

De Onderzoeksgroep

Industriële Microbiologie en Voedingsbiotechnologie (IMDO)

nodigt U graag uit op de openbare verdediging van het proefschrift van

MSc. Cristian Díaz Muñoz

ter behaling van de graad van Doctor in de Bio-ingenieurswetenschappen

Omicamethoden om startercultuur-geïnitieerde cacaofermentatieprocessen op te volgen

Promotoren:

Prof. Dr. ir. Luc De Vuyst

Prof. Dr. Stefan Weckx

De verdediging heeft plaats op

vrijdag 14 april 2023 om 17.00 h

in auditorium D.2.01 op de Campus Humanities, Sciences and Engineering van de Vrije Universiteit Brussel, Pleinlaan 2, 1050 Elsene

en zal worden gevolgd door een receptie.

Samenstelling van de jury

Prof. Dr. ir. Wim VERSÉES (VUB, voorzitter)

Prof. Dr. ir. Geert ANGENON (VUB, secretaris)

Prof. Dr. Kim ROELANTS (VUB)

Prof. Dr. Peter VANDAMME (UGent)

Dr. Zoi PAPALEXANDRATOU (ZOTO bv)

Dr. Cécile NEUVÉGLISE (INRAE, Montpellier, Frankrijk)

Curriculum vitae

Cristian Díaz Muñoz werd geboren te Vilanova i la Geltrú, Spanje, in 1993. Hij behaalde zijn Bachelordiploma in de Biochemie aan de Universidad de Córdoba (Córdoba, Spanje) in 2015 en zijn Mastersdiploma in de Gezondheidsbiotechnologie aan de Universidad Pablo de Olavide (Sevilla, Spanje) in 2017. In 2018 begon hij zijn doctoraatstudie aan de onderzoeksgroep Industriële Microbiologie en Voedingsbiotechnologie van de Vrije Universiteit Brussel. Zijn onderzoek was voornamelijk gericht op het evalueren van de invloed van kandidaat-giststarterculturen op cacaofermentatieprocessen door middel van (meta)genomica in combinatie met hagedoorvoer-metabolomica. Hij is eerste auteur van vier publicaties in peer-reviewed internationale tijdschriften. Hij begeleidde drie MSc-studenten, woonde tien internationale wetenschappelijke conferenties bij (zeven hiervan virtueel en drie in persoon), en gaf drie mondelinge presentaties op (inter)nationale conferenties en symposia.

Abstract van het doctoraatsonderzoek

De kwaliteit van chocolade wordt bepaald door verschillende factoren, zoals de cacaofoonvariëteit, de behandeling van de bonen na het oogsten en de bereidingswijze van de chocolade. Chocoladeproducenten hebben elk hun eigen gestandaardiseerde receptuur en willen ook meer controle krijgen over de herkomst van de cacaobonen die ze verwerken. De naoogstbehandeling van cacaobonen is echter nog steeds een traditioneel proces, afhankelijk van lokale gebruiken. De laatste decennia werd de invloed van diverse starterculturen onderzocht op de microbiële samenstelling en dynamica tijdens het fermentatieproces en de uiteindelijke kwaliteit van de bonen na fermentatie.

Om het effect te onderzoeken van geselecteerde kandidaat-giststarterculturen op cacaofermentatie en de eigenschappen van de finale chocolade werden twee veldexperimenten uitgevoerd in Costa Rica. De giststam *Saccharomyces cerevisiae* IMDO 050523 werd gebruikt als positieve controle en kon het fermentatieproces versnellen met telkens goed gefermenteerde cacaobonen als resultaat. Deze resultaten bevestigden de bevindingen uit eerder onderzoek. Daarnaast werden ook twee niet-*Saccharomyces* giststammen met cacaoherkomst getest, hetgeen resulteerde in wisselende effecten op de kwaliteit en het smaakprofiel van de finale cacaobonen. De combinatie van *Pichia kudriavzevii*-stammen met *S. cerevisiae* IMDO 050523 zorgde voor een mooie balans tussen een snelle fermentatie en de productie van een waaier aan volatiele organische verbindingen. Anderzijds leidde geen enkele *Hanseniaspora opuntiae*-stam tot een succesvolle cacaofermentatie.

Tijdens deze veldexperimenten werd de invloed van verschillende starterculturen op de cacaofermentatie eerst opgevolgd *via* een amplicongebaseerde sequenceringsmethode en vervolgens ook met een metagenomische aanpak. Op deze manier konden de starterculturen zeer nauwkeurig worden opgevolgd tijdens het fermentatieproces, hetgeen het mogelijk maakte om de microbiële samenstelling van spontane en startercultuur-geïnitieerde cacaofermentatieprocessen van elkaar te onderscheiden. Ten slotte werden de volledige genoomsequenties van de verschillende giststammen die deel uitmaakten van de starterculturen ontrafeld. De giststam die gebruikt werd als positieve controle werd vergeleken met andere gedomesticeerde en wilde *S. cerevisiae*-cacaostammen. Hieruit bleek dat *S. cerevisiae*-stammen afkomstig van cacao in een bepaalde mate genetisch aangepast waren aan de fermenterende cacaomatrix en dat stammen van eenzelfde geografische oorsprong genetisch ook meer verwant waren. De reconstructie van telomeer-tot-telomeer genomen liet toe om de genomische architectuur van minder bekende cacaogisten, zoals *P. kudriavzevii* en in het bijzonder *H. opuntiae*, te ontrafelen. Zo werd getracht om verbanden te leggen tussen de fenotypische data en de genetische aanleg van deze giststammen. Dit legde verschillen in hun metabolische mogelijkheden bloot, hetgeen hun prestaties tijdens cacaofermentatieprocessen kon helpen verklaren.