  |  |
|                                            |    | HT          |             | TTC         |  |  |
| TOTAL                                      |    |             | 287.70 €    | 344.09 €    |  |  |
| RADIOSPARE                                 |    |             |             |             |  |  |
| Reference                                  | Qt | PUHT        | TOTAL HT    | TOTAL TTC   |  |  |
| Régulateur Pelletier                       |    |             |             |             |  |  |
| 490-1553                                   | 1  | 267.94 €    | 267.94 €    | 320.46 €    |  |  |
| Alimentations                              |    |             |             |             |  |  |
| 110615                                     | 1  | 87.21 €     | 87.21 €     | 104.30 €    |  |  |
| 644-8234                                   | 1  | 181.35 €    | 181.35 €    | 216.89 €    |  |  |
| Divers (Boitier Schroff, connecteurs, ...) |    |             |             |             |  |  |
| 666-3679                                   | 1  | 12.43 €     | 12.43 €     | 14.87 €     |  |  |
| 721-2815                                   | 1  | 101.27 €    | 101.27 €    | 121.12 €    |  |  |
| 721-3102                                   | 1  | 13.93 €     | 13.93 €     | 16.66 €     |  |  |
| 721-3111                                   | 1  | 19.35 €     | 19.35 €     | 23.14 €     |  |  |
| 576-608                                    | 1  | 1.66 €      | 1.66 €      | 1.99 €      |  |  |
| 238-889                                    | 1  | 43.06 €     | 43.06 €     | 51.50 €     |  |  |
| 544-3799                                   | 5  | 2.13 €      | 10.66 €     | 12.75 €     |  |  |
| 544-3755                                   | 5  | 1.50 €      | 7.51 €      | 8.98 €      |  |  |
| 544-3733                                   | 5  | 1.07 €      | 5.35 €      | 6.40 €      |  |  |
| 666-3868                                   | 1  | 9.54 €      | 9.54 €      | 11.41 €     |  |  |
| 159-9179                                   | 1  | 6.38 €      | 6.38 €      | 7.63 €      |  |  |
| 159-9191                                   | 3  | 2.97 €      | 8.91 €      | 10.66 €     |  |  |
|                                            |    | HT          |             | TTC         |  |  |
| TOTAL                                      |    |             | 785.73 €    | 939.73 €    |  |  |
| Platines Motorisées IHM                    |    |             |             |             |  |  |
| Reference                                  | Qt | PUHT        | TOTAL HT    | TOTAL TTC   |  |  |
| FB-075                                     | 3  | 3 816.00 €  | 11 448.00 € | 13 691.81 € |  |  |
| Driver puissance                           | 3  | 483.00 €    | 1 449.00 €  | 1 733.00 €  |  |  |
| Carte d'axe Galil                          | 2  | 2 347.00 €  | 2 347.00 €  | 2 807.01 €  |  |  |
| Logiciel                                   | 1  | 195.00 €    | 195.00 €    | 233.22 €    |  |  |
| IHM                                        | 1  | 12 500.00 € | 12 500.00 € | 14 950.00 € |  |  |
|                                            |    | HT          |             | TTC         |  |  |
| TOTAL                                      |    |             | 27 939.00 € | 33 415.04 € |  |  |





# **Valorisations scientifiques**

-

## **Publications**



Ce travail de thèse a fait l'objet de diverses valorisations scientifiques qui sont listées ci-dessous et dont les articles ou proceedings relatifs sont présentés en fin de manuscrit.

### **Brevet**

**Boitte J.B.**, Vizcaino C., Michon C., Hayert M., Benyahia L., Herry J.M., (2011). Cellule de cisaillement notamment pour analyser un échantillon sous microscope, **FR 11/03828**, déposé le 14 décembre 2011.

### **Articles soumis dans un journal à comité de lecture**

**Boitte J.B.**, Vizcaino C., Benyahia L., Herry J.M., Michon C. and Hayert M. (2012). A novel rheo-optical device for studying complex systems under controlled double shear plate. *Review of Scientific Instruments*. (accepté)

### **Communications orales**

**Boitte J.B.**, Hayert M. and Michon C., (2012). Confocal microscopy of bread dough under controlled thermo-mechanical treatment. *6<sup>th</sup> International Symposium on Food Rheology and Structure (ISFRS)*, Zurich, Suisse. (sans proceedings)

**Boitte J.B.**, Vizcaino C., Benyahia L., Herry J.M., Michon C. and Hayert M., (2011). Conception d'une cellule d'observation sous cisaillement : relation dynamique entre propriétés rhéologiques et structure microscopique sous contrainte. *46<sup>ème</sup> Congrès du Groupe Français de Rhéologie*, Nancy, France. (avec proceedings)

### **Poster**

**Boitte J.B.**, Vizcaino C., Benyahia L., Herry J.M., Michon C. and Hayert M., (2012). A novel rheo-optical device for studying food complex systems under controlled double plate shear. *Food Colloids 2012*, Copenhagen, Danemark.

---



# Contribution à l'étude du comportement thermomécanique de systèmes divisés alimentaires – Relations entre propriétés rhéologiques et structures microscopiques sous contraintes

J.B. Boitte <sup>1,2</sup>, C. Vizcaïno <sup>3</sup>, L. Benyahia <sup>4</sup>, J.M. Herry <sup>5</sup>, C. Michon <sup>1,2</sup> et M. Hayert <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> AgroParisTech, UMR N°1145 Ingénierie Procédés Aliments, 1 avenue des Olympiades, F-91300 Massy

<sup>2</sup> INRA, UMR N°1145 Ingénierie Procédés Aliments, 1 avenue des Olympiades, F-91300 Massy

<sup>3</sup> CAD Instruments, 10 rue de la Haie aux Vaches, F-78690 Les Essarts Le Roi

<sup>4</sup> Université du Maine, UMR CNRS N° 6120, Avenue Olivier Messiaen, F-72085 Le Mans

<sup>5</sup> INRA, UMR N°1319 MICALIS, équipe B2HM, 25 avenue de la République, F-91300 Massy

**Résumé :** Les gels, systèmes pâteux, mousses, ou encore émulsions sont omniprésents dans notre vie quotidienne. Pour relier les propriétés rhéologiques à la structure micro / mésoscopique de systèmes alimentaires, nous avons conçu une cellule d'observation sous cisaillement en mode contra-translation permettant de figer les objets sous observation. Le cahier des charges du dispositif intègre 3 fonctionnalités principales : a) un cisaillement contrôlé (entrefer 0,5 - 2 mm, déformation 0,01 - 10, vitesse de cisaillement 0,1 - 100 s<sup>-1</sup>, fréquence 10<sup>-3</sup> - 20 Hz) sous différents champs d'écoulement (continu, relaxation, oscillation) entre lame et lamelle, b) un traitement thermique (10 à 80 °C, système Peltier) et c) une observation par microscopie confocale laser à balayage. Le positionnement de la cellule sur un microscope inversé entraîne des contraintes de taille et de masse, sachant qu'il faut que le système présente une rigidité suffisante pour que le cisaillement plan puisse être réalisé dans toutes les gammes de déformation et de vitesse visées. Les solutions techniques adoptées sont présentées ainsi que le résultat des essais de validation des gammes de déformation, vitesse et température réellement accessibles avec l'outil ainsi que les premières observations de microstructure sous cisaillement.

**Mots-clé :** instrumentation, rhéologie, microscopie confocale, rhéo-optique, émulsions, systèmes divisés

## 1. Introduction

Les fluides complexes comme les gels, les pâtes, les mousses ou encore les émulsions présentent une échelle de taille caractéristique dite « mésoscopique » intermédiaire entre la taille des molécules et celle du récipient. Cette mésostructure, qui peut être présentée par des gouttelettes dans une émulsion, ou par un réseau tridimensionnel structuré comme dans le cas des gels ou des pâtes, confère au fluide des propriétés viscoélastiques et fortement non-newtoniennes. Comprendre le comportement d'un fluide complexe hors d'équilibre revêt donc à la fois un intérêt fondamental évident et une importance industrielle considérable.

La rhéo-optique repose sur le principe que les propriétés rhéologiques, résultant de la déformation d'un matériau, présente une signature optique. Un rhéologue peut donc utiliser des méthodes optiques pour interpréter qualitativement le comportement rhéologique en termes de microstructure, et dans certains cas, tendre vers une corrélation quantitative entre les changements optiques de la structure d'un

matériau sous déformation et ses propriétés rhéologiques.

Le développement de multiples techniques d'observation sous contrainte jusqu'à 2003 sont résumés par Van der Linden [1] aussi bien dans le domaine alimentaire que non-alimentaire.

La plupart des dispositifs développés sont complexes avec une observation limitée à l'échelle macroscopique. La cellule Linkam® [2,3] est la première cellule d'observation sous cisaillement rotationnel commercialisée. Elle permet de chauffer l'échantillon mais son unique plateau mobile empêche de fixer un élément dans la zone d'observation. Wu et al. [4] ont présenté une cellule de cisaillement en translation adaptée à un microscope confocal. Les caractéristiques mécaniques sont relativement pointues, mais son utilisation demeure très délicate, due à une mise en place d'échantillon longue et peu reproductible. De plus, la température n'est pas contrôlée. Besseling et al. [5] ont récemment développé, ce qu'ils ont baptisé un « rhéoscope confocal », qui se veut comme une combinaison entre un rhéomètre et une observation confocale. Par contre,

le poids et la taille de ces cellules sont des facteurs limitants ainsi que le coût de leur développement qui se révèle très élevé et donc difficilement commercialisable. .

L'objectif de ce travail est de concevoir un système de cisaillement compact et léger, adaptable à un microscope confocal avec des exigences en termes de paramètres de cisaillement et de régulation de température qui peuvent s'adapter à un large panel de matériaux.

Nous présentons ici le cahier des charges et les solutions techniques mises en œuvre pour ce développement puis quelques essais permettant de valider les caractéristiques du système.

## 2. Conception de la cellule d'observation sous cisaillement

### 2.1 Cahier des charges

Trois fonctions principales ont été répertoriées pour cette cellule dans le cadre de la caractérisation de systèmes divisés alimentaires ou non :

- déformer par cisaillement contrôlé,
- observer à l'échelle mésoscopique (1 à 100  $\mu\text{m}$ ),
- contrôler la température.

Les moyens envisagés pour obtenir ces trois fonctions sont détaillés dans la suite. Les objectifs chiffrés de ces paramètres sont donnés dans le Tableau 1.

Tableau 1. Caractéristiques souhaitées pour le dispositif de cisaillement développé

|                                                                                     |                    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|
| <b>Entrefer (<math>e</math>, mm)</b>                                                | 0,5 - 2 $\pm$ 0,01 |
| <b>Déformation (<math>\gamma</math>)</b>                                            | 0,01 - 10          |
| <b>Taux de cisaillement (<math>\dot{\gamma}</math>, <math>\text{s}^{-1}</math>)</b> | 0,1 - 100          |
| <b>Force de traction (<math>F</math>, N)</b>                                        | $\leq$ 20          |
| <b>Fréquence (<math>f</math>, Hz)</b>                                               | 0,01 - 10          |
| <b>Température (<math>T</math>, <math>^{\circ}\text{C}</math>)</b>                  | 10 - 80 $\pm$ 0,1  |
| <b>Rampe de température (<math>^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}</math>)</b>         | 0 - 10             |

### 2.2 Solutions techniques choisies

#### 2.2.1 Déformer par cisaillement

La déformation imposée s'effectue entre 2 plans parallèles, chacun entraîné en translation par un moteur.

Les niveaux de déformation et de taux de cisaillement souhaités correspondent à ceux fréquemment rencontrés et utilisés lors de la caractérisation rhéologique de systèmes colloïdaux alimentaires ou cosmétiques à l'aide d'outils tels que les rhéomètres, viscosimètres ou texturomètres.

Les systèmes colloïdaux étudiés doivent pouvoir être très variés du point de vue de leur consistance. La plupart des matrices que nous étudierons développent

une contrainte maximale de 100 Pa au cours d'un cisaillement correspondant à une force maximale nécessaire à la translation de l'ordre de 200 mN, en considérant une surface de 50 x 25 mm. Dans le cas extrême d'une pâte à pain, la contrainte représente  $10^4$  Pa, et donc la force maximale est de l'ordre de 20 N.

L'entrefer entre les 2 plans doit être ajustable et contrôlé de façon automatisée dans la gamme donnée dans le Tableau 1.

Le choix s'est porté sur une platine linéaire couplée à un moteur piezo-électrique (NanoMotion, Israël). Pour affiner le déplacement des plateaux et la précision de la déformation, un encodeur à résolution de 10 nm a été choisi. Le Tableau 2 résume les caractéristiques souhaitées et celles de la platine motorisée sélectionnée.

Tableau 2. Comparaison entre valeurs souhaitées et effectives des platines motorisées

|                                                       | <i>Cahier des charges</i> | <i>Caractéristiques réelles</i> |
|-------------------------------------------------------|---------------------------|---------------------------------|
| <b>Course (mm)</b>                                    | 0 - 20                    | 0 - 40                          |
| <b>Résolution (<math>\mu\text{m}</math>)</b>          | 5                         | 0,01                            |
| <b>Vitesse (<math>\text{mm}.\text{s}^{-1}</math>)</b> | 0 - 200                   | 0 - 250                         |
| <b>Force (N)</b>                                      | 20                        | 16                              |

Trois platines motorisées de ce type ont été acquises. Deux sont dédiées à la translation des plateaux et une autre permet d'ajuster l'entrefer.

#### 2.2.2 Observer un système divisé alimentaire

L'observation dynamique de la structure d'un système alimentaire placé dans la cellule de cisaillement s'effectue à l'aide d'un microscope confocal à balayage laser inversé (MCBL) TCS SP2 (Leica, Allemagne). La cellule a été conçue pour venir s'adapter sur le bâti du microscope. Des contraintes géométriques (encombrement, poids, système de sécurité des lasers) ont été évaluées et soigneusement prises en compte.

#### 2.2.3 Contrôler la température

De façon à pouvoir se rapprocher des conditions réelles d'un procédé, un module Peltier couplé à un régulateur permet le contrôle d'une gamme de température maîtrisée entre 10  $^{\circ}\text{C}$  et 80  $^{\circ}\text{C}$ . La précision sur la température est de l'ordre de 0,1  $^{\circ}\text{C}$ . Un système d'évacuation de la chaleur (radiateur + ventilateur) est disposé sur le module Peltier. Les rampes de chauffe et refroidissement doivent être contrôlées et être de l'ordre de 5 - 10  $^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ .

### 2.3 Conception mécanique

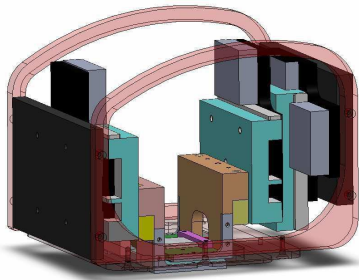


Figure 1. Schéma 3D de la cellule d'observation sous cisaillement

Une fois les moteurs achetés, la société CAD Instruments a démarré la conception de la cellule. A partir du cahier des charges et des solutions techniques sélectionnées, CAD Instruments a réalisé un schéma 3D (Figure 1), les plans associés, l'usinage et l'assemblage des pièces ainsi que le boîtier de contrôle électronique.

## 2.4 Pilotage

Lors de l'utilisation de la cellule, les plateaux doivent pouvoir être pilotés selon différents modes de fonctionnement.

- Cisaillement continu : 2 plateaux en mouvement opposé et déformation constante ou linéaire au cours du temps.
- Saut-Relaxation : 2 plateaux imposant un brusque saut de déformation en sens opposé par l'intermédiaire d'une amplitude et d'une vitesse définies pour chaque plateau.
- Oscillation : déformation suivant une loi sinusoïdale, avec contrôle de l'amplitude et de la fréquence du signal.

Dans le cas où les 2 plateaux sont mobiles, il est indispensable de s'assurer du démarrage simultané des moteurs.

Une interface homme-machine a ensuite été développée pour piloter les moteurs ainsi que le contrôle et la régulation de la température. L'acquisition des images s'effectue avec le logiciel standard du microscope confocal.

## 3. Validation : premières expériences

### 3.1 Matériel et méthodes

Pour valider les différents mouvements de cisaillement que la cellule peut effectuer, nous avons utilisé une solution de polymère contenant des microgels indéformable d'un micron de diamètre, marqués de fluorescine [6,7]. Ces particules ont une longueur d'onde d'excitation de 494 nm. La cellule est montée sur le microscope confocal, les lamelles sont aspirées par dépression et les plateaux bridés à l'aide d'une vis. On dépose l'échantillon au centre et on définit un entrefer de 600  $\mu\text{m}$ .

Les conditions opératoires de l'observation sont : taux de rafraîchissement de l'image égal à 800 Hz, taille des images égale à 512 x 64 pixels, zoom égal à 1,70 ou 2 selon les clichés. Dans ces conditions, le taux d'acquisition du microscope est de l'ordre de 11 ips (images par secondes).

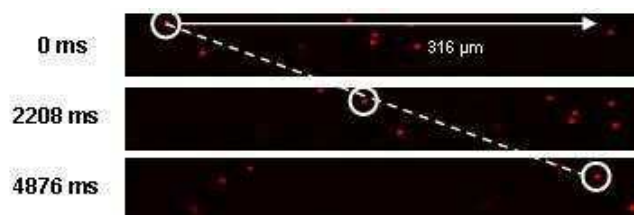
### 3.2 Résultats

Nous avons tout d'abord vérifié la taille de l'entrefer de façon optique. Pour cela, on recherche les maximums d'éclairage (réflexion du laser sur la lamelle) pour chacune des lamelles. La différence de position nous fournit l'entrefer de travail. Dans notre cas, on trouve 586  $\mu\text{m}$ .

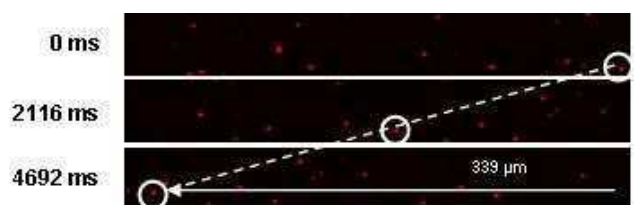
On cherche ensuite à vérifier le bon mouvement des plateaux ainsi que leur réponse à la consigne donnée. On se place successivement au contact du plateau inférieur puis supérieur et on effectue un cisaillement continu. Dans les 2 cas, chaque plateau se déplace de 300  $\mu\text{m}$  pendant 5 s, ce qui correspond à une vitesse constante de 60  $\mu\text{m/s}$ . Le suivi d'une particule permet de remonter à la vitesse de chaque plateau (Figures 2). On obtient respectivement 64  $\mu\text{m/s}$  et 72  $\mu\text{m/s}$  pour le plateau inférieur et supérieur.

Les objets observés restent toujours dans la fenêtre d'observation. Ils n'en sortent pas selon la verticale à l'image. Par ailleurs, au cours du mouvement, le plan focal n'est jamais perdu. Ces constatations nous permettent de conclure à la planéité et au parallélisme du système.

a.



b.



Figures 2. Suivi d'une particule en contact avec le plateau inférieur (a) ou avec le plateau supérieur (b) au cours d'un cisaillement continu ( $a=300 \mu\text{m}$ ,  $t=5 \text{ s}$ )

Le mouvement oscillatoire imposé correspond à une fréquence de 0,5 Hz et une amplitude crête-à-crête de 300  $\mu\text{m}$ . Les images ci-dessous (Figure 3) confirment bien un mouvement sinusoïdal possédant les caractéristiques imposées.



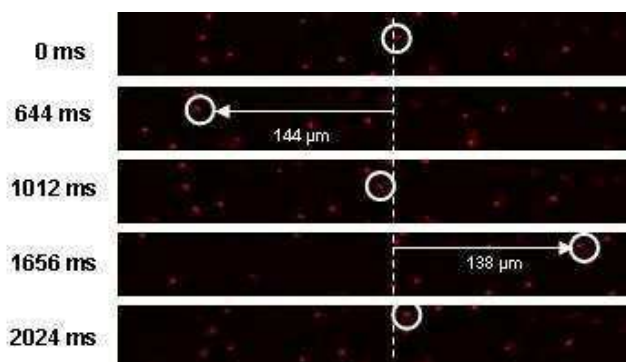


Figure 3. Suivi d'une particule au cours d'une oscillation du plateau supérieur (0,5 Hz,  $a=300\text{ }\mu\text{m}$ )

#### 4. Conclusion

Nous avons décrit la conception et la validation d'une cellule d'observation sous cisaillement développée pour microscopie confocale. Elle intègre des fonctionnalités thermiques et mécaniques tout en restant compacte, géométriquement et financièrement. L'utilisation de système simple nous a permis de valider les différents mouvements de cisaillement ainsi. Son utilisation pour observer des systèmes plus complexes semblent donc pertinente pour obtenir des informations dynamiques à différentes échelles et en particulier, à l'échelle mésoscopique.

#### 5. Remerciements

Nous tenons tout particulièrement à remercier Michel CLOITRE pour sa collaboration en nous fournissant la

solution de polymères ayant servi à effectuer les essais de validation.

#### 6. Références

- [1] E. Van der Linden, L. Sagis, and P. Venema, "Rheo-optics and food systems," *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, vol. 8, no. 4-5, pp. 349-358, Nov. 2003.
- [2] Y. Deyrail and P. Cassagnau, "Phase deformation under shear in an immiscible polymer blend: Influence of strong permanent elastic properties," *Journal of Rheology*, vol. 48, no. 3, p. 505, 2004.
- [3] S. Wannaborworn, M. R. Mackley, and Y. Renardy, "Experimental observation and matching numerical simulation for the deformation and breakup of immiscible drops in oscillatory shear," *Journal of Rheology*, vol. 46, no. 5, p. 1279, 2002.
- [4] Y. L. Wu et al., "A new parallel plate shear cell for in situ real-space measurements of complex fluids under shear flow.," *The Review of scientific instruments*, vol. 78, no. 10, p. 103902, Oct. 2007.
- [5] R. Besseling, L. Isa, E. R. Weeks, and W. C. K. Poon, "Quantitative imaging of colloidal flows.," *Advances in colloid and interface science*, vol. 146, no. 1-2, pp. 1-17, Feb. 2009.
- [6] M. Cloitre, R. Borrega, F. Monti, and L. Leibler, "Structure and flow of polyelectrolyte microgels: from suspensions to glasses." Elsevier Masson.
- [7] R. Borrega, M. Cloitre, I. Betremieux, B. Ernst, and L. Leibler, "Concentration dependence of the low-shear viscosity of polyelectrolyte micro-networks: From hard spheres to soft microgels," *Europhysics Letters (EPL)*, vol. 47, no. 6, pp. 729-735, Sep. 1999.

# A novel rheo-optical device for studying complex fluids in a double shear plate geometry

Jean-Baptiste BOITTE,<sup>1,2,3</sup> Claude VIZCAÏNO,<sup>4</sup> Lazhar BENYAHIA,<sup>5</sup> Jean-Marie HERRY,<sup>6,7</sup> Camille MICHON,<sup>1,2,3</sup> and Murielle HAYERT<sup>1,2,3,a)</sup>

<sup>1)</sup>AgroParisTech, UMR 1145 Ingénierie Procédés Aliments, AgroParisTech-INRA-CNAM, 1 av. des Olympiades, F-91300 Massy, France

<sup>2)</sup>INRA, UMR 1145 Ingénierie Procédés Aliments, AgroParisTech-INRA-CNAM, 1 avenue des Olympiades, F-91300 Massy, France

<sup>3)</sup>CNAM, UMR 1145 Ingénierie Procédés Aliments, AgroParisTech-INRA-CNAM, 1 avenue des Olympiades, F-91300 Massy, France

<sup>4)</sup>CAD Instruments, 10 rue de la Haie aux Vaches, F-78690 Les Essarts Le Roi, France

<sup>5)</sup>LUNAM Université, Institut des Molécules et Matériaux du Mans (IMMM), UMR CNRS 6283, Dept. Polymères Colloïdes Interfaces, Université du Maine, av. Olivier Messiaen, F-72085 Le Mans, France

<sup>6)</sup>INRA, UMR 1319 MICALIS, AgroParisTech-INRA, équipe B2HM, 25 av. de la République, F-91300 Massy, France

<sup>7)</sup>AgroParisTech, UMR 1319 MICALIS, AgroParisTech-INRA, équipe B2HM, 25 av. de la République, F-91300 Massy, France

(Dated: December 18, 2012)

A new rheo-optical shearing device was designed to investigate the structural evolution of complex material under shear flow. Seeking to keep the area under study constantly within the field of vision, it was conceived to produce shear flow by relying on the uniaxial translation of two parallel plates. The device features three modes of translation motion: step strain (0.02 - 320), constant shear rate (0.01 - 400 s<sup>-1</sup>) and oscillation (0.01 - 20 Hz) flow. Because the temperature is controlled by using a Peltier module coupled with a water cooling system, temperatures can range from 10 to 80°C. The sample is loaded onto a user-friendly plate on which standard glasses can be attached with a depression vacuum pump. The principle innovation of the proposed rheo-optical shearing device lies in the fact that this suction system renders the microscopy glasses one with the plates, thereby ensuring their perfect planarity and parallelism. The gap width between the two plates can range from 0 - 5 mm. The device was designed to fit on any inverted confocal laser scanning microscope (CLSM). In terms of controlled deformation, the conception and technical solutions achieve a high level of accuracy. Moreover, user-friendly software has been developed to control both shear flow parameters and temperature. The validation of specifications as well as the three modes of motion was carried out, first of all without a sample, and then by tracking fluorescent particles in a model system, in our case a micro-gel. Real values agreed well with those we targeted. In addition, an experiment with bread dough deformation under shear flow was initiated to gain some insight into the potential use of our device. These results show that the RheOptiCAD<sup>®</sup> promises to be a useful tool to better understand, from both a fundamental and an industrial point of view, the rheological behavior of the microstructure of complex fluids under controlled thermo-mechanical parameters in the case of food and non-food systems.

## I. INTRODUCTION

Complex fluids, such as foams, emulsions, gels, and doughs, are readily found in food and non-food products consumers use on a daily basis. These fluids, which are representative of food systems, are often characterized by the presence of mesoscopic-sized objects (0.1 - 100  $\mu\text{m}$ ). The meso-structure, for example droplets in emulsions or three-dimensional networks in gels or doughs, gives the fluid specific visco-elastic and non-newtonian properties. Under shear, and depending on the experimental thermodynamic conditions (including temperature, pressure, pH, and aging time), the structure of the fluid may

undergo rearrangement, leading to anisotropic structure destabilization. To bring under scrutiny the behavior of such complex systems, optical rheometry—otherwise referred to as rheo-optics—has proven to be a relevant and rewarding technique. Based on optical methods, it permits at once flow (rheometry) and structural observation. The aim is to correlate the changes in the structure of complex materials to the flow field, as well as to better understand the relationship between the morphology and the rheological properties of materials, thanks to the fact that the deformation of materials at the micromechanic scale has an optical signature<sup>1</sup>. The development of multiple observation techniques under shear, up until 1998, has been reviewed by Fuller<sup>2</sup> in the case of 2D-rheo-optics and by Wagner<sup>1</sup> in the case of 3D-rheo-optics. Since the end of the 90s, innovation in the field of rheo-optic techniques has been focused on the development of new rhe-

---

<sup>a)</sup>murielle.hayert@agroparistech.fr

ological and observational tools. Van der Linden<sup>3</sup> has recently summarized the devices developed throughout the last decade in the food as well as in the non-food sciences. The rheo-optical devices which have been developed are either: *i*) an observation device adapted to an existing or commercial shearing system or *ii*) a shearing device adapted to an existing or commercial observation system. To take advantage of the well-proven accuracy of the commercialized rheometer, some teams have developed observation techniques adapted to it<sup>11,17,21</sup>. However, the power of magnification of these devices is low and the size of the area maintained within sight is highly limited. Moreover, compared to the development of an optical device, it is faster, simpler, and more economical, in addition to being more scientifically precise, to develop a mechanical shearing system to fit an existing or commercial observation system. Indeed, much work has been focused on the development of shearing tools adapted to an observation device.

To carry out deformation under controlled conditions, different means, such as a controlled strain rheometer<sup>9,12,17</sup>, 4-roll mills<sup>4,10</sup>, parallel plates<sup>14,23,24</sup>, and others<sup>5,21</sup> have been used. In terms of the means of producing shear in rheo-optic devices, either rotation<sup>4-17</sup> or translation<sup>4,17-24</sup> is used. Rotation has the advantage, over translation, of producing an infinite shear and strain. But from a purely technological point of view, the axis of the motor driving the rotation motion often falls into line with the axis of observation of the objective of the microscope, thereby compromising the field of vision. Motion driven by translation does not present this problem because the axis of motion is orthogonal to the axis of observation when shearing between two parallel plates.

The techniques of observation available in rheo-optic devices are numerous depending on the material and the observation scales. Often, CCD video cameras<sup>4,6,9,12</sup> are used, capped with a magnification lens or directly mounted on a microscope<sup>17,21,22,24</sup>. In the case of a turbid system, after the fluorescent labeling of the material, a confocal laser scanning microscope (CLSM) is used. Observations can also be carried out using laser scattering methods<sup>5,11,21,25</sup>.

Most of the devices which have been developed are laboratory prototypes, and only a few have made their way to the market. The Linkam<sup>®</sup> shear cell<sup>13,14</sup> is the first commercialized device for observation under rotational shear flow. It can heat the sample but its sole mobile bottom plate does not make it possible to keep the object or the region under study within the observation window, except in the case of a deformation small in amplitude. Moreover, it does not allow any measurements in terms of force. Among the non-commercial devices, the shear cell recently developed by Wu et al.<sup>24</sup>, based on motion by translation, retained our attention as it is the approach which best suits our scientific aims: it was designed to be adapted to an inverted CLSM and its mechanical features are highly accurate. However, several drawbacks needed

to be overcome. Firstly, the preparations before the observation of the samples, including their step of gluing the glasses to the plates, is very time consuming (around 3 h). Secondly, a pair of cassettes must be purchased for each sample. Thirdly, it turns out that, in practice, it is difficult to ensure reproducible sampling. In addition, temperature cannot be controlled. Besseling et al.<sup>17</sup> have recently developed the "confocal rheoscope", a combination of a rheometer and a confocal observation. The size and the weight (> 10 kg) of these cells, as well as their cost, limit their use. For our needs in the food sector, we set out to build a shearing device, one that would be light and compact as well as adaptable to any inverted CLSM or other type of optical microscope. We sought to achieve a high accuracy in terms of the rheological parameters while including the possibility of regulating temperature. Our overall aim was to develop a shear cell that could be used for a wide range of textures and consistency of complex soft materials.

In this paper, we present the RheOptiCAD<sup>®</sup>, a novel rheo-optical device designed to study complex systems under thermo-regulated conditions using controlled double translation shear plates. The conception and specifications are presented as well as motor configuration and its validation. We also present and discuss our initial experiments with the device, investigating at first a simple model system, a microgel containing fluorescent particles, and then a more complex one, bread dough.

## II. CONCEPTION AND SPECIFICATIONS OF THE RHEOPTICAD<sup>®</sup>

The RheOptiCAD<sup>®</sup> was designed so that three functions can be carried out, simultaneously or not:

- applying strain, constant shear rate or oscillation-controlled shear flow;
- observing a wide range of complex materials ranging in texture from a liquid to a soft-solid; and
- controlling the temperature of samples.

In our case, in which we bring food systems under observation, we sought the capacity to deform and visualize a wide range of textures and structures including emulsions and foams, gels, doughs, and solids. To define our specifications, we took into account the physico-chemical characteristics of these products as well as the available knowledge in the fields of rheology and the microscopy of complex food systems. The three main features of the RheOptiCAD<sup>®</sup>, including the various parameters that must be brought under control as well as the technological solutions that allow for this, are presented below.



Figure 1. The RheOptiCAD® (in black in the center of the image) mounted on an inverted CLSM

#### A. An overall view of the RheOptiCAD®

The first prototype of the RheOptiCAD® was manufactured by CAD Instruments (Les Essarts-le-Roi, France). It is shaped like a cube with a height of 20 cm and it weighs about 5 kg. A computer-controlled electronics device relies on Ethernet communication to run the motors and RS-232C to control temperature. Figure 1 shows the developed shear cell mounted on an inverted CLSM. It has been designed to be compact and easily transportable by simply grabbing the two handles integrated right into the device's skeleton.

#### B. Controlling strain and shear rate

##### 1. Motion and motor specifications

In the case of the RheOptiCAD®, the shearing of the sample is carried out by uniaxial translation, generated by the motion of two parallel plates. Each plate is driven by its own motor. The targeted strains and shear rates are set within the range of 0.01 to 10 and  $0.1 \text{ s}^{-1}$  to  $100 \text{ s}^{-1}$  respectively. These values correspond to the ones frequently used when looking to characterize complex systems using optical rheometry. We chose to create motion by translation for several reasons. First of all, it is technologically quite easy to implement. Secondly, the motors and translation stages make it possible to achieve the specifications in terms of the displacement stress needed to deform the range of materials designated for study. Last but not least, we sought to render sampling as user friendly as possible. Indeed, readily available commercial microscopy slides—rather than time-consuming, lab-made glasses or tubes—are used to contain the samples. Since these microscopy slides are rectangular in shape, it is

necessary to use the translation mode. In the case of a geometry based on parallel plates moving by means of translation, the strain and shear rates are given by Eq. 1 and Eq. 2 respectively:

$$\gamma = \frac{A_T}{e} \quad (1)$$

$$\dot{\gamma} = \frac{v_T}{e} \quad (2)$$

$\gamma$  is the strain rate,  $\dot{\gamma}$  is the shear rate ( $\text{s}^{-1}$ ),  $A_T$  and  $v_T$  are the displacement (mm) and the velocity ( $\text{mm.s}^{-1}$ ) of the plates respectively, and  $e$  the gap width (mm). Due to the fact that the RheOptiCAD® is mounted on an inverted microscope, the objectives under it determine the distance the plates can travel: the bottom plate no farther than 12 mm while the top plate can travel as far as 20 mm.

##### 2. Load force of the motors and the generated stress

Since the systems falling under study present various rheological properties and textures, the choice of the motors depended on ensuring a sufficient load force to deform the samples in a highly consistent and precise way. The resolution of motor motion had to be precise enough to obtain a high resolution at low strain and shear rates. Given the various food products under study, within the targeted range of shear rates, the maximum shear stress had to be around 100 Pa. Linear stages, FB-075 coupled to a piezo-electric motor HR4 (NanoMotion, USA) were selected. An encoder which renders the resolution of motor motion as precise as 10 nm was selected. Table I compares target values, specifications and the real values of the motorized stages. Finally, three motorized stages were acquired: two are dedicated to the motion of the parallel plates (top and bottom) and the third one, fixed to the top plate, is used to control gap width.

##### 3. Gap Width

The gap width between the two parallel plates forming the shear geometry needs to be adjustable given the variety of samples. Generally speaking, the gap should be 10-fold bigger than the objects under observation. For example, food systems contain particles varying in size from 0.1 (lipid droplets) to  $50 \mu\text{m}$  (swollen starch granules). Moreover, for semi-solid products with high viscoelastic properties such as dough, a gap measured in millimeters renders them easier to sample. Thus, the width of the gap had to range from  $100 \mu\text{m}$  up to 5 mm.

Planarity and parallelism of the microscopy slides are essential criteria for a fine-tuned control of the deformation. They also play a role in the quality of observation. In order to ensure these two properties, several technical

Table I. Comparison of target values, specifications, and the real values of the shear cell

|                                               | Target values | Specific. | Real values |
|-----------------------------------------------|---------------|-----------|-------------|
| <b>RHEOLOGY</b>                               |               |           |             |
| <b>Gap (mm)</b>                               | 0.1-5         | -         | 0.1-5       |
| <b>Strain</b>                                 | 0.01-10       | -         | 0.02-320    |
| <b>Shear rate (<math>s^{-1}</math>)</b>       | 0.1-100       | -         | 0.01-400    |
| <b>MOTORS' MOTION</b>                         |               |           |             |
| <b>Travel range (mm)</b>                      | 0.005-20      | 0-40      | 0-32        |
| <b>Resolution (<math>\mu m</math>)</b>        | 5             | 0.01      | 1           |
| <b>Velocity (<math>mm.s^{-1}</math>)</b>      | 0.05-10       | 0-250     | 0-40        |
| <b>Load force (N)</b>                         | 20            | 16        | 16          |
| <b>Frequency (Hz)</b>                         | 0.01-5        | 0.01-20   | 0.01-10     |
| <b>TEMPERATURE</b>                            |               |           |             |
| <b>Range (<math>^{\circ}C</math>)</b>         | 10-80         | -         | 10-80       |
| <b>Rate (<math>^{\circ}C.min^{-1}</math>)</b> | 0-10          | -         | 0-10        |

solutions were experimented with. The solution opted for is based on the creation of a vacuum thanks to a pump. The microscopy slides are thereby bound to the aluminum cassette designed and made for the purposes of this study. A path for the air was etched into the planar surface of each plate and an out-flow duct was attached to connect it to the vacuum pump. A vacuum pump produced by Laboport (KNF, France) ensures this suction system between the plate and the glass. It can work at a minimum pressure of 160 mbars. Once the pump is turned on, the microscopy glass and the cassette become one to form the moving plate. This technique applies to both the top and bottom plates. The advantages are numerous. Firstly, the preparations before the observation of the samples become very time efficient, mainly by sidestepping the more standard gluing procedure. Secondly, only a single, perfectly plane pair of aluminum cassettes has to be manufactured. Thirdly, the samples can be quickly positioned while maintaining a high level of reproducibility in terms of planarity and parallelism. In addition, commercial microscopy slides can be used. Otherwise, a set of three micro-step screws per plate help to adjust tilt and fluctuation along the path the plates travel.

#### 4. Zero Velocity Plane

In order to single out and follow the dynamics of an object inside the observation window, once that object is submitted to a strain, it is necessary that the object be in a Zero Velocity Plane (ZVP), producible when two plates are moved in opposite directions. The location of the ZVP in the gap between the two plates can be varied by adjusting the ratio of the plate velocity (see Figure 2). Indeed, the opacity of a sample will determine where the user wishes the ZVP to be located. In the case of fairly clear samples, the laser of the CLSM

can penetrate deeply enough, thereby shedding sufficient amounts of light for observation. The ZVP can therefore be located right in the middle of the gap, obtained by having both plates move in opposite directions at the same speed of motion. In the case of a fairly opaque sample, the laser of the CLSM cannot penetrate deeply enough due to attenuation and turbidity. Thus, the ZVP should be located closer to the bottom plate. This can be achieved by increasing the velocity of the top plate while decreasing the velocity of the bottom one. The location of the ZVP according to the velocities of the plates is given by the following equation (Eq. 3),

$$z_{ZVP} = \frac{e}{\frac{V_1}{V_2} + 1} \quad (3)$$

with  $z_{ZVP}$  the position of ZVP in the  $z$ -axis direction,  $V_1$  and  $V_2$  respectively the velocities of the top and bottom plates ( $mm.s^{-1}$ ) and  $e$  the gap width (mm).

#### C. Observation of a complex system

The dynamic observation of the structure of a complex system in the shear cell was carried out using a CLSM TCS SP2 AOBS (Leica, Germany) mounted on an inverted microscope. The rheo-optical device proposed in these pages was adapted to this microscope, and geometric restrictions (for example weight, dimensions, and security systems for lasers) were taken into consideration. However, the RheOptiCAD<sup>®</sup> was designed such that it can be adapted to most of the inverted microscopes available on the market. The dimensions and characteristics of the objectives were also taken into account, especially in terms of getting the free working distance to fit the dimensions of the RheOptiCAD<sup>®</sup>. With this in mind, an opening in the bottom plate—to let the laser shed light on the sample—was designed in the shape of an oval, 18 mm x 8 mm or 144 mm<sup>2</sup>, defining thereby the dimensions of the observation window. The geometry of

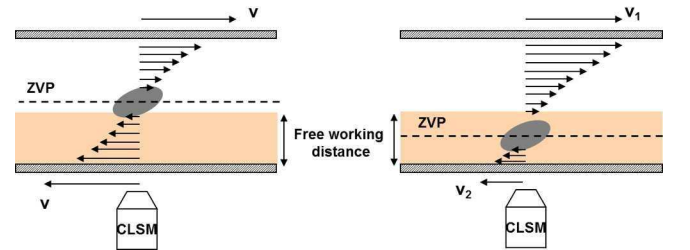


Figure 2. Example of Zero Velocity Plane adjustment in order to focus on a plane inside of the free working distance. Left image: both plates move at the same rate, therefore the ZVP falls right in between the two plates, and partly outside the ZVP. Right image:  $V_1$  is higher than  $V_2$ , therefore the ZVP is shifted towards the bottom plate into the middle of the free working distance.

the objectives was also taken into account when design-

ing the opening through the bottom plate, in order to make it possible for users to work with both immersion (water or oil) or air objectives. Objectives are able to come closer to the glass on the bottom plate to create a good contact in the presence of an immersion medium. Finally, we kept in mind the cost of the microscope and its accessories (i.e., objectives, confocal head and computer system). We also put into place some safety measures to protect them. For example, the length of the oval shape limits the travel range of the bottom plate, preventing any contact with the objective and therefore avoiding any damage to it.

#### D. Temperature control

Temperature can be controlled within a range varying from 10 to 80°C. This range is suited to many applications and systems. A 30 mm x 30 mm Peltier system was installed on the top plate and coupled to a controller TC-XX-PR59 (SuperCool, Sweden) which has its own power supply 15V/7A (Omron, France). Water circulating in a copper part attached to the top of the Peltier system evacuates heat calories, playing an important role in regulating temperature. A thermocouple was inserted into the thickness of the top aluminum cassette. Heating and cooling rates were optimized, and they typically fall within a range from 1 to 20°C.min<sup>-1</sup>. Calibration was carried out by using a thermocouple placed in a gap set at a width of 1 mm and filled with a PDMS oil. When heated, the maximum difference between the temperature of the top plate and the sample was 0.8°C. When temperature was set at a constant 20°C, this difference was less than 0.2°C.

#### E. Summary table and detailed views of the shear cell

Table I shows the different parameters used for the specifications and the conception of the shear cell. By putting the prototype to the test, the target values were compared to those obtained under trial conditions. Note that for the real rheological values, the mechanical and observation limits of the plates were accounted for in the calculation, i.e., total travel ranges are respectively 20 mm for the top plate and 12 mm for the bottom plate, and minimal motion time 1 s. This table provides a good overview of motor characteristics and the dynamics of motion. The real values of the rheological parameters in the case of the RheOptiCAD<sup>®</sup> are also given. These values are in good agreement with the expected ones as well as with standard rheological values in the case of commercial tools. Figure 3 presents an image sequence of the main parts of the cell, from the gap to the complete device.

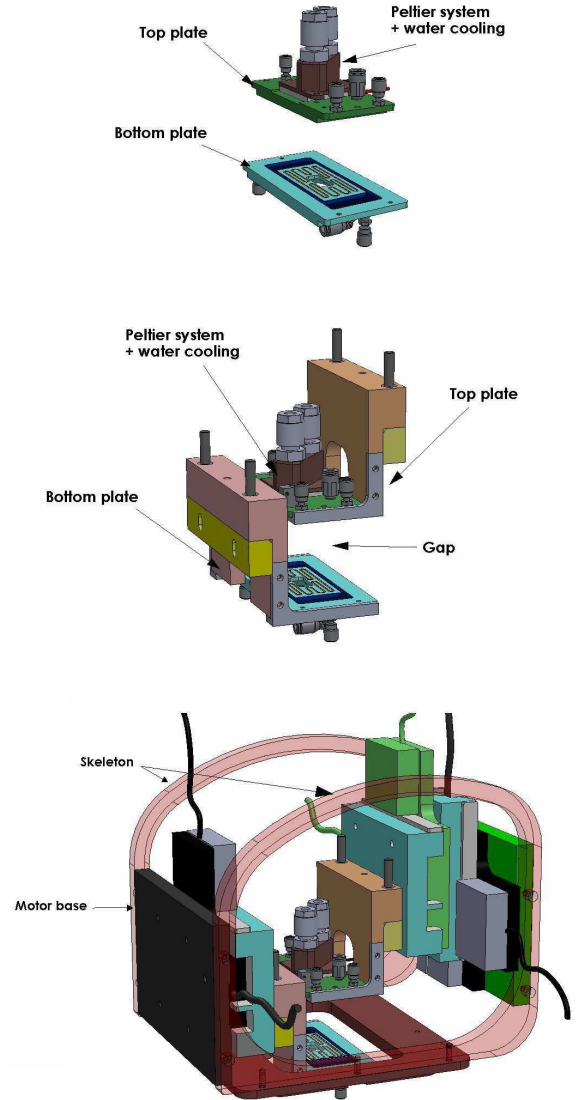


Figure 3. 3D-images of the RheOptiCAD<sup>®</sup>

#### F. Piloting software

To render the shear cell user friendly, a software, consisting of a graphic interface and a tuning configuration of the three motors (Figure 4), was developed (A2V, Rambouillet, France). It is possible to control and define all the parameters related to the positioning of the plates and the deformation mode (i.e., amplitude, velocity, the length of the experience or frequency) depending on the three given modes of motion: strain jump, constant shear rate, and oscillation shear. Also, thanks to this software, a user can easily control the positions of the top and bottom plates as well as set references as needed. The limits of the travel range are automatically defined as a



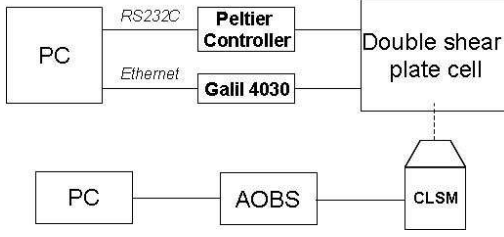


Figure 4. Functional scheme of the piloting software

function of the set reference. The position of the gap was also motorized. The gap can be easily positioned before each experiment, no matter the thickness of the microscopy slides which is known to vary from glass to glass. A maximum position button for the top plate was programmed to provide more space and thereby render sampling an easier task. Once both plates are set and the gap width is defined, the device can be set in motion. The parameters of the three modes of motion are defined as follows:

- **Strain-jump:** instantaneous deformation (experimental time tends towards 0) with the amplitude of each plate as variables—the 2 mobile plates move in opposite directions;
- **Constant shear rate:** a linear deformation over time with the amplitude of each plate and experimental time as variables—the 2 mobile plates move in opposite directions;
- **Oscillation:** deformation following a sinus signal with amplitude and frequency as variables—1 mobile plate (either the bottom or top one).

After each deformation, a data file is automatically created. It contains the data series provided by the encoders of the motorized stages relative to each experiment. Several variables are recorded: time (s), position (mm) and velocity ( $\text{mm.s}^{-1}$ ) of respectively the gap, the top plate and the bottom one. The acquisition system Galil DMC-4030 allows the simultaneous recording of around 15,000 data. More or less variables can be recorded, and sampling is automatically provided by the acquisition system. The data are dispatched equally in function of the number of variables and the length of the experiment. These data were used to validate motor configurations and achieve a suitable coherence between target and real values.

### III. MOTOR CONFIGURATION AND VALIDATION

#### A. Gap planarity and parallelism

The parallelism of both plates along the entire length of their  $x$ -axis traveling range was validated by using a laser reflective method. Thanks to the above-described

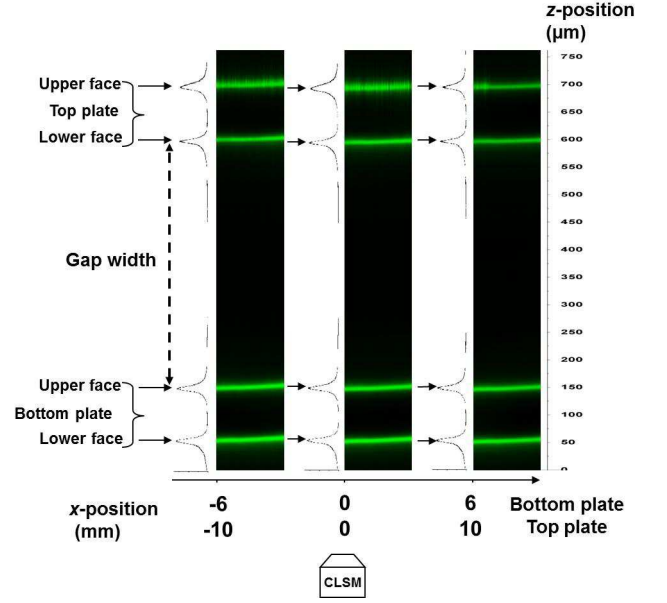


Figure 5. Parallelism and planarity of plates validated by a laser reflective method. 800 images ( $512 \times 32$  pixels) are adjoined in the  $z$ -axis direction for three different  $x$ -positions. Intensity profiles are plotted to the left of each  $z$ -stack and arrows indicate a maximum intensity value corresponding to a reflection

suction mechanism, two #1 microscopy slides were made to adhere to the plates and the gap was initialized. A gap width of  $450 \mu\text{m}$  was set. Using an air objective  $\times 10$ ,  $0.3 \text{ NA}$  (Leica) and a  $543 \text{ nm}$  He/Ne laser, the position of the laser reflection at the air-glass interface was measured. Four reflections were observed, corresponding to the two faces of the microscopy slides (Figure 5). The distance between the first and second reflections as well as the third and fourth ones represents the thickness of the microscopy slides. For three different positions ( $x = -6; 0$  or  $6 \text{ mm}$ ), a series of images ( $512 \times 32$  pixels) in the  $z$ -axis direction (velocity-gradient plane) were recorded every  $1 \mu\text{m}$ . By adjoining all images and plotting the intensity profile, four reflections were clearly detected. The number of images between the second and the third reflection, i.e., between the maximum of intensity, corresponds to the gap width. At  $x = -6 \text{ mm}$ , the width was  $448.3 \mu\text{m}$ , at  $x = 0 \text{ mm}$  the width was  $445.8 \mu\text{m}$  and when  $x = 6 \text{ mm}$ , the width was  $447.4 \mu\text{m}$ , i.e., a difference of less than  $3 \mu\text{m}$ . This value confirms that the plates (with the attached slides as designed here) are parallel. For an  $x$ -position, a tilt seems to appear. In fact, this tilt appears due to the scanning speed in the  $z$ -axis direction of the 800 images. This apparent tilt is the same for the three different  $x$ -axis positions meaning that scanning speed was always the same. A faster confocal scanner would decrease this apparent tilt. Moreover, over a total lateral traveling distance of  $20 \text{ mm}$  for the top plate and  $12 \text{ mm}$  for the bottom plate, their reflective  $z$ -position varied less than  $5 \mu\text{m}$ , ensuring a high level of

planarity of the microscopy slides. The reproducibility of this gap width set-up—based on the suction system making the microscopy slides one with the aluminum plates—is shown in Figure 6. The small difference ( $< 1\%$ ) with the perfect planarity is mainly due to the commercial slides which are not always the same thickness. Using a similar method, the planarity of both plates was verified in the  $y$ -axis direction (velocity-vorticity plane). An initialization function in the software allows users to free themselves from fluctuations in glass thickness. These two conditions were also verified later in the presence of a sample in the gap width, either a gel or bread dough. Perfect parallelism was obtained in all cases. The pla-

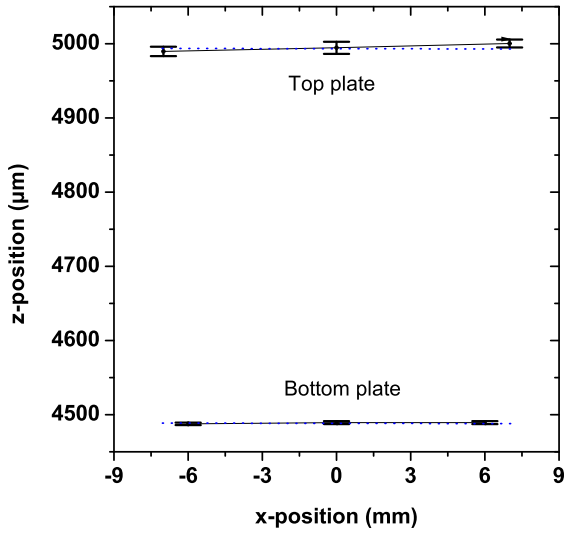


Figure 6.  $z$ -position of each plate versus  $x$ -position over the entire length of a lateral travel. Gap width was  $500\ \mu\text{m}$ . Plotted points and standard deviation correspond to 3 repeats with 3 different pairs of microscopy slides. Dashed lines reveal the perfect planarity.

narity and parallelism settings can be modified and adjusted by using three micro-screws on each plate. However, over time, we observed a very good reproducibility of these two parameters, and the use of a simple laser reflective method was enough to validate them before any experiment.

### B. Validation of motor specifications in the three modes of motion

In figures 7 and 8, positive curves correspond to the top plate position and negative ones to the bottom plate position. Before running a real experiment, the mechanical behavior of our system needed to be validated. Translation motions were first carried out with the shear cell not mounted on the microscope. The goals were: to verify the behavior of the cell and the software (tuning config-

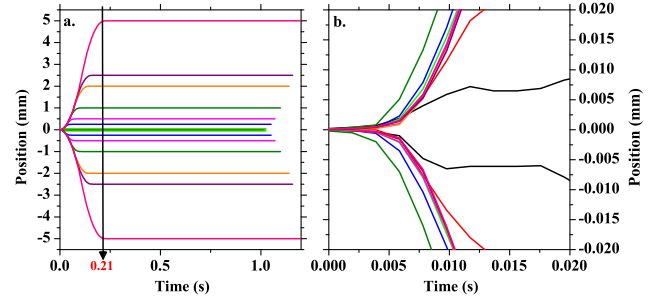


Figure 7. Evolution of plate position versus time for different strain jump amplitudes. a) between 0 and 1.2 s, b) same results but between 0 and 0.02 s and positions between -0.02 and 0.02 mm.

uration); to validate real motions compared to targeted ones; and to ensure security settings before using the cell. The weight, and therefore the inertia of each axis being different, a specific tuning was required for each stage. On top of that, both stages had to be synchronized in motion. A servo controller was used in conjunction with motor drivers to adjust the Proportional, Integral, Derivative (PID) gains of the closed loop including three coefficients involving static command and three others involving dynamic command. The feedback signal was provided thanks to an integrated high resolution encoder located within each stage. Foreseeing a general use of RheOptiCAD<sup>®</sup> under an extremely wide range of motor dynamics, we adopted three sets of different gains. It is mainly the dynamic coefficients which differentiate the three configurations. The servo controller automatically activates the proper parameters depending on the amplitude and velocities selected by the user.

By applying a strain jump from 0.1 to 5 mm for each plate, in the case of the greatest deformation ( $\gamma = 10$ ), it takes around 0.21 s to reach the set point (Figure 7a). The reaction time of the device proposed here is of the same magnitude as standard rheometers or other shearing systems. By plotting these strain-jump curves between 0 and 0.02 s, it is clearly shown that the top and bottom plates are starting simultaneously (Figure 7b). This configuration is the means to a perfect synchronization of both plates. In the case of continuous deformation, a 4-decade range of deformation ( $\gamma = 0.01$ ; 0.1; 1 or 10) was tested for three shear rates ( $\dot{\gamma} = 0.1$ ; 1 or  $10\ \text{s}^{-1}$ ). Figures 8a, 8b and 8c show the behavior of the corresponding plates. For low and medium shear rates ( $\dot{\gamma} = 0.1\ \text{s}^{-1}$ , Figure 8a;  $\dot{\gamma} = 1\ \text{s}^{-1}$ , Figure 8b), both plates followed the imposed signal. When shear rate increased ( $\dot{\gamma} = 10\ \text{s}^{-1}$ , Figure 8c), a static error—due to a lag just after motors started—was observed between the theoretical and the actual positions of the plates. This static error could be corrected by adjusting the PID coefficients. Using the prototype without any sample ensured a good agreement between specifications and the actual behavior of the plates. As no problem was encountered



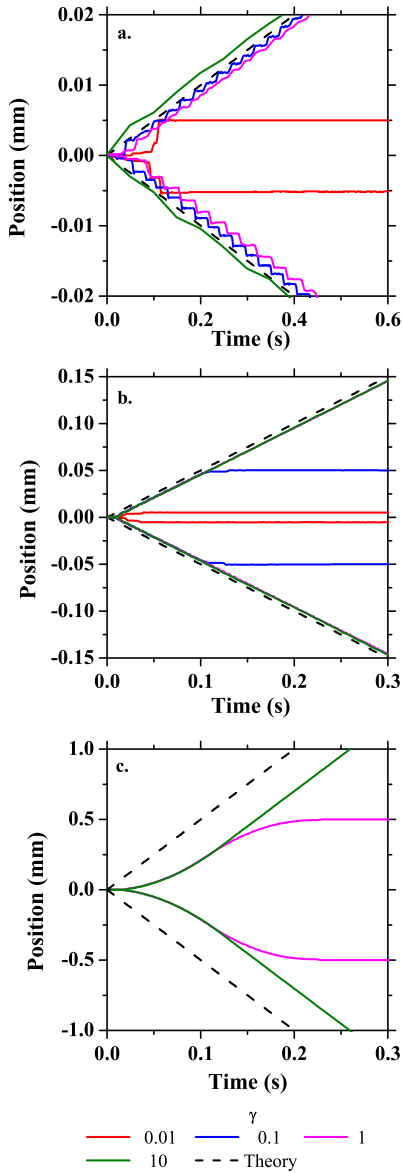


Figure 8. Comparison of continuous deformations for  $\dot{\gamma} = 0.1 \text{ s}^{-1}$  (a),  $\dot{\gamma} = 1 \text{ s}^{-1}$  (b) and  $\dot{\gamma} = 10 \text{ s}^{-1}$  (c)

at this step, the next step was to test the cell using model systems.

### C. First experiments

#### 1. Microgel model system

The optical validation of the shear cell was carried out with a microgel<sup>26</sup> containing fluorescent microspheres ( $\varnothing = 1 \mu\text{m}$ ). For all in-time observations, the confocal microscope was equipped with a x40 water objective (with 0.8 NA and free working distance = 3.3 mm). Gap width was set to  $500 \mu\text{m}$  and a 488 nm Ar laser was

used. Images ( $512 \times 64$  pixels) were recorded either in the velocity-vorticity plane ( $xy$ ) or in the velocity-gradient plane ( $xz$ ). Films were reconstituted with ImageJ (version 1.45, National Institute of Health, Bethesda, Md, USA). First, the non-motion of particles (not shown) was verified in the ZVP using a same velocity for both plates moving in opposite directions in the case of different strains and shear rates. Secondly, the motion of particles uniquely in the  $x$ -axis direction during this continuous strain confirmed the parallelism of the plates. It also indicated that in the case of the proposed system, there was no slipping between the sample and the microscopy slides during the deformation. Afterwards, the ratio of the velocities between top and bottom plates was modified. This validation was necessary for the later observation of consistency and non-transparent systems, cases in which the laser cannot penetrate deep enough into the matrix. By increasing the top velocity and decreasing the bottom one, the ZVP position can be shifted closer to the bottom plate. In these images (Figure 9), particles fol-

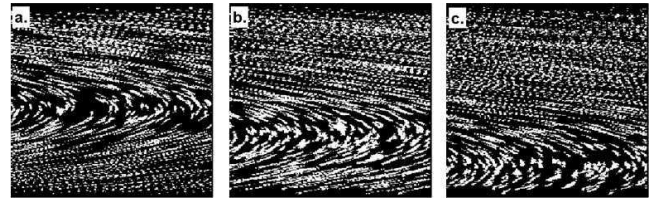


Figure 9. Images in the velocity-gradient plane for different velocity ratios  $v_b/v_t$ : 1 (a), 0.36 (b) and 0.13 (c). Gap width was  $500 \mu\text{m}$ , and height of the image is the same as the width of the gap.

lowed a parabola motion in the velocity-gradient plane. The location of the ZVP corresponded to the plane where particles were not moving, that is to say at the top of the parabola. When top and bottom plate velocities were the same in opposite directions, the ZVP was located in the middle of the gap (Figure 9a). The location of the ZVP was shifted closer to the bottom plate when the ratio decreased, that is to say in the case of a higher top velocity (Figure 9b, c). For a same gap width of  $500 \mu\text{m}$ , the ZVP was positioned  $50 \mu\text{m}$  above the bottom plate. These three images are similar to the ones obtained by Wu et al.<sup>24</sup> who investigated the velocity-gradient plane of the dispersion for a constant shear but under different velocities ratios. Oscillation motions were carried out using several frequencies. An example of an oscillating motion of the top plate ( $A_0 = 0.2 \text{ mm}$ ,  $f = 0.5 \text{ Hz}$ ) for a gap width of  $700 \mu\text{m}$  is shown in Figure 10. The amplitude was chosen large enough to ensure that a centered particle remained over time in the given size of the image. By plotting the theoretical sinus and the one recorded by the Galil system on the adjoining images over the time of deformation, a perfect superimposition was observed. Neither a lag nor noisy signal appeared.

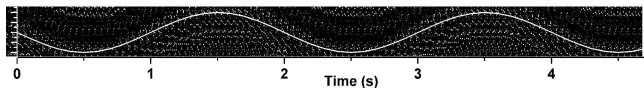


Figure 10. Example of oscillating motion ( $A=0.2$  mm,  $f=0.5$  Hz) of microgel containing fluorescent microspheres ( $\varnothing = 1$   $\mu\text{m}$ ) at  $T=20^\circ\text{C}$ . Gap width was 700  $\mu\text{m}$ . Accordance between images over time and theoretical signal (white line).

## 2. Bread dough

One of the targeted specifications was to be able to deform high-consistency products, which, for rewarding observations, require a force of up to around 20 N. In order to test this limit of the cell, we chose as a fitting example bread dough undergoing shear. Two recipes of bread dough<sup>27</sup> were prepared with standard ingredients: flour, salt and water. The flour was the base for determining the amount of the two other ingredients. In recipe A, the amount of water was 55 wt% of the flour and in recipe B it was 60 wt%. As for the salt (previously dissolved in water), in both recipes it was 2 wt% of the flour. Using a Mixograph (National MFG Co., Lincoln, Nebraska, USA), 10 g of wheat flour were premixed with 25 mg of gluten stained by rhodamine B for 1 min at 88 rpm. Then, we added the water and salt and mixed for 4 min at 88 rpm. After placing the bread dough sample on the bottom plate of the rheo-optical device, a gap width of 500  $\mu\text{m}$  was set. The sample was submitted to oscillating shearing of the bottom plate at  $f = 0.3$  Hz for an amplitude  $A_0 = 0.4$  mm. The images are presented in Figure 11. For recipe A, at  $t = 0$  s, no orientation

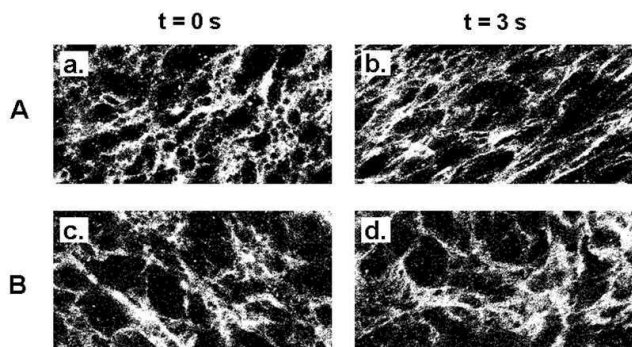


Figure 11. Images of bread dough submitted to an oscillation motion at  $t = 0$  s and  $t = 3$  s for 2 water content recipes: Recipe A = 55 wt% and Recipe B = 60 wt%. White pixels represent the gluten-protein network and black pixels correspond to air bubbles and starch granules.

of the gluten network was observed (Figure 11a). After 3 s of deformation, which corresponds to an amplitude of 0.4 mm, we can clearly see in Figure 11b that the sample dough underwent structural changes, that is to say that the gluten network evolved into long fibers oriented

more diagonally. When changing the formulation, for example simply adding more water, as is the case of recipe B, thicker, stiffer fibers were obtained before and during the deformation (Figure 11c, d).

To sum up, we have seen that the evolution in the gluten network, in function of the degree of deformation and time, can be investigated by varying the formulation of bread dough. It served to prove how well the developed shear cell works with the optical and mechanical inconveniences of this high consistency product, a solid indication that the device can be used for a wide range of sample materials. More specifically, qualitative elements can be easily extracted from the images this device produces. From a quantitative point of view, image analysis methods<sup>28</sup> would need to be developed and used in function of the sample chosen to come under study. In our case, as a next step, and depending on the formulation of the bread dough, the structuring or orientation of the network could come under investigation.

Finally, this set of experiments with bread dough confirms the suitability of the technical solutions chosen for shearing. No slip or motion of the slides during the shearing of bread dough was observed. The focal plane was kept constant during observation thereby validating planarity and parallelism criteria, even for samples such as bread dough which exerts a strong force during deformation. Opting to use suction with a vacuum pump to hold both slides is a real advantage for sampling and reproducibility: it is easy and fast; commercial microscopy slides can be used no matter the glass thickness; and perfect planarity and parallelism are ensured.

## IV. CONCLUSIONS AND PERSPECTIVES

This paper presents a novel rheo-optical device which can be used to investigate a wide range of complex fluids—from foams to gels and doughs—under a variety of shear flow conditions, including strain-jump, constant shear rate and oscillation. Referred to as the RheOptiCAD®, it was patented under FR 11/03828. From a technical point of view, the principle innovation lies in the fact that standard microscopy slides are attached with a depression vacuum pump, rendering the slides one with the plate. The advantages are numerous. Firstly, this system ensures the perfect planarity and parallelism of the plates. Secondly, in comparison to existing devices, the time to prepare samples for observation is dramatically shortened. Indeed, putting the slides in place by using this technique, followed by initializing the gap and setting its width, plus verifying the planarity and parallelism, takes a maximum of 20 min (and not roughly the three hours in the case of other known devices). Thirdly, and most importantly, this system ensures reproducible sampling. In addition, temperature can be adjusted between 10 to  $80^\circ\text{C}$  using a Peltier element mounted on the top plate.

Not to be overlooked, the use of the proposed device

reduces the cost of using a rheo-optical approach to investigate the structural evolution of complex material as a single pair of cassettes can be used over and over again, rather than buying or making a pair per sample, and readily available commercial slides can be used instead of fabricating them. The proposed device is therefore more readily accessible to the scientific community, either as a prototype or later as a tool that can be purchased on the market. To optimize the developed shear cell, the following technical enhancements are currently under discussion: measuring the stress produced by the deformation; increasing the range of translation; designing a bottom plate suitable for higher magnification objectives, and, integrating data analysis software. In more detail, we are seeking to measure the stress produced by the deformation by placing a surfacing piezo-electric sensor; however, its position may influence criteria such as planarity and parallelism. Another option might be to calculate the stress from the current intensity of the motors during deformation.

The experiments carried out to validate the technical features of the shear cell, with and without samples, revealed that real values agreed well with the targeted ones. Moreover, insight into the potential use of the device was gained by initializing an investigation of bread dough, a very high-consistency material. The images of bread dough submitted to an oscillation motion showed that qualitatively speaking the material underwent structural changes in function of shear flow. Further research will lead the way towards quantitative findings through the development of image analysis methods in function of the sample falling under study. Overall, our results show that the RheOptiCAD<sup>®</sup> promises to be a useful tool to better understand, from both a fundamental and an industrial point of view, the rheological behavior of the microstructure of complex fluids under controlled thermo-mechanical parameters in the case of food and non-food systems.

## ACKNOWLEDGMENTS

We would like to thank Pr. Michel CLOITRE, ES-PCI Paris, for providing a model microgel system for the validation of the motions. We would also like to thank Richard ROCCA and Bertrand HEYD for their technical contribution to the thermal feature of the device. We are grateful that the MIMA2 Platform (INRA, Massy, France) allowed us to use the CLSM. Very special thanks go to Henri Plant and Dr. Suzette Tanis-Plant for fruitful discussions in English, and to Suzette alone for her

thorough editing of this version of the paper. The Ile-de-France and Essonne regions of France provided much needed funds.

## REFERENCES

- <sup>1</sup>N. Wagner, Current Opinion in Colloid & Interface Science **3**, 391–400 (1998).
- <sup>2</sup>G. Fuller, Current Opinion in Colloid & Interface Science **2**, 153–157 (1997).
- <sup>3</sup>E. van der Linden, L. Sagis, and P. Venema, Current Opinion in Colloid & Interface Science **8**, 349–358 (2003).
- <sup>4</sup>G. Taylor, Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Containing Papers of a Mathematical and Physical Character (1905–1934) **146**, 501–523 (1934).
- <sup>5</sup>B. Noetinger, L. Petit, E. Guazzelli, and M. Clément, Revue de Physique Appliquée **22**, 1025–1032 (1987).
- <sup>6</sup>L. Levitt, C. Macosko, and S. D. Pearson, Polymer Engineering & Science **36**, 1647–1655 (1996).
- <sup>7</sup>V. Tsakalos, P. Navard, and E. Peuvrel-Disdier, Journal of Rheology **42**, 1403 (1998).
- <sup>8</sup>C. Bower, C. Gallegos, M. Mackley, and J. Madieto, Rheologica Acta **38**, 145–159 (1999).
- <sup>9</sup>S. Comas-Cardona and C. Tucker, Journal of Rheology **45**, 259 (2001).
- <sup>10</sup>L. Hamberg, P. Walkenstrom, M. Stading, and A. Hermansson, Food Hydrocolloids **15**, 139–151 (2001).
- <sup>11</sup>C. Baravian, P. Snabre, and P. Flaud, in *XVème Congrès Français de Mécanique* (CFM, 2001) pp. 3 – 7.
- <sup>12</sup>F. Mighri and M. Huneault, Journal of Rheology **45**, 783 (2001).
- <sup>13</sup>S. Wannaborworn, M. Mackley, and Y. Renardy, Journal of Rheology **46**, 1279 (2002).
- <sup>14</sup>Y. Deyrail and P. Cassagnau, Journal of Rheology **48**, 505 (2004).
- <sup>15</sup>V. Tolpekin, M. Duits, D. van den Ende, and J. Mellema, Langmuir **20**, 2614–27 (2004).
- <sup>16</sup>S. Assighaou and L. Benyahia, Rhéologie **11**, 45–56 (2007).
- <sup>17</sup>R. Besseling, L. Isa, E. Weeks, and W. Poon, Advances in colloid and interface science **146**, 1–17 (2009).
- <sup>18</sup>P. Mather, H. Stüber, K. Chaffee, T. Haddad, A. Romo-Uribe, and J. Lichtenhan, in *Material Research Society Symposium - Vol. 425* (1996) pp. 137–142.
- <sup>19</sup>S. Guido and M. Villone, Journal of Rheology **42**, 395 (1998).
- <sup>20</sup>H. Yamane, M. Takahashi, R. Hayashi, K. Okamoto, H. Kashiwara, and T. Masuda, Journal of Rheology **42**, 567 (1998).
- <sup>21</sup>Y. Nicolas and M. Paques, Journal of Food Science **68**, 1990–1994 (2003).
- <sup>22</sup>P. Varadan and M. Solomon, Journal of Rheology **47**, 943 (2003).
- <sup>23</sup>B. Birkhofer, J. Eischen, D. Megias-Alguacil, P. Fischer, and E. Windhab, Industrial & Engineering Chemistry Research **44**, 6999–7009 (2005).
- <sup>24</sup>Y. Wu, J. Brand, J. van Gemert, J. Verkerk, H. Wisman, A. van Blaaderen, and A. Imhof, The Review of scientific instruments **78**, 103902 (2007).
- <sup>25</sup>P. van Puyvelde, Journal of Colloid and Interface Science **200**, 86–94 (1998).
- <sup>26</sup>R. Bonnecaze and M. Cloitre, in *High Solid Dispersions*, Advances in Polymer Science, Vol. 236, edited by M. Cloitre (Springer Berlin / Heidelberg, 2010) pp. 117–161.
- <sup>27</sup>N. Lassoued, J. Delarue, B. Launay, and C. Michon, Journal of Cereal Science **48**, 133–143 (2008).
- <sup>28</sup>M. Jekle and T. Becker, Food Research International **44**, 984–991 (2011).



## Contribution à l'étude de systèmes divisés alimentaires par observation de microstructures au cours de traitements thermo-mécaniques

**Résumé :** Pour mettre en relation les propriétés rhéologiques et la structure méso/microscopique d'un système modèle ou complexe, l'utilisation de la rhéo-optique est indispensable. Nous avons donc développé une cellule d'observation sous cisaillement adaptée à la microscopie confocale. Ce dispositif, breveté et nommé RheOptiCAD<sup>®</sup>, permet le cisaillement contrôlé d'un échantillon quelconque placé entre 2 plans parallèles en translation. Grâce à un système à dépression, la mise en place de l'échantillon est simple et rapide tout en assurant des propriétés optiques répétables et reproductibles (planéité, parallélisme). Par ailleurs, la température au sein de l'échantillon peut être régulée de façon à imposer une contrainte thermique, cause de nombreuses modifications de la mésostructure d'un système alimentaire. La cellule d'observation sous cisaillement permet donc de suivre l'évolution et la dynamique des changements de structures conséquences d'un traitement thermo-mécanique imposé. Un logiciel de pilotage et d'acquisition des données a été développé pour rendre son utilisation plus conviviale. La validation du fonctionnement de l'outil et de ses fonctionnalités a tout d'abord été réalisée sans échantillon puis à l'aide d'un système modèle contenant des particules fluorescentes dont le mouvement était suivi. Par la suite, dans le but de tester les potentialités de ce nouvel outil tout en développant la méthodologie de son utilisation, et en particulier l'équilibre entre propriétés optiques et mécaniques des échantillons, nous avons travaillé avec de la pâte de farine. Ce système alimentaire bien connu et maîtrisé d'un point de vue rhéologique au laboratoire présente des caractéristiques intéressantes dans ce cadre. L'évolution du réseau de gluten au cours d'un cisaillement oscillatoire en fonction de la formulation de la pâte a été étudiée. Grâce à une analyse d'image basée sur la morphologie mathématique, nous avons pu mettre en évidence des changements de structures au cours du temps. De même, à l'aide des capacités thermiques de la cellule de cisaillement, nous avons étudié le positionnement et le mouvement des lipides endogènes à l'interface air-protéine lors de la fermentation. Notre cellule d'observation sous cisaillement constitue donc un nouvel outil de caractérisation dynamique de systèmes complexes couplant rhéologie et microscopie. Son optimisation principale réside dans la mise en place d'un capteur de force, mesurant les contraintes mises en jeu lors des déformations imposées.

**Mots clés :** Rhéo-optique, instrumentation, microscopie confocale, systèmes complexes, pâte à pain, analyse d'image

## Contribution to the study of complex food systems using microstructures observations under thermo-mechanical treatments

**Abstract:** Rheo-optic is a recent technique which can be used to create links between rheological properties and meso/microstructures of model or complex (food) systems. A novel rheo-optical shearing device was designed for studying this relationships within complex food systems. The device has been build to be adapted on an inverted confocal microscope. Specifications of the shear cell are: a) a controlled translational shear between 2 parallel plates with three different motion modes (continuous, oscillatory, strain jump); b) a thermal control; and c) an observation on an inverted confocal microscope. Due to a vacuum system, the set up of an experiment is easy and fast ensuring reproducible optical properties (planarity, parallelism). Temperature, responsible of numerous modifications of structures in a food matrix, is also controlled. A piloting software allows an easy use of the shear cell. Validation of the motion modes has been carried out using a microgel, containing fluorescent probes (spheres) and tracking some of the particles. Next, in order to test and develop methods of observation under shear, taking into account the optical-mechanical balance, bread dough observation has been performed. Well known and described in the lab, bread dough is a dispersion of air bubbles and starch granules in a gluten network. Evolution on this gluten network depending on the formulation of the bread dough has been studied under oscillatory shearing. The composition effect on the microstructure and its evolution were observed and will be commented. Image analysis based on grayscale mathematical morphology has been carried out in order to try to quantify the rheological properties and microstructures. Finally, by a controlled increase of temperature, the growth of an air bubble in bread dough containing yeast was followed during proofing. The influence and the disposition of fat globules at the bubble air-protein interface along this growing process were followed. Thanks to the rheo-optical device, images of microstructures obtained under controlled shear are compared to their rheological behaviour.

**Keywords:** Rheo-optic, device design, confocal microscopy, complex systems, bread dough, image analysis

