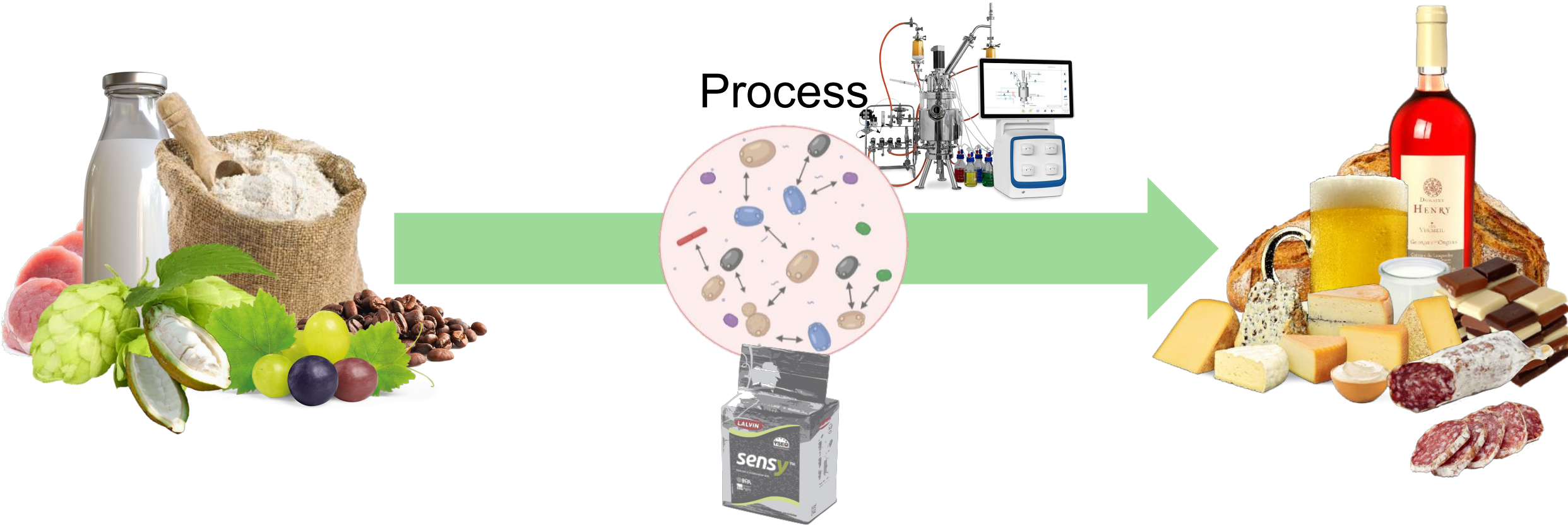


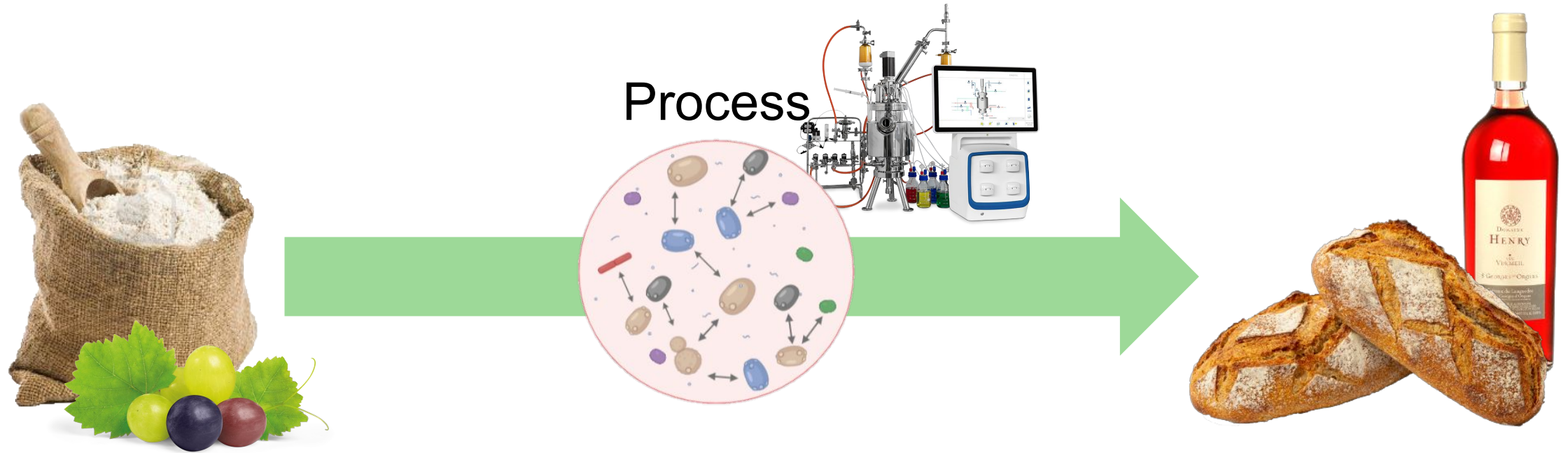
Vin, pain, levures et machine learning

Thibault
Nidelet

Fermentation & aliments fermentés



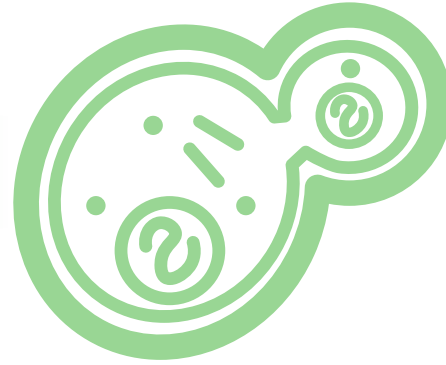
Du vin et du pain !



Du vin !



Sucres
Azotes



Biomasse

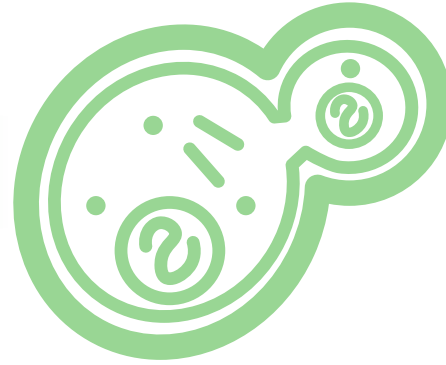


Ethanol
CO₂
Arômes

Du vin !



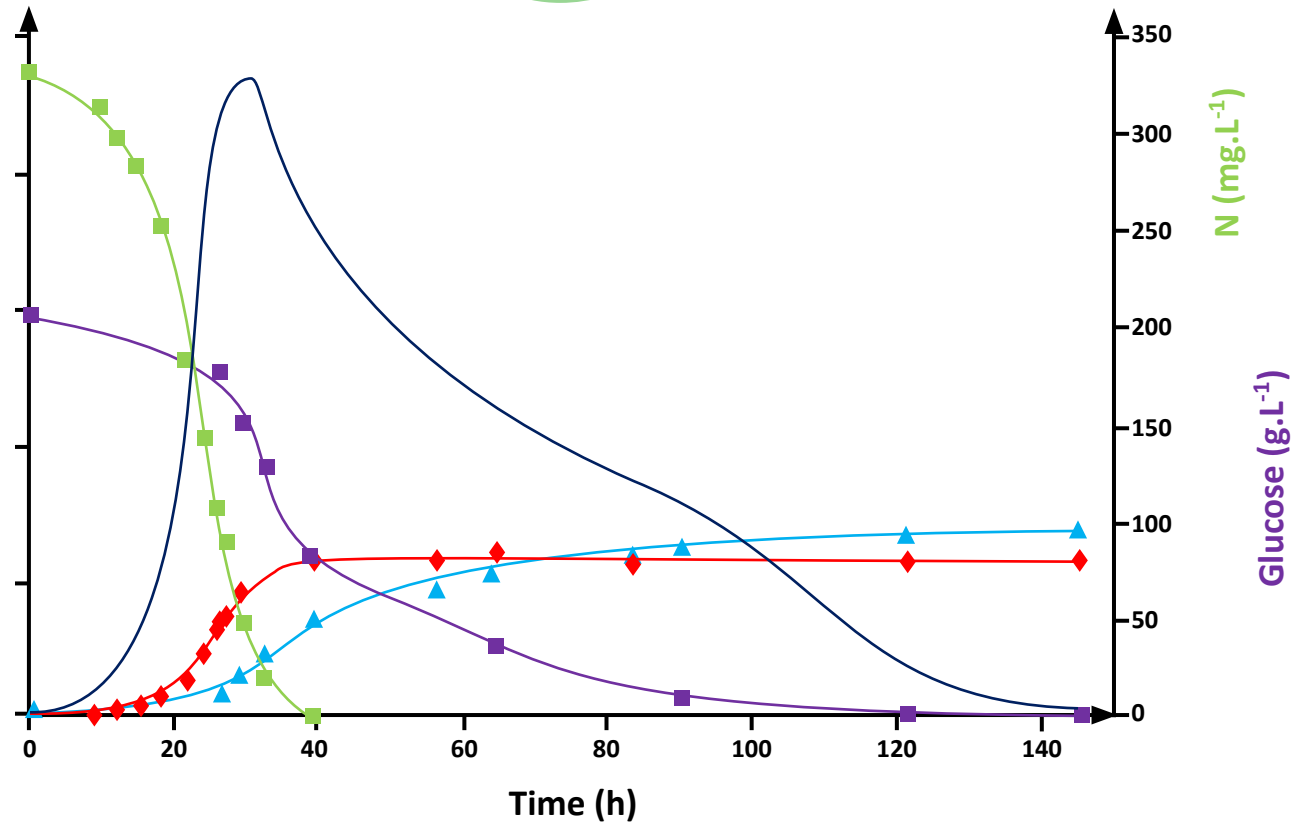
Sucres
Azotes



Biomasse



Ethanol
CO₂
Arômes



Du vin !



Sucres
Azotes



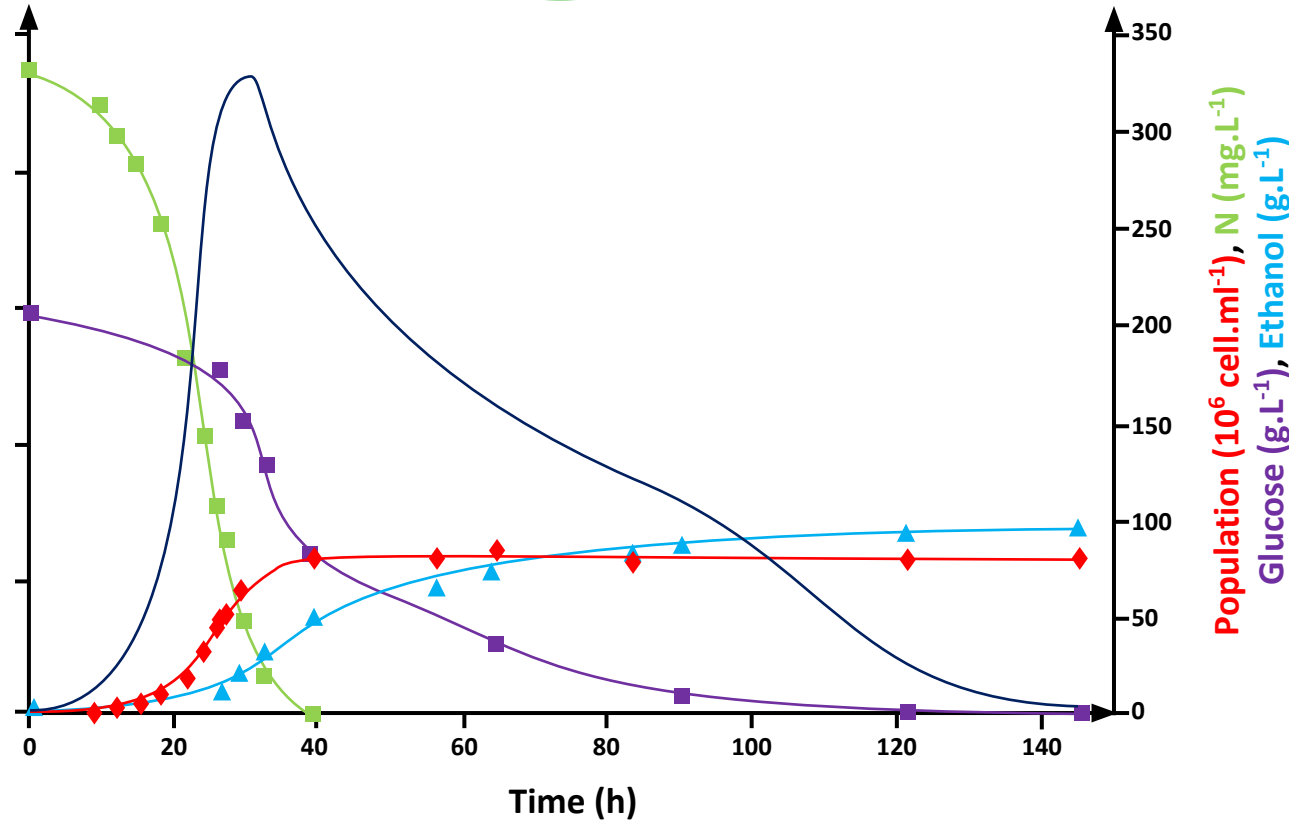
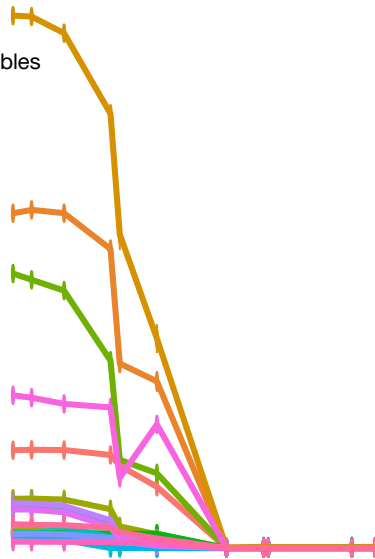
Biomasse



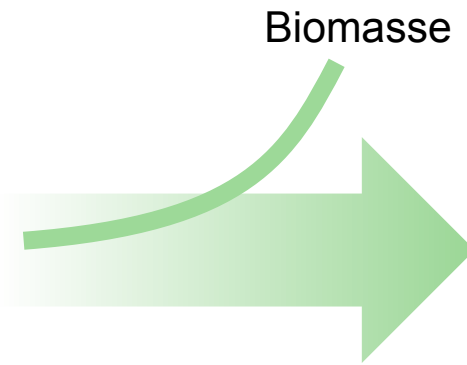
Ethanol
CO₂
Arômes

Sources d'azote assimilables

- Alani
- Ammon
- Argini
- Aspart
- Citram
- Citram
- Cycki
- Glutami
- Gluc
- Inos
- Leuc
- Met
- Methio
- Phenylala
- Ser
- Threoni
- Tryptoph
- Tyrosi
- Val
- e

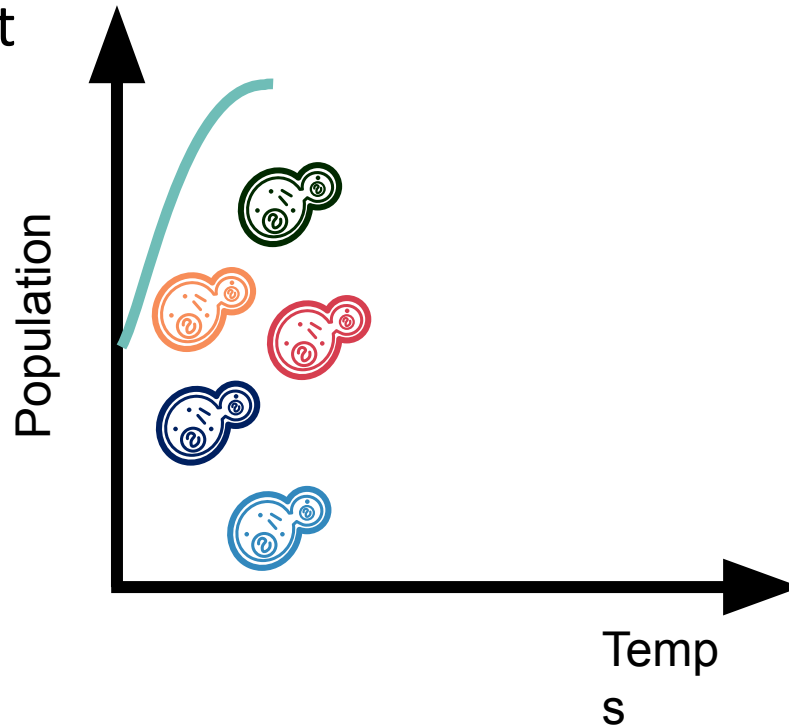


La dynamique microbienne



Importante diversité dans le moût en début de fermentation

- *H. uvarum*
- *M. pulcherrima*,
- *Torulaspora delbruecki*,
- *Starmerella bacillaris*,
- *Lachancea thermotolerans*,
- *etc.*



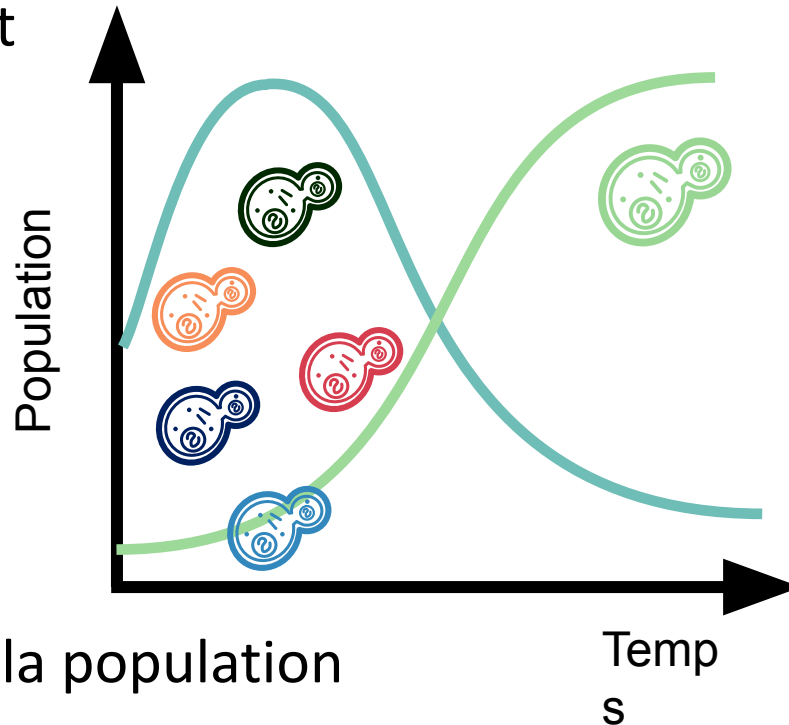
— Non-Saccharomyces

La dynamique microbienne



Importante diversité dans le moût en début de fermentation

- *H. uvarum*
- *M. pulcherrima*,
- *Torulaspora delbrueckii*,
- *Starmerella bacillaris*,
- *Lachancea thermotolerans*,
- etc.



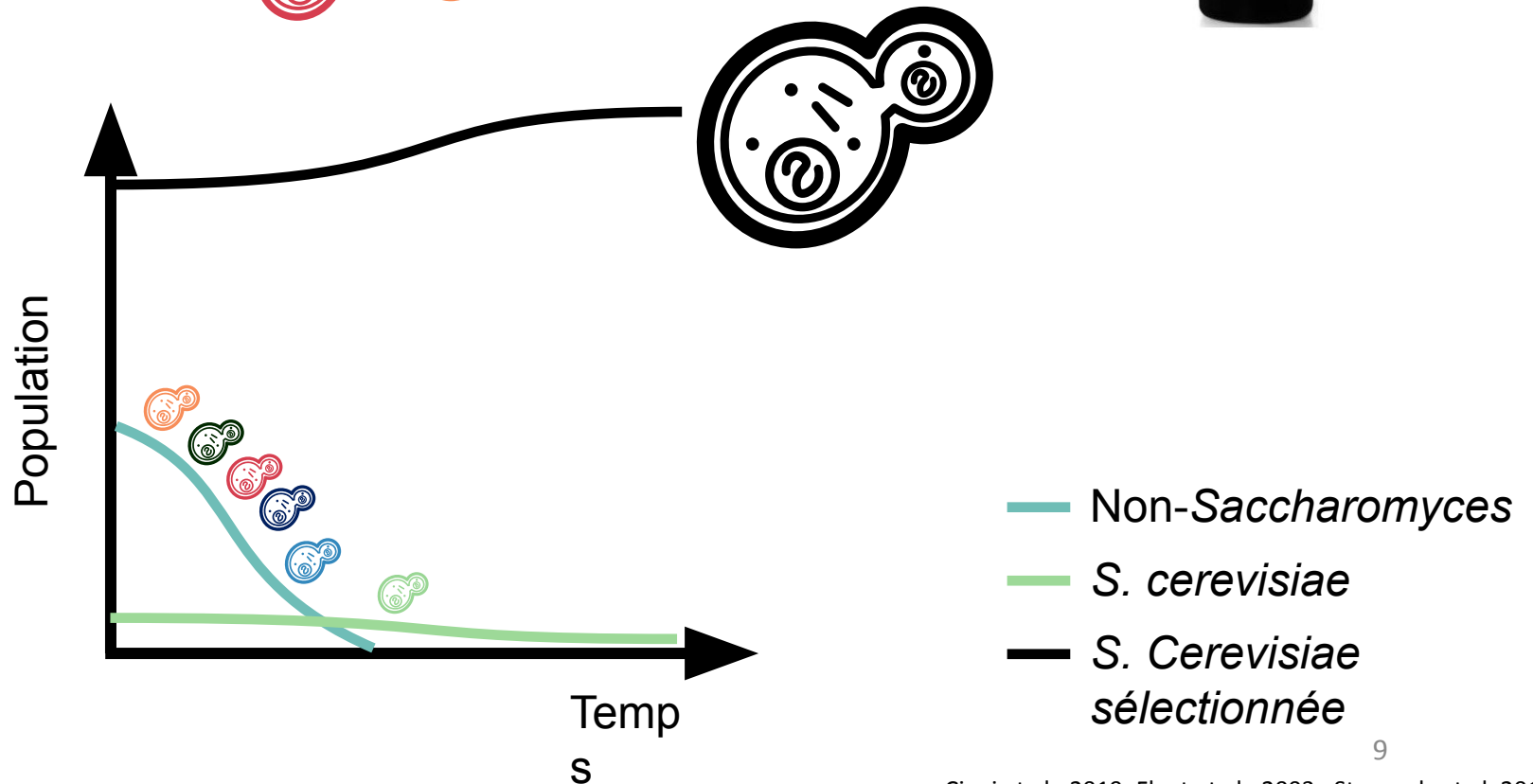
— Non-Saccharomyces
— *S. cerevisiae*

Rapidement *S. cerevisiae* envahit la population

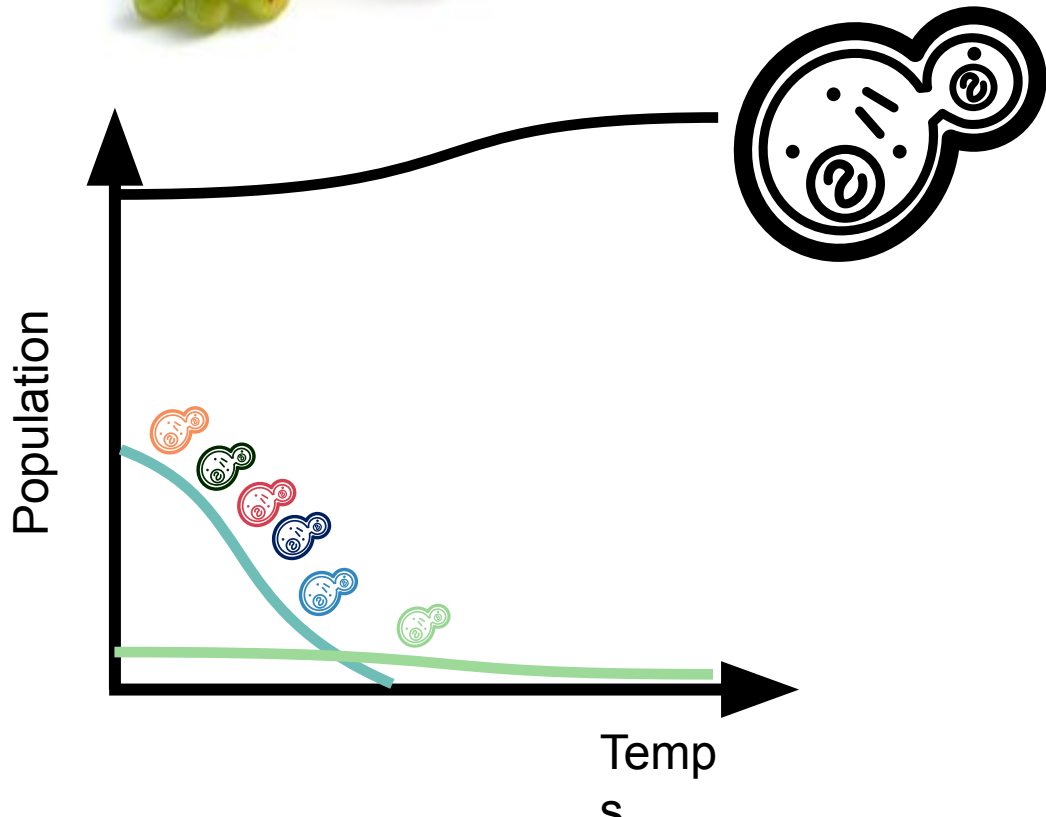
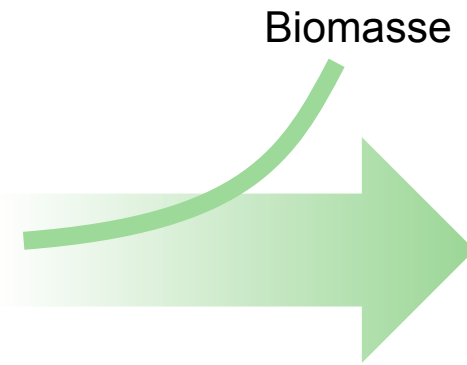
La dynamique microbienne



Dans environ **80% des cas** on ajoute à t_0 un **starter** de fermentation composé très majoritairement d'une levure ***S. cerevisiae***...



La dynamique microbienne

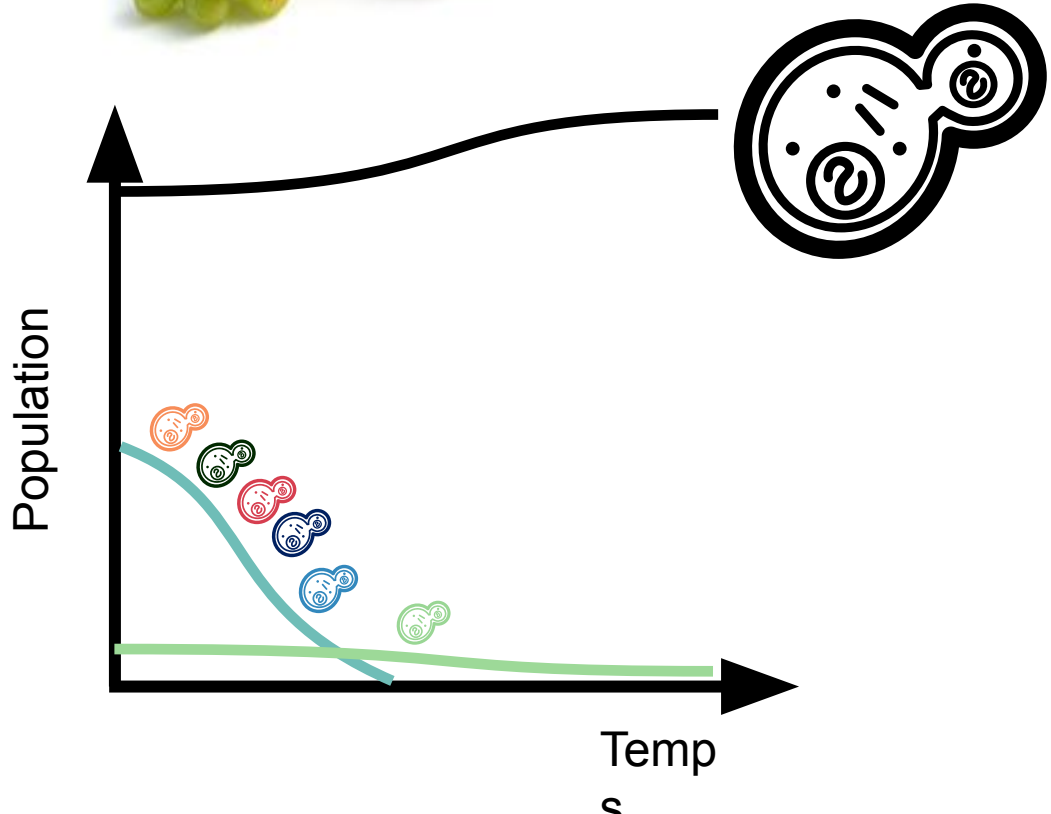
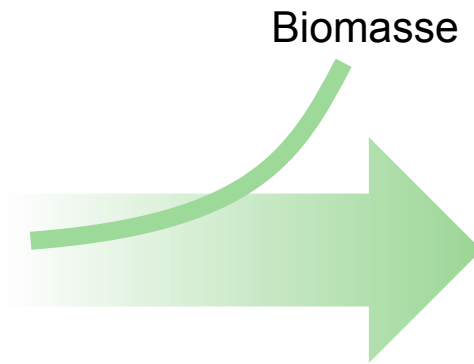


Cette approche a des limites :

standardisation des vins

Limites physiologiques de *S. cerevisiae*

La dynamique microbienne



Cette approche a des limites :

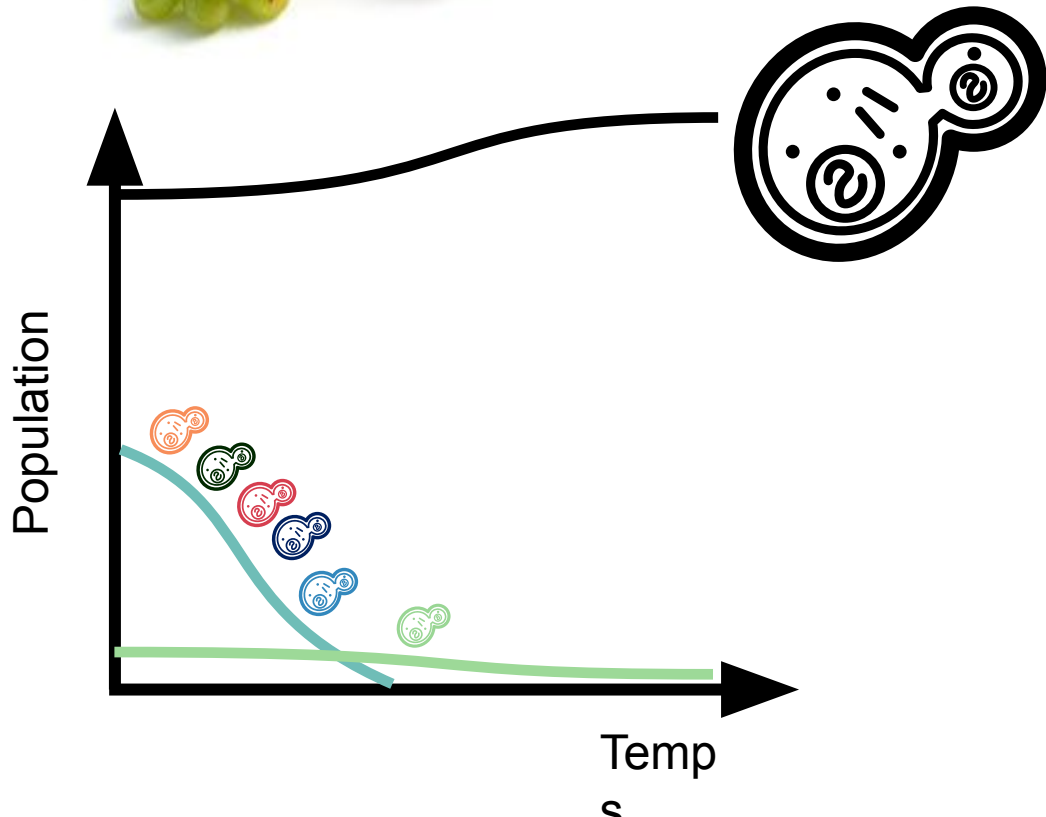
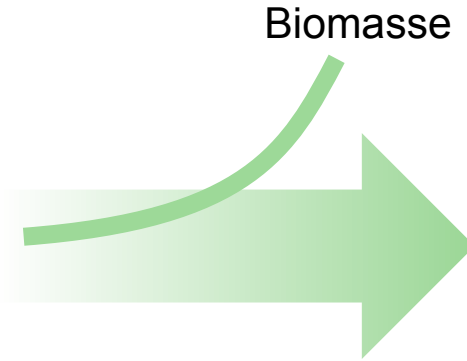
standardisation des vins

Limites physiologiques de *S. cerevisiae*

starters multi-souches



La dynamique microbienne



Cette approche a des limites :

standardisation des vins

Limites physiologiques de *S. cerevisiae*

starters multi-souches



Quel est la paire de levures qui présente une performance meilleure que la meilleur mono-culture correspondante ?

La conception d'un starter multi-souches

Tester des combinaisons

- Tester 3 espèces (A, B et C) :
 - A & B
 - B & C
 - C & D
 - A, B et C
- Tester 3 proportions : 50/50, 10/90, 90/10
- Tester 3 scénarios d'inoculations :
 - Simultanée
 - 2ème espèce après 24h ou
 - après 72h
- 3 replicats
- Total = **162 fermentations**

La conception d'un starter multi-souches

Tester des combinaisons

- Tester 3 espèces (A, B et C) :
 - A & B
 - B & C
 - C & D
 - A, B et C
- Tester 3 proportions : 50/50, 10/90, 90/10
- Tester 3 scénarios d'inoculations :
 - Simultanée
 - 2ème espèce après 24h ou
 - après 72h
- 3 replicats
- Total = **162 fermentations**



La conception d'un starter multi-souches

Tester des combinaisons

- Tester 3 espèces
- Tester 3 proportions
- Tester 3 scénarios d'inoculations
- 3 replicats
- Total = **162 fermentations**



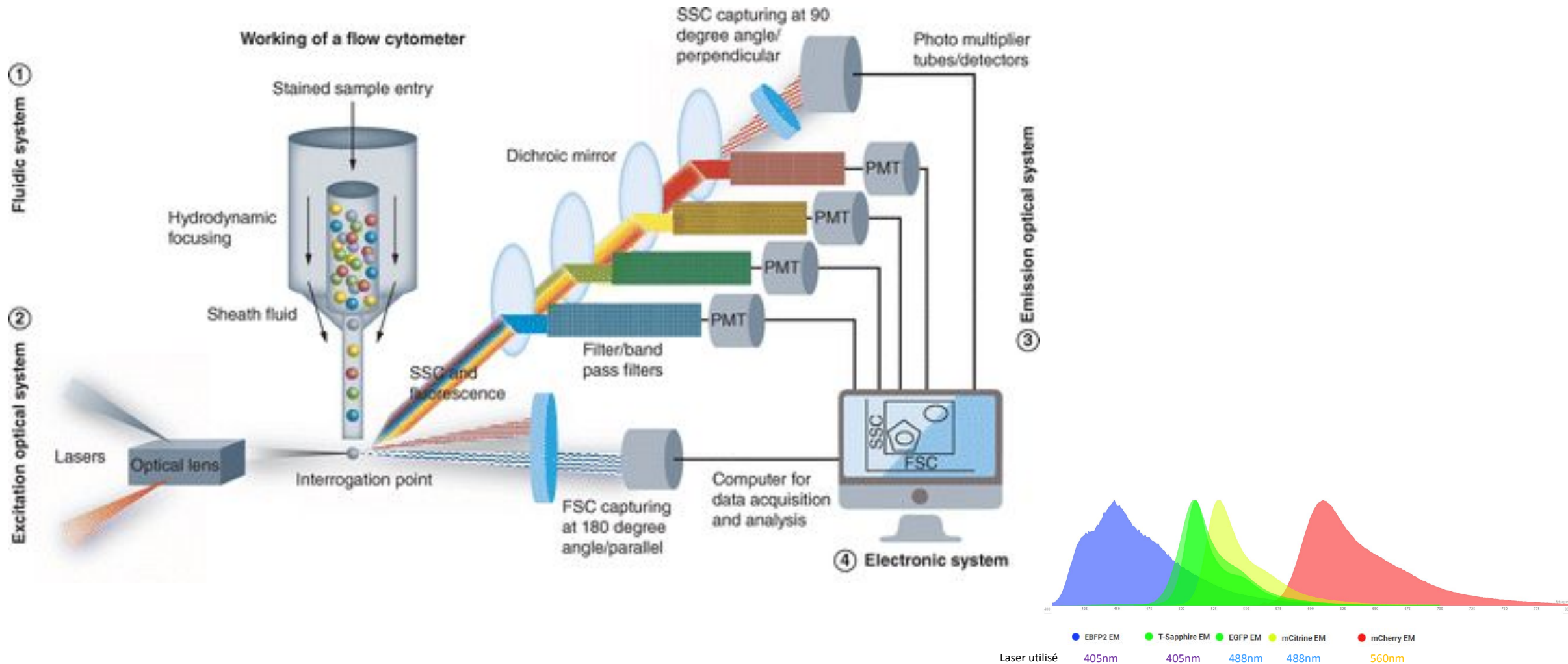
Avec 5 espèces/souches on passe à 405 fermentations



Il y a un enjeu majeur à prédire la **qualité finale** du produit fermenté à partir des **conditions initiales**

Comment suivre la composition microbienne ?

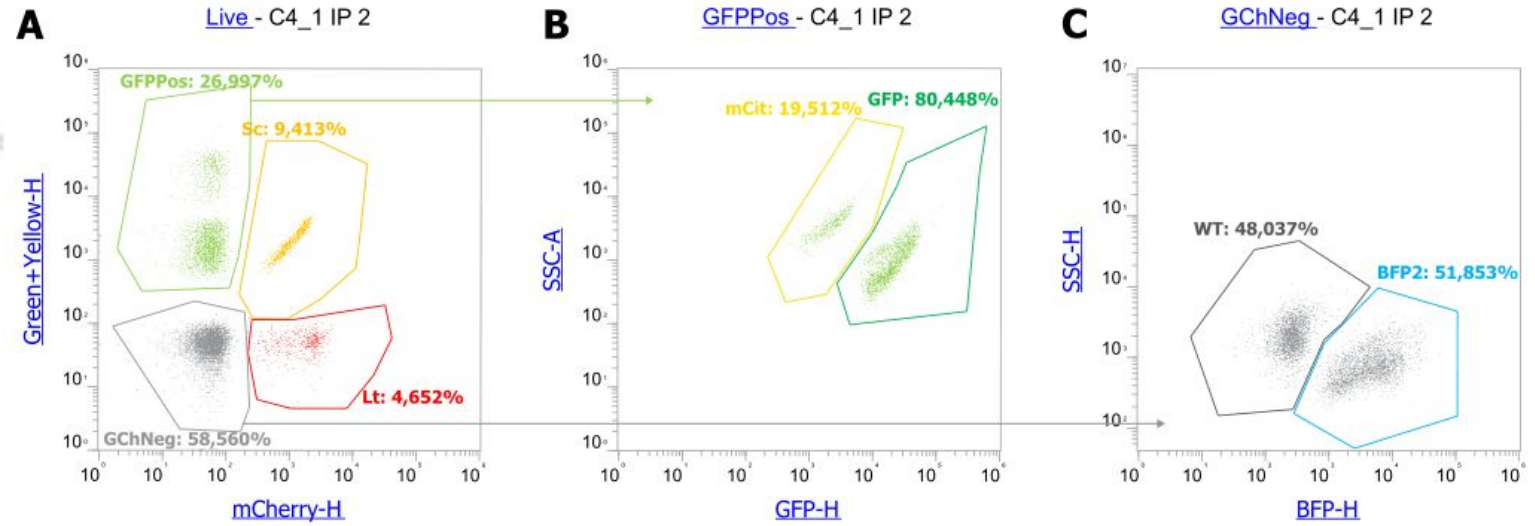
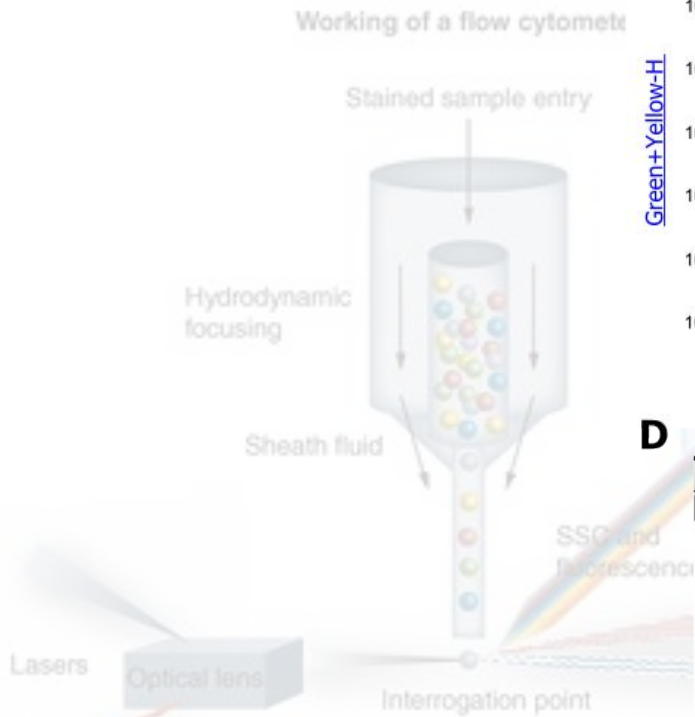
La cytométrie en flux



La cytométrie en flux

① Fluidic system

② Excitation optical system



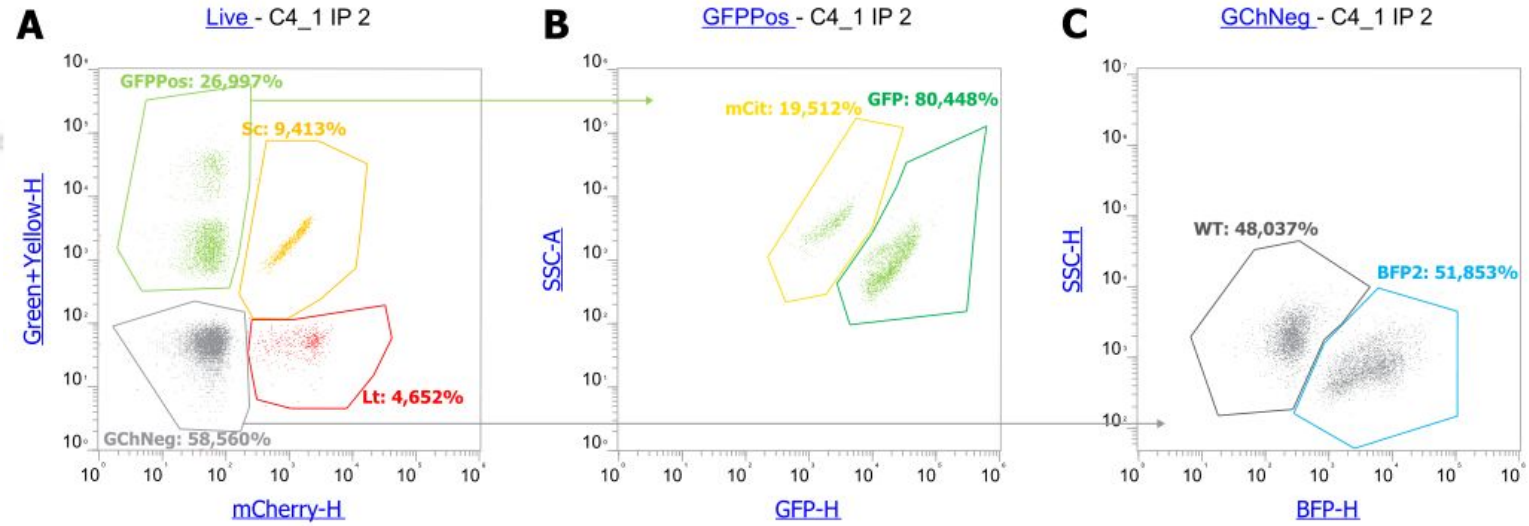
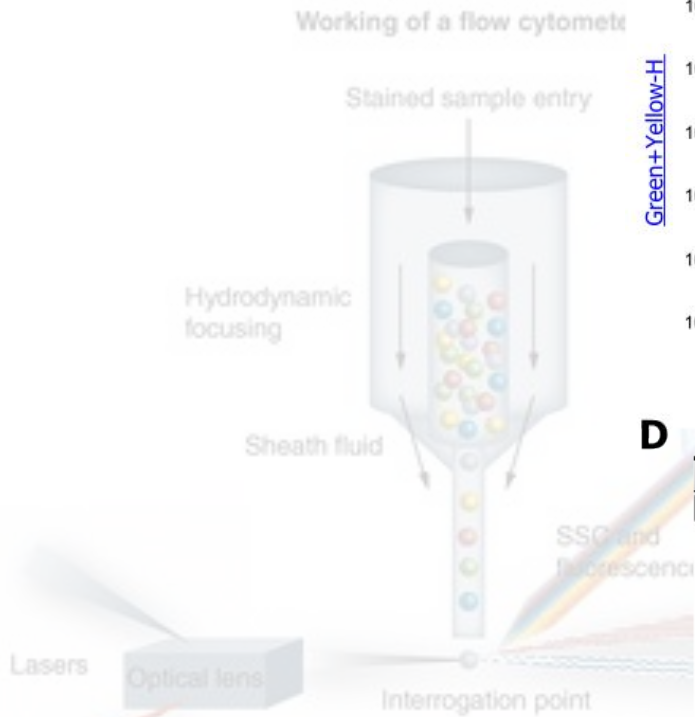
D

Name	Gate	X Parameter	Y Parameter	%Total
All Events	All Events	N/A	N/A	100,000
Yeast	Yeast	FSC-A	SSC-A	99,760
R1	R1	SSC-H	SSC-A	98,652
Live	Live	BL3-H	SSC-A	96,823
Sc	Sc	YL2-H	BL1-H	9,114
Lt	Lt	YL2-H	BL1-H	4,505
GChNeg	GChNeg	YL2-H	BL1-H	56,699
BFP2	BFP2	VL1-H	SSC-H	29,400
WT	WT	VL1-H	SSC-H	27,237
GFPPos	GFPPos	YL2-H	BL1-H	26,139
mCit	mCit	VL2-H	SSC-A	5,100
GFP	GFP	VL2-H	SSC-A	21,028
Dead	Dead	BL3-H	SSC-A	1,683

La cytométrie en flux

① Fluidic system

② Excitation optical system



D

Name	Gate	X Parameter	Y Parameter	%Total
All Events	All Events	N/A	N/A	100,000
Yeast	Yeast	FSC-A	SSC-A	99,760
R1	R1	SSC-H	SSC-A	98,652
Live	Live	BL3-H	SSC-A	96,823
Sc	Sc	YL2-H	BL1-H	9,114
Lt	Lt	YL2-H	BL1-H	4,505
GChNeg	GChNeg	YL2-H	BL1-H	56,699
BFP2	BFP2	VL1-H	SSC-H	29,400
WT	WT	VL1-H	SSC-H	27,237
GFPPos	GFPPos	YL2-H	BL1-H	26,139
mCit	mCit	VL2-H	SSC-A	5,100
GFP	GFP	VL2-H	SSC-A	21,028
Dead	Dead	BL3-H	SSC-A	1,683

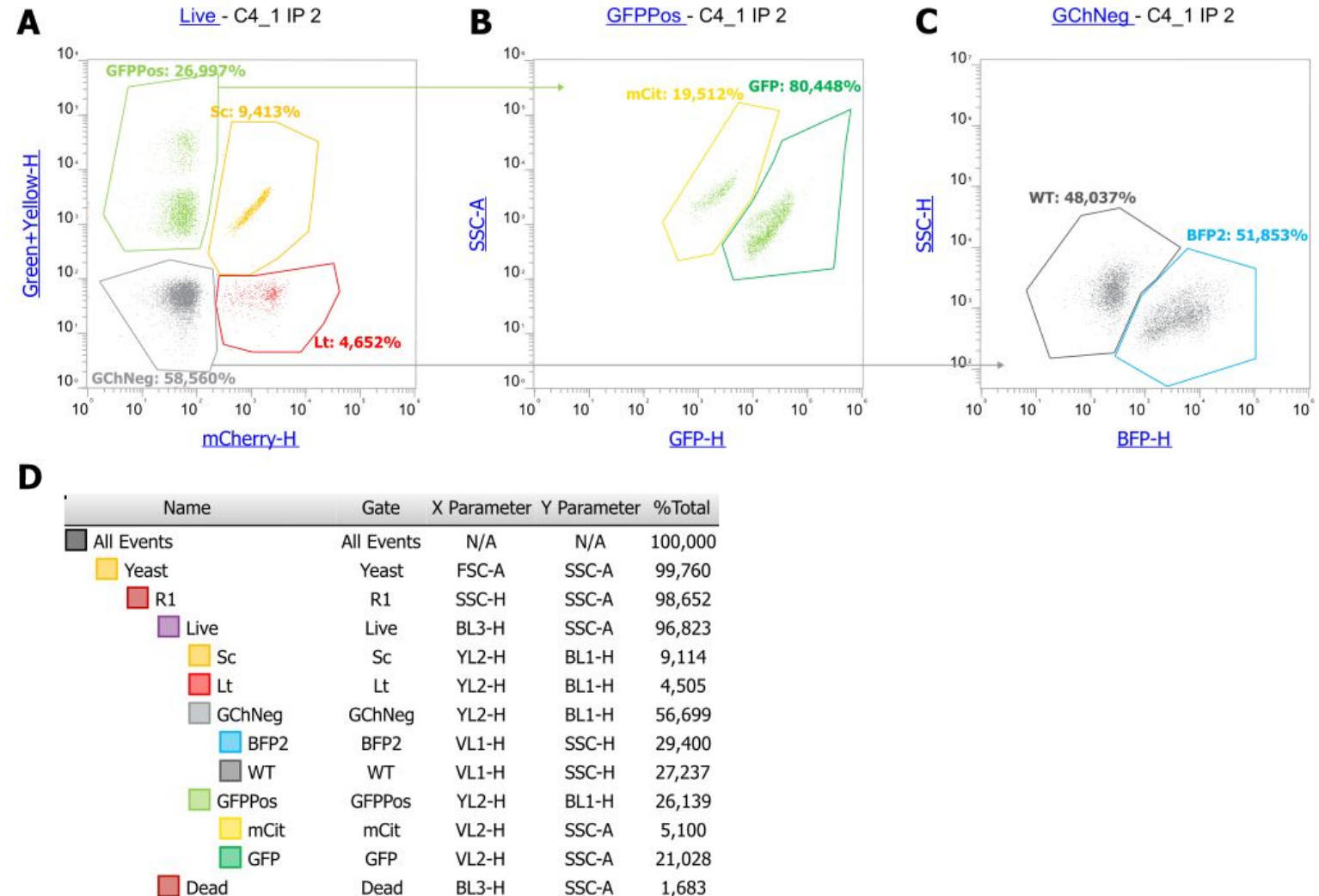
Des fenêtres créées à la main

De “gros” jeux de données

- Par échantillon
 - 50 000 événements
 - Douzaine de variables

- Au cours de la fermentation les nuages ce superposent

- Concevoir une fonction d’attribution
 - Random-forest
 - Boosting





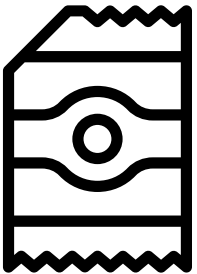
Du pain !



+



+



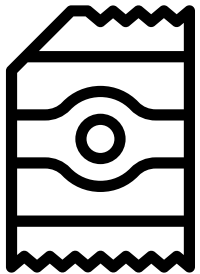
Du pain !



+



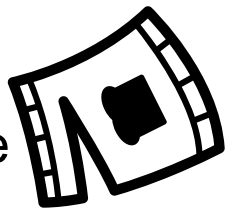
+



Levain



Levure



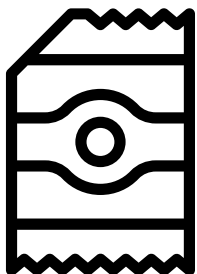
Du pain !



+



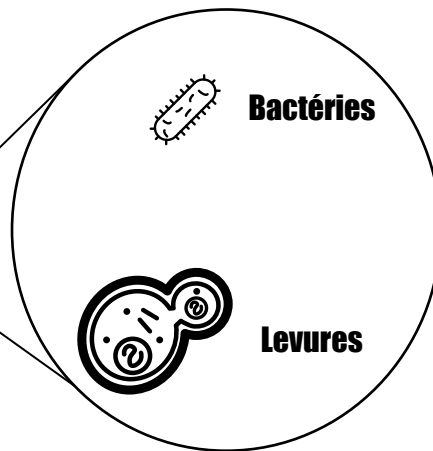
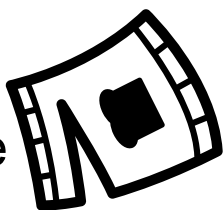
+



Levain



Levure



Colonisation naturelle pas les
micro-organismes de
l'environnement



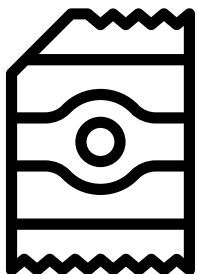
Du pain !



+



+



Levain



Rafraîchis



Du pain !



maltose



glucose



CO₂

arômes



Du pain !



maltose



glucose



CO₂

arômes



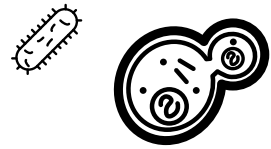
acidification



Du pain !



maltose



glucose



CO₂

arômes

starters multi-souches





Du pain !



maltose



glucose



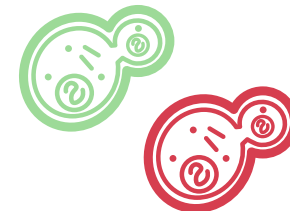
CO₂

arômes

starters multi-souches



stabilité



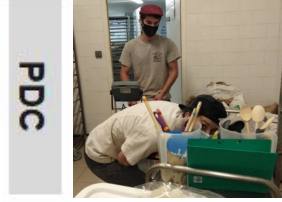
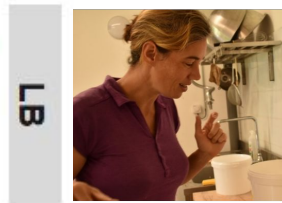
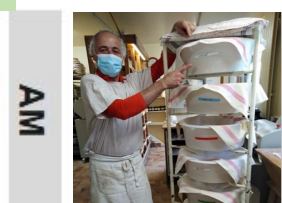
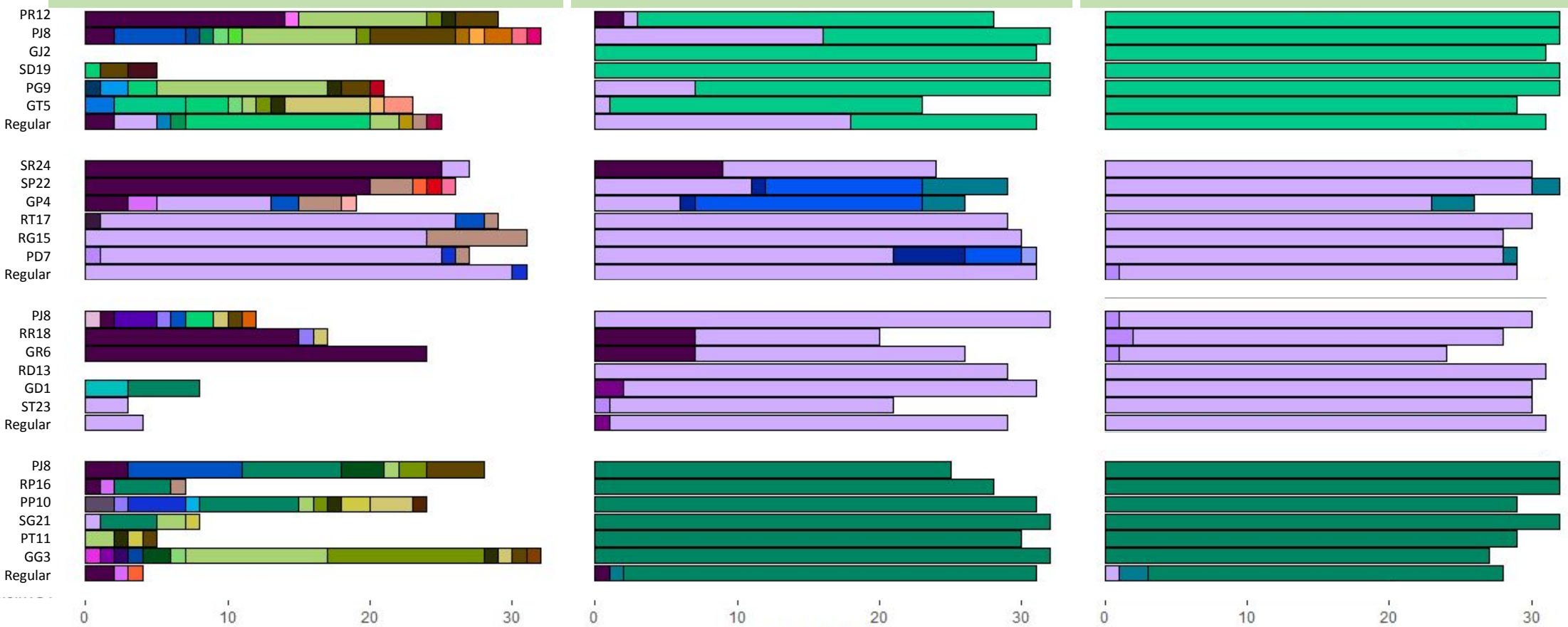
Du pain !



rafraîchi 1

rafraîchi 5

rafraîchi 32



AM

LB

MB

PDC

Nombre d'espèces

Pour conclure

- Ambition de développer des starters multi-souches
 - Vin : levures-levures
 - Pain : levures-bactéries
- Développer des outils performants pour faire le lien entre diversité microbienne et fonctionnalité de l'écosystème
- Cytométrie en flux - Data paper est en préparation (Zénodo)
 - Doctorat d'Éléonore Pourcelot
 - 6 espèces différentes marquées avec des fluorochromes spécifiques
 - En mono-culture et en mélange
 - Différents points dans le temps

Pour conclure

- Ambition de développer des starters multi-souches
 - Vin : levures-levures (ce qui complique les modèles de flux)
 - Pain : levures-bactéries
- Développer des outils performants pour faire le lien entre diversité microbienne et fonctionnalité de l'écosystème
- Cytométrie en flux - Data paper est en préparation (Zénodo)
- Prédire le point final à partir du point initial
 - Choisir les meilleures espèces/souches à combiner
 - Choisir le protocole de mélange

Merci !!