

## Acetaldehyde and lactate production after long term freezing for three thermophilic wild streptococcus thermophilus strains: evaluation in single culture

### Evaluation des potentialites enzymatiques d'aromatisation et d'acidification des souches lactiques autochtones: *Streptococcus Thermophilus*, en culture pure, apres une longue duree de cryoconservation

A. MERIBAI<sup>1,2\*</sup>, A. DIAFET<sup>1</sup>, A. BACHENE,<sup>1</sup>A. BAHLOUL<sup>1</sup>, M. OUARKOUB<sup>1</sup>, S. NAAMI<sup>1</sup>, A.A. MADACI<sup>1</sup>, A. BENSOLTANE <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Characterization and Natural Resources Valorisation Laboratory (L.C.V.R) SNV-TU Faculty - Bordj Bou Arreridj University (34000) - Algeria.

<sup>2</sup> Food and Industrial Microbiology Laboratory– Biological Sciences Faculty Oran1 University (31000) - Algeria.

\*Corresponding author: hic.mer71@gmail.com

**Abstract** - *Streptococcus thermophilus* is a homofermentative thermophilic lactic species, the most widely used in milk process and dairy technology, such as fermented milks, beverages, yoghurts and cheeses. It is the only urease positive, lactate and flavor compounds (acetaldehyde) production responsible. Acetaldehyde is the main aroma in yoghurts, produced from lactose, glucose, pyruvate converted from threonine and methionine. However, biosynthetic pathways and their regulation are not elucidated. By their resistance to bacteriophages attack, these species are used also in cheeses ripening. However, in all milk technological process, species are used only in mixed culture, associated with thermophilic lactic strain such as *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus* and *Bifidobacterium sp*, where synergies phenomenon were observed, never in single culture. The study aimed to assess technological behavior of wild *Streptococcus thermophilus* strains isolated from Algerian raw milk in single culture. Strains belonging to *Streptococcus thermophilus* species were isolated, selected from Algerian raw milk using MRS and M17 medium, their technological skills of lactate and acetaldehyde production kinetics were explored. From all samples collected, three isolated lactic strains were selected as having unusual technological performance ST<sub>1</sub>, ST<sub>2</sub> and ST<sub>3</sub>, milk acidification (°D\* Dornic degree) were respectively 70°D and 74°D and 69°D, flavoring power of reconstituted skim milk (in ppm: parts per million) was 0.09 ppm for ST<sub>1</sub>, 0.07 ppm for ST<sub>2</sub>, and 0.04 ppm for the strain ST<sub>3</sub>.

**Keywords:** *Streptococcus thermophilus*; Wild strains ; Selection ; Acetaldehyd ; Lacticacid

**Résumé** - *Streptococcus thermophilus* est l'une des espèces homofermentaires les plus utilisées en industrie laitière, comme starter des processus technologiques thermophiles dans la production des laits fermentés, boissons lactées acidifiées, yaourts et certains fromages à pâte dure. Elle est la seule espèce lactique thermophile, uréase positive, assurant l'acidification et l'aromatisation rapide du lait. L'acétaldéhyde, est l'arôme principal, responsable du goût caractéristique des yaourts, de certains laits fermentés et des fromages, produit à partir du lactose, du glucose et du pyruvate. Chez l'espèce *S. thermophilus*, l'acétaldéhyde est aussi produit à partir de la thréonine et de la méthionine. Les voies biochimiques de conversion enzymatiques des deux acides aminés et leur régulation sont peu élucidées, et sujets à des controverses. Ayant une résistance innée aux attaques des bactériophages, l'espèce *S. thermophilus* est utilisée dans la fabrication et la maturation des fromages à pâte cuite. Cependant, dans ces processus technologiques, l'espèce n'est utilisée qu'en culture mixte, jamais en culture pure,



associée à d'autres espèces thermophiles à l'exemple de *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus* et *Bifidobacterium Sp* où des phénomènes synergétiques sont observés.

L'objectif de l'étude est l'exploration du comportement technologique, en culture pure, des souches (indigènes) de *Streptococcus thermophilus*, isolées, caractérisées et sélectionnées à partir du lait cru d'Algérie, leurs aptitudes technologiques d'acidification (production de lactate en °D\* :degré Dornic) et d'aromatisation (production d'acétaldéhyde en ppm\* :partie par million) sur milieu restreint de fermentation; le lait écrémé est reconstitué à 10% W/V, à un intervalle d'incubation de 24h à 42 °C, après une longue durée de cryoconservation. Les résultats ont donné trois souches (indigènes) sélectionnées, par leurs aptitudes d'aromatisation du lait écrémé reconstitué ST1: 0.09, ST2 : 0.07 et ST3 0.04 ppm d'acétaldéhyde. L'acidification par production du lactate en degrés Dornic (°D) était de 70°D (ST1), 74°D (ST2) et 69°D (ST3).

---

**Mots clés:** *Streptococcus thermophilus*, Sélection, Acétaldéhyde, Acidification, Aromatisation.

---

## 1. Introduction

*Streptococcus thermophilus* est l'une des espèces lactiques, homofermentaires, les plus utilisées en industrie laitière (El Sharoud et al, 2013), la seconde après l'espèce *Lactococcus lactis* (Hols et al. 2005). C'est la seule espèce lactique dotée d'uréase (Mora et al. 2004, 2005 ; Zota et al. 2008 ; El- Sharoud et al. 2013), assurant une acidification rapide, par conversion du lactose en lactate (Meribai et al. 2010), la sécrétion d'exopolysaccharides (Wu et al. 2014 ; Mostefaoui et al. 2015), la synthèse de vitamines, dont l'acide folique (Iyer et al. 2010 ; 2010) et la production de composés aromatiques, dont l'acétaldéhyde (Chavez et al. 2003 ; Benaama et al. 2011, 2012). Traditionnellement, l'espèce est utilisée en culture mixte ; en co-culture avec des lactobacilles thermophiles et certaines espèces de *Bifidobacterium sp* (Oliveira et al. 2009 ; Almeida et al. 2009), dans les yaourts, en co-culture avec *Lactobacillus bulgaricus* (Courtin et Rul 2004 ; Angelov et al. 2009), dans certains fromages en co-culture avec *Lactobacillus helveticus* (Bernardeau et al. 2008) et les fromages à pâte cuite à l'exemple de l'Emmental, gruyère et grana, ayant la présomption d'innocuité (GRAS), statut proposé par l'Autorité Européenne de la Sécurité des Aliments (Delorme 2008). L'acétaldéhyde est reconnu comme l'arôme majeur des laits fermentés acidifiés (Ott et al. 2000 ; Valero et al. 2001), des yaourts (Chavez et al. 2002) et de certains fromages (Ott et al. 1997). Il est responsable du goût agréable, fruité, caractéristique des yaourts, hautement désiré par le consommateur (Bongers et al. 2005 ; Ott et al. 1997, 2000). Les voies biochimiques de synthèse de l'acétaldéhyde et leur régulation, chez les bactéries lactiques, semblent souches lactiques dépendantes (Chavez et al, 2002).

Des auteurs, ont rapporté qu'en culture mixte, l'espèce thermophile: *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* est plus productrice d'acétaldéhyde que l'espèce *Streptococcus thermophilus*, (Xanthopoulous et al. 1994 ; Georgala et al. 1995 ; Beshkova et al. 1998), d'autres travaux, ont montré le contraire (Schirch et al. 1985 ; Ott et al. 1997 ; Chavez et al. 2002, 2003). Chez les bactéries lactiques, l'acétaldéhyde, est peut être, formé directement lors de la fermentation du lait, par décarboxylation du pyruvate, sous l'action de la pyruvate décarboxylase, ou indirectement à partir de l'acétyl Co-enzyme A (\*Acétyl CoA), via la pyruvate déshydrogénase et l'aldéhyde déshydrogénase (Chavez et al. 2003 ; Bongers et al. 2005). Chez l'espèce *Streptococcus thermophilus*, l'acétaldéhyde est aussi formé à partir de la thréonine, sous l'action enzymatique de la serine hydroxyméthyle transférase (\*SHMT), par clivage de la thréonine et la formation d'acétaldéhyde et de la glycine (Chavez et al. 2003 ; Benaama et al. 2011, 2012).

La production des composés aromatiques, lors de la fermentation lactique, est un phénomène biochimique complexe, lié aux caractères physiologiques et biochimiques de la souche lactique aromatisante et d'autres facteurs exogènes, à l'exemple du potentiel d'oxydoréduction du milieu de culture (Martin et al. 2011), des conditions de culture et de la composition du milieu de fermentation (Escamilla-Hurtado et al. 2005 ; Baranowska 2006), de la durée et de la température de conservation (Valero et al. 2001), du mode de conservation et de la nature de l'emballage du produit final (Saint-Eve et al. 2008). Chez l'espèce lactique *Streptococcus thermophilus*, l'acétaldéhyde est peut être produit à partir du métabolisme des sucres, des acides aminés, des nucléotides et du métabolisme du pyruvate (Chavez et al. 2002). D'autres facteurs, peuvent influencer la production d'acétaldéhyde, à l'exemple du traitement thermique (chauffage) préalable du lait (Lorenzen et al. 2003), du temps et de la température de fermentation, et du choc thermique exercé sur les levains starters thermophiles (Ozer

and Ataso 2002). Les voies métaboliques de dégradation des peptides et des acides aminés, chez l'espèce *S. thermophilus* semblent responsables des niveaux de production d'acétaldéhyde, cependant la régulation de ces voies biochimiques et le rôle de l'uréase et son implication dans la production d'acétaldéhyde, ne sont pas clairement élucidés. L'objectif de l'étude est l'exploration du comportement industriel des souches indigènes de *S. thermophilus*, isolées du lait cru d'Algérie, en culture pure, l'évaluation de leur activité métabolique, sur milieu de fermentation restreint : le lait écrémé reconstitué à 10% W/V, par le suivi de la cinétique d'aromatization (acétaldéhyde) et d'acidification (lactate), après une longue durée de cryoconservation à -80°C.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Origine des souches lactiques thermophiles

Les souches lactiques thermophiles (*Streptococcus thermophilus*), isolées du lait cru collecté dans le Nord-Est algérien, et préalablement caractérisées, appartiennent à la collecte des souches lactiques thermophiles, d'intérêt technologique (Meribai et al. 2014 : DATA non publiées). Elles ont été conservées à -80°C sur Bouillon M17 (Pronadisa- Spain), additionné de 30% de glycérol bidistillé (Gyosheva et al. 1995).

La souche de référence STL- *Streptococcus thermophilus*, isolée à partir d'un ferment thermophile lyophilisé (souche starter), destiné à la fabrication du yaourt, est importée par l'Office National Interprofessionnel du Lait (\*ONIL).

### 2.2. Revivification des souches lactiques thermophiles

La réactivation des souches lactiques est réalisée par double ensemencement de 24h, sur Bouillon M17 (Tarzaghi et Sandine 1975) à 42°C puis par incubation de 24h, sur le milieu de fermentation (Lait écrémé reconstitué à 10% : W/V). La souche de référence STL, a subi un traitement de réactivation et de revivification, similaire à celui des souches indigènes.

### 2.3. Cinétique de production d'acétaldéhyde

Le suivi de la cinétique de production d'acétaldéhyde a été réalisé, selon le protocole préconisé par Yu.ksekdag, et al. (2004). La sélection des souches, s'est faite par l'élimination de celles n'ayant pas donné d'acétaldéhyde, au bout de 24 H, sur le milieu: lait écrémé reconstitué à 10% (W/V). L'inoculation des souches lactiques et de la souche de référence (STL), a été effectuée, dans un rapport de 02% (2ml de la suspension bactérienne dans 100ml du milieu de fermentation) puis par incubation à 42°C. La lecture a été réalisée sur spectrophotomètre contre une solution standard (Etalon) d'acétaldéhyde pur (Facteur de conversion sur emballage : 1.8 mg/m<sup>3</sup>= 1 ppm à 25°C) à différents intervalles d'incubation 04H, 08H, 16H et 24H. Les résultats sont exprimés en partie par million (\*ppm).

### 2.4. Cinétique d'acidification (titration de l'acide lactique)

L'acidification, par titration du lactate, sur milieu de fermentation (lait écrémé reconstitué à 10%) a été suivie pendant 24H d'incubation à différents intervalles de temps : 04H, 08H, 16H, et 24H, selon la méthode décrite par Demirci et Gunduz (1994), avec de légères modifications.

## 3. Résultats et discussion

### 3.1. Résultats

Le tableau 01 illustre les principales caractéristiques des souches lactiques, après leur réactivation sur le milieu de culture sélectif M17.

La figure 1 représente le suivi de la cinétique de production d'acétaldéhyde à intervalle de 24H d'incubation à 42°C sur le lait écrémé reconstitué à 10%.

## 4. Discussion

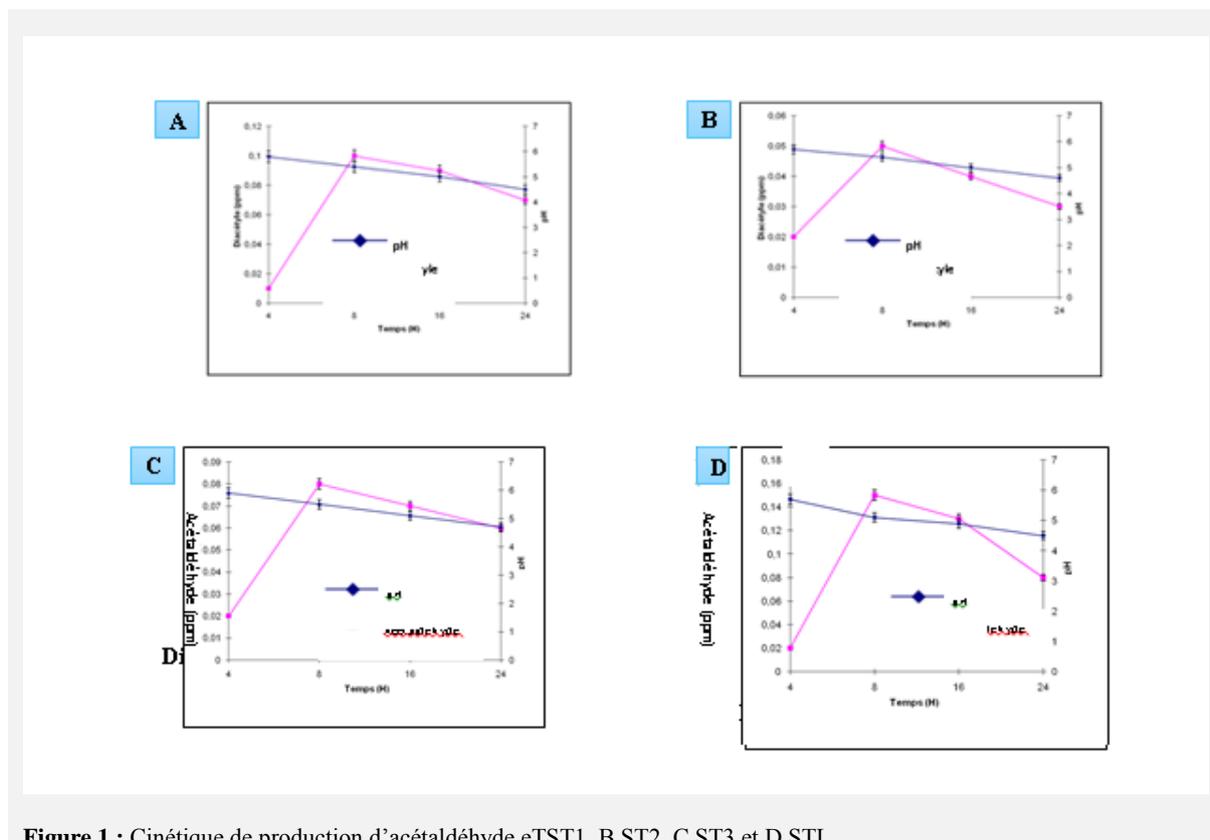
### 4.1. Cinétique de la production d'acétaldéhyde

En plus de la production du lactate et de la diminution du pH (acidification du milieu fermentaire), le processus fermentaire, assuré par les souches lactiques thermophiles, aboutit aussi à la formation de composés aromatiques, dont l'acétaldéhyde estimé à des valeurs de 0,09°D(ST1), 0,07°D(ST2) et 0,04°D(ST3), ce qui améliore la texture et les caractères organoleptiques du produit final.

**Tableau 1 :** Caractérisation biochimique des souches lactiques thermophiles après leur réactivation

Souches :	ST1	ST2	ST3	STL*
Aspects des colonies	Blanchâtres, bombées crémeuses			
Aspect des cellules	Coccie	Coccie	Coccie	Coccie
Coloration de Gram	+	+	+	+
Mobilité	-	-	-	-
Test de catalase	-	-	-	-
Test d'oxydase	-	-	-	-
Test de Nitrate réductase	-	-	-	-
Croissance à différente température à 10°C	-	-	-	-
Croissance à différente température à 45°C	+	+	+	+
Croissance à différente température à 55°C	+	+	-	+
Thermo résistance pendant 30mn à 60°C	+	+	+	+
Croissance en présence de 2% Na Cl	+	+	+	+
Croissance en présence de 04.5% Na Cl	+	-	-	-
Croissance en présence de 6,5% Na Cl	-	-	-	-
Croissance sur milieu alcalin (pH : 9.6)	-	-	-	-
Croissance sur lait bleu de Sherman	-	-	-	-
Action sur le lait tournesolé	*A.C	*A.C.R	*A.C.R	*A.C.R
Test d'homofémentation	HMF	HMF	HMF	HMF
Recherche de Citratase	+	-	-	-
Production d'acétoïne(Test)	+	+	+	+

STL\* souche de référence, ST1,2, 3souches indigènes, HMF homofémentation, HTF heterofémentation



**Figure 1 :** Cinétique de production d'acétaldéhyde eTST1, B ST2, C ST3 et D STL

Le protocole colorimétrique adopté pour le dosage du principal arôme (acétaldéhyde), avec de légères modifications, a montré que l'optimum de cette production, pour l'ensemble des souches, est atteint vers 16H d'incubation à 42°C, température optimale relative aux souches lactiques thermophiles étudiées (Chavez et al. 2003).

Déjà Singh et al. (1980), avaient noté que l'espèce *S. thermophilus*, en culture pure, comme en culture mixte, en co-culture avec les espèces *Lactobacillus bulgaricus*, produit plus de lactate. L'espèce est seule responsable de l'acidification et de la production d'acétaldéhyde à 37 °C ainsi qu'à 42 °C.

En outre, Benaama et al. (2011, 2012) avaient noté un maximum de production d'acétaldéhyde par des souches (indigènes) de *S. thermophilus*, isolées du lait cru de vache, après uniquement 10H d'incubation à 42°C, en culture pure, sur un milieu de culture (lait écrémé reconstitué à 10% W/V). Pour l'ensemble de nos souches, le suivi de la cinétique, de production des arômes, durant 24H d'incubation, a montré deux étapes successives : une première étape, ascendante, après 16 heures de fermentation, durant laquelle, il y a synthèse d'arôme (acétaldéhyde), suivie par une deuxième étape, de déclin (descendante), pendant laquelle il y a appauvrissement du milieu en composés aromatiques.

Cette 2ème phase, de déclin, commune à toutes les souches étudiées, ST1, ST2 et ST3, peut être expliquée par un probable épuisement des précurseurs d'arôme dans le milieu de culture. A cela, s'ajoutent les contraintes expérimentales, liées aux pertes d'une partie des composés aromatiques, en raison de leur nature volatile.

A ce titre, Imhof et al. (1994), avaient noté que la formation des composés aromatiques dans le milieu de culture, avait lieu durant la coagulation du lait et pendant les 20 premières heures de fermentation. Beshkova et al. (1998) avaient noté que le maximum d'activité aromatisante (production des arômes), par des souches lactiques thermophiles, en cultures pures et mixtes, a été enregistré durant les premières heures de coagulation du lait (aux environs de 07H de fermentation), alors que les concentrations maximales d'acétaldéhyde ont été obtenues aux environs de 22H à 23H de fermentation, ce qui est en parfaite concordance avec nos résultats.

La production d'acétaldéhyde, semble être une souche lactique dépendante (Chavez et al. 2002 ; 2003). Le choix de la méthode colorimétrique pour le dosage de l'acétaldéhyde, méthode utilisée par Lindsay et Day (1965), développée par Xanthopoulos et al. (1994) puis par Yu.ksekdag, et al. (2004), est justifié par le fait que cette dernière est plus sensible, permettant le dosage des arômes à de faibles concentrations, voire des traces (Xanthopoulos et al. 1994).

En outre, l'analyse comparative des composés aromatiques et pour les mêmes échantillons, a montré que les méthodes colorimétriques sont plus reproductibles et plus précises, permettant le dosage des arômes à de faibles traces : diacétylène à 12 µM, acétoïne à 57 µM (Xanthopoulos et al. 1994).

En outre, la chromatographie gaz-liquide, méthode analytique rapide, est la plus utilisée pour quantifier divers composés aromatiques à l'exemple de l'acétaldéhyde, éthanol et diacétylène dans des intervalles de concentrations correspondant à celles des laits fermentés et divers produits laitiers. Cependant, cette technique a l'inconvénient d'avoir des limites de reproductibilité élevées, allant de 65 µM pour l'éthanol à 250 µM pour l'acétaldéhyde (Xanthopoulos et al. 1994).

Dans une étude menée par Georgala et al. (1995), sur du lait cru de brebis et yaourt, préparés à base du même lait, l'auteur a étudié par chromatographie en phase gazeuse (CPG), la production des principaux composés aromatiques (acétaldéhyde, diacétylène et acétoïne), issus des fermentations par 05 souches de *Streptococcus thermophilus*, 04 de *Lactobacillus bulgaricus* et 20 combinaisons entre ces deux espèces. L'étude a révélé que, parmi les composés volatiles étudiés, la production des arômes semble souche dépendante, l'acétaldéhyde étant le produit majeur des souches en cultures pures et mixtes et atteint des valeurs maximales de 13 à 14 mg/kg. Cependant, le diacétylène et l'acétoïne étaient produits à de faibles concentrations. De même, les auteurs ont observé que les souches de *Lactobacillus bulgaricus* produisent de grandes concentrations d'acétaldéhyde en comparaison avec celles produites par les souches de *Streptococcus thermophilus*. La combinaison entre les souches en culture mixte stimule réciproquement la production de l'acétaldéhyde. D'autre part, Beshkova et al. (1998), en comparant la production des composés aromatiques des souches lactiques starters du yaourt en cultures pures et mixtes, les souches en culture mixte, ont montré une activité aromatique maximale. Cependant, la souche *Lactobacillus bulgaricus* a montré un potentiel aromatisant plus élevé, avec production des acides organiques de 2C à 10C. Selon Imhof et al. (1994), les aldéhydes et les alcools ne sont pas issus du processus fermentaire et sont formés directement à partir du lait. Seuls 05 composés ont un impact aromatique réel sur le produit final. Imhof et al. (1995) ont remarqué que sur un total de 32 composés aromatiques, quantifiés par chromatographie gaz, seuls 03 composés avaient un impact aromatique sur le produit de fermentation. La production d'acétaldéhyde, semble souche-dépendante, les souches starters thermophiles produisant 03 à 04 fois plus de butane-dione en cultures mixtes. Baranowska (2006), dans une étude sur l'effet de la composition du lait comme milieu de culture, enrichi par

différents composants : (lactose (10g/L), glucose (0.70g/L), sodium protéinate (25g/L), sodium citrate (03 g/L), citrate (01g/L) et thréonine (01 and 03 g/L) sur la formation des arômes de différents yaourts frais, après 07 et 14 jours de conservation, a montré que la thréonine affecte positivement le taux de formation d'acétaldéhyde et atteint des valeurs de 22, 24 et 56 mg/L, dans plusieurs types de yaourts étudiés. En outre, l'étude de la croissance (Biomasse) et production de l'acétaldéhyde sur du lait écrémé reconstitué à 10%, additionné de 05 Mmol et 10 Mmol de thréonine, des souches de *Streptococcus thermophilus* ont montré qu'après 10h de fermentation, l'acide aminé n'a pas d'effet sur la croissance et la production de biomasse, alors que la production d'acétaldéhyde a augmenté significativement (Benaama et al. 2011). Selon Benaama et al. (2012), après l'addition de 0.5% et 03% de lactose et de saccharose au milieu M17 (Tarzaghi et Sandine 1975) contenant trois souches lactiques thermophiles (indigènes) *Streptococcus thermophilus* BN1, BN2 et BN3, isolées du lait de vache, une augmentation significative de la production d'acétaldéhyde a été enregistrée.

Malgré les contraintes d'une congélation (-80°C) de longue durée, nos souches ST1, ST2 et ST3, ont exhibé des profils acidifiants à 42°C, technologiquement intéressants avec :70°D, 74°D et 69°D. Selon Lucas et Reyrolle (1989), l'acidité en degré Dornic (°D), est l'expression de l'acidité développée dans le milieu de fermentation (lait écrémé reconstitué à 10% W/V), par fermentation du lactose et production d'acide lactique. Il est à noter que nos souches lactiques, préalablement isolées, conservées dans le bouillon M17 additionné de 30% de glycérol, à (-80°C), revivifiées, n'ayant pas réussi à coaguler le lait écrémé reconstitué, au bout de 24H, à 42°C, ont été éliminées de l'étude. Par ce procédé, nous avons sélectionné des souches technologiquement intéressantes, selon la règle de Chamba et Prost (1989), qui considèrent que toute souche lactique appartenant à l'espèce *Streptococcus thermophilus*, exerçant une variation de  $\Delta$ pH de 0.50, durant un intervalle de temps de 04H, est une souche technologiquement intéressante, surtout si on prend en considération les contraintes de la congélation, de la culture pure et le pouvoir tampon exercé par le milieu de fermentation. L'étude comparative d'impact de deux méthodes de conservation des souches lactiques : la congélation et la lyophilisation, durant six mois, montre que la première méthode (congélation) a exhibé des souches lactiques ayant les taux de survie et d'activité enzymatique intracellulaire, les plus élevés avec un faible taux d'autolyse (Kendyl et Al Soda 2015).

#### 4.2. Cinétique (d'acidification) de production du lactate (Figure 01)

L'acidification du milieu de fermentation, évaluée en degré Dornic, a été estimée par neutralisation, à l'aide de la soude N/9, de 10ml du lait fermenté auquel est ajouté un indicateur de pH (solution alcoolique de 01% de phénolphtaléine) (Demirci et Gunduz 1994). Le degré Dornic (°D) est l'évaluation de l'acidité développée dans le lait, par transformation du lactose (sucre du lait) en acide lactique, un degré Dornic (°D) correspondant à 0,1g d'acide lactique dans un litre de lait (Chamba et Prost 1989 ; Thomas et Chamba 2000). En outre, Zisu et Shah (2003), lors d'une étude sur l'effet de la température d'incubation, du pH et de l'addition des protéines au milieu de fermentation sur le métabolisme cellulaire et la production des exopolysaccharides par l'espèce *Streptococcus thermophilus*1275, les différentes combinaisons entre ces trois paramètres, ont montré que les plus grandes quantités de métabolites ont été produites à 37°C, à 40°C et à pH 4,08. La température élevée de 45 °C, a diminué la production des exopolysaccharides. Le choix de la température d'incubation de 42°C, nous semble judicieux, puisque c'est la température optimale de croissance, relative à l'espèce étudiée en culture pure. Plusieurs auteurs ont aussi utilisé la même température de 42°C, pour l'évaluation de la production d'arôme chez l'espèce *S. thermophilus* en culture pure (Chavez et al. 2002 ; 2003 ; Benaama et al. 2011, 2012).

#### 5. Conclusion

Les souches lactiques thermophiles (indigènes) *Streptococcus thermophilus* ST1, ST2, et ST3, malgré la conduite de leur culture sur milieu simple, sans aucun additif, après une longue période de congélation, ont exhibé des profils aromatisants (acétaldéhyde) et acidifiant (lactate) d'intérêt technologique semblable à ceux de la souche de référence STL. Il serait intéressant d'explorer leurs potentialités en culture mixte, en présence d'espèces lactiques thermophiles et mésophiles, sur milieu enrichi par des sucres (Lactose et Saccharose) et des acides aminés (Thréonine et Méthionine).

## 6. Références bibliographiques

- Almeida KE, Tamime AY, Oliveira MN (2009).** Influence of total solids contents of milk whey on the acidifying profile and viability of various lactic acid bacteria. *LWT- Food Science and Technology* 42 : 672– 678 A-research note.
- Angelov M, Kostov G, Simova E, Beshkova D, Koprinkova- Hristova P. (2009).** Protocoopération factors in yoghurt starter cultures. *Revue de Génie Industriel* 3: 05- 12.
- Baranowska M (2006).** Intensification of the synthesis of flavour compounds in yogurt by milk enrichment with their precursors. *Pol J Food Nutr Sci* 15(56) : 5– 11.
- Bennama R, Rechidi-Sidhoum N, Bensoltane A (2011).** Effect of Threonine on Growth and Acetaldehyde Production by *Streptococcus thermophilus*. *World Applied Sciences Journal* 15(2): 160- 163.
- Bennama R, Ladero V, Alvarez MA, Fernández M, Bensoltane A (2012).** Influence of lactose and sucrose on growth and acetaldehyde production by three strains of *Streptococcus thermophiles*. International Conference on Applied Life Sciences (ICALS 2012) Turkey September 10- 12 2012.
- Bernardeau M, Vernoux J.P, Henri-Dubernet S, Guéguen M (2008).** Safety assessment of dairy microorganisms: The *Lactobacillus* genus. *International Journal of Food Microbiology* 126 : 278– 285.
- Beshkova D, Simova E, Frengova G, Simov Z (1998).** Production of flavor compounds by yogurt starter cultures. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 20: 180– 186.
- Bongers SR, Hoefnagel MHN, Kleerebezem M (2005).** High-level acetaldehyde production in *Lactococcus lactis* by metabolic engineering. *Applied and Environ Microbiol* 71(2): 1109- 1113.
- Chamba J F, Prost F (1989).** Mesure de l'activité acidifiante des bactéries lactiques, thermophiles pour la fabrication de fromage à pâte cuite. *Lait* 69 : 417-431.
- Chaves AC, Fernandez M, Lerayer AL, Mierau I, Kleerebezem M, Hugenholtz J (2002).** Metabolic engineering of acetaldehyde production by *Streptococcus thermophiles*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(11) : 5656– 5662.
- Chaves AC, Ruas- Madiedo P, Starrenburg M, Hugenholtz J, Lerayer AL (2003).** Impact of engineered *Streptococcus thermophilus* strains over-expressing *glyA* gene on folic acid and acetaldehyde production in fermented milk. *Brazilian Journal of Microbiology* 34(suppl.1) :114- 117.
- Courtin P, Rul F (2004).** Interactions between microorganisms in a simple ecosystem: yogurt bacteria as a study model. *Lait* 84:125– 134.
- Delorme C (2008).** Safety assessment of dairy microorganisms: *Streptococcus thermophilus*. *International Journal of Food Microbiology* 126: 274- 277.
- Demirci M, Gunduz H (1994).** Dairy technology handbook Turkey. Hasad Press. Pp.184.
- El-Sharoud WM, Delorme C, Darwish MS, Renault P (2013).** Genotyping of *Streptococcus thermophilus* strains isolated from traditional Egyptian dairy products by sequence analysis of the phosphoserine phosphatase (serB) gene with phenotypic characterizations of the strains. *Journal of Applied Microbiology* 112: 329-337.
- Escamilla- Hurtado ML, Valdés-Martínez SE, Soriano-Santos J, Gómez- Pliego R, Verde-Calvo JR, Reyes-Dorantes A, Tomasini- Campocosio A (2005).** Effect of culture conditions on production of butter flavor compounds by *Pediococcus pentosaceus* and *Lactobacillus acidophilus* in semisolid maize-based cultures. *International Journal of Food Microbiology* 105(3) : 305– 316.
- Georgala A, Tsakalidou E, Kandarakis I, Kalantzopoulos G (1995).** Flavour production in ewe's milk and ewe's milk yoghurt, by single strains and combinations of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus debruekii* subsp *bulgaricus* isolated from traditional Greek yoghurt. *Lait* 75: 271- 283.
- Gyosheva B, Petrova I, Mutafchieva M (1995).** Preservation of *Streptococcus thermophilus* strains after long term storage in lyophilized state. *Journal of Culture Collection*1: 34-37.
- Hols P, Hancy F, Fontaine L, Grossiord B, Prozzi D, Leblond- Bourget N, Decaris B, Bolotin A, Delorme C, Ehrlich D, Guedon E, Monnet V, Renault P, Kleerebezem M (2005).** New insights in the molecular biology and physiology of *Streptococcus thermophilus* revealed by comparative. *FEMS Microbiology Reviews* 29: 435– 463.
- Imhof R, Glattli H, Bosset JO (1994).** Volatile organic aroma compounds produced by thermophilic and mesophilic mixed strain dairy starter cultures *Lebensm Wiss U Technol* 27: 442- 449.
- Imhof R, Glattli H, Bosset JO (1995).** Volatile organic compounds produced by thermophilic and mesophilic single strain dairy starter cultures. *Lebensm Wiss U Technol* 28 : 78- 86.
- Iyer R, Tomar SK, Maheswari TU, Singh R (2010).** *Streptococcus thermophilus* strains: Multifunctional lactic acid bacteria. *International Dairy Journal* 20 : 133– 141.
- Iyer R, Tomar SK, Kapila S, Mani J, Singh R (2010).** Probiotic properties of folate producing *Streptococcus thermophilus* strains. *Food Research International* 43 : 103– 110.
- Kendil S, El Soda M (2015).** Influence of Freezing and Freeze Drying on Intracellular Enzymatic Activity and Autolytic Properties of Some Lactic Acid Bacterial Strains. *Advances in Microbiology* 5: 371- 382.

- Lindsay RC, Day EA (1965).** Rapid quantitative method for determination of acetaldehyde in lactic starter culture. *Journal of Dairy Science* 48 : 665– 669.
- Lorenzen PC, Ebert E, Clawin I, Schlimme E (2003).** Influence of heat impact in reconstitute skim milk on the properties of yogurt fermented by roppy or non roppy starters cultures. *Nahrung Food* 47(5): 349- 353.
- Lukas S, Rey Rolle J (1989).** Etude d'un lot de ferments lactiques mésophiles équilibrés des flores aux cours de la première étape de fabrication du levain. *Lait* 69(2): 121- 130.
- Martin F, Cachon R, Pernin K, De Coninck J, Gervais P, Guichard E, Cayot N (2011).** Effect of oxidoreduction potential on aroma biosynthesis by lactic acid bacteria in nonfat yogurt. *J Dairy Sci* 94 : 614– 622 doi: 10.3168/jds.2010- 3372.
- MC Sweeney PLH, Jsousa M (2000).** Biochemical pathways for the production of flavor compounds in cheeses during ripening: A review. *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus*. *Lait* 80: 293- 324.
- Meribai A, Ait Abdeslam A, Krantar K., Mahi M, Benzeguir M, Slimane N, Meghnia D, Bensoltane A (2010).** Biotechnological study of a thermophilic lactic acid starter isolated from Algerian cow's raw milk. *Egyptian Journal of Applied Sciences* 25 (4B) 243- 254.
- Mora D, Majuin E, Masiero M, Parini C, Ricci G, Manacini PL, Daffonchio D (2004).** Characterization of urease genes cluster of *Streptococcus thermophilus*. *Journal of Applied Microbiology* 96: 209- 219.
- Mora D, Monnet C, Parini C, Guglielmetti S, Mariani A, Pintus P, Molinari F, Daffonchio D, Manachini PL (2005).** Urease biogenesis in *Streptococcus thermophilus*. *Int Research Microbiology* 156: 897– 903.
- Mostefaoui A, Hakem A, Yabrir B, Boutaiba S, Badis A (2015).** Evaluation of biofilm formation by exopolysaccharide producer strains of thermophilic lactic acid bacteria isolated from Algerian camel milk. *Emirates Journal of Food and Agriculture* 27(6): 513- 521.
- Oliveira DRP, Perego P, Converti A, De Oliveira MN (2009).** Effect of inulin on growth and acidification performance of different probiotic bacteria in co-cultures and mixed culture with *Streptococcus thermophilus*. *Journal of Food Engineering* 91 : 133– 139.
- Oliveira DRP, Perego P, Converti A, De Oliveira MN (2009).** Growth and acidification performance of probiotics in pure culture and co-culture with *Streptococcus thermophiles* : The effect of inulin LWT. *Food Science and Technology* 42 : 1015– 1021.
- Ott A, Fay LB, Chaintreau A (1997).** Determination and origin of the aroma impact compounds of yogurt flavor. *J Agric Food Chem* 45: 850– 858.
- Ott A, Germond JE, Chaintreau A (2000).** Vicinal diketone formation in yogurt13 (C) precursors and effect of branched chain amino acids. *J Agri Foo Chem* 48(3) : 724- 731.
- Özer B, Andataso Y (2002).** Effect of addition of aminoacids, treatment with galactosidase and use of heat-shocked cultures on the acetaldehyde level in yoghurt. *International Journal of Dairy Technology* 55: No 4.
- Saint-Eve A, Levy C, Le Moigne M, Ducruet V, Souchon I (2008).** Quality changes in yogurt during storage in different packaging materials. *Food Chemistry* 110 : 285– 293.
- Schirch V, Hopkins S., Villar E, Angelaccio S (1985).** Serine hydroxy-methyltransferase from *Escherichia coli* : Purification and properties. *J Bacteriol* 163 : 1– 7.
- Singh J, Khanna A, Chander H (1980).** Effect of incubation temperature and heat treatments of milk from cow and buffalo on acid and flavor production by *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. *Journal of Food Protection* 5: 340- 414.
- Terzaghi BE, Sandine WE (1975).** Improved medium for lactic *Streptococcus* and their bacteriophages, *Appl Microbiol* 29: 807-813.
- Thomas A, Chamba JF (2000).** Mise en évidence de l'évolution des aptitudes technologiques des bactéries lactiques thermophiles utilisées dans les fromages à pâte pressée cuite. *Sciences des aliments* 20 : 159- 167.
- Valero E, Villamiel M, Miralles B, Sanz J, Martinez-Castro I (2001).** Changes in flavor and volatile components during storage of whole and skimmed UHT milk. *Food Chemistry* 72(1): 51-58.
- Wu Q, Tun HM, Chi-Ching LF, Shah NP (2014).** Genomic insights into high exopolysaccharide-producing dairy starter bacterium *Streptococcus thermophilus* ASCC 1275. *Scientific Reports* 4: 4974 | DOI: 10.1038/srep 04974.
- Xanthopoulos V, Picque D, Bassit N, Boquien CY, Corriueg G (1994).** Methods for the determination of aroma compounds in dairy products: a comparative study. *Journal of Dairy Research* 61: 289- 297.
- Yu.ksekdag, ZN Beyatli Y, Aslim B (2004).** Determination of some characteristics coccoidforms of lacticacid bacteria isolated from Turkish kefir with natural probiotic. *Lebensm Wissu Technol* 37 : 663– 667.
- Zisu B, SHAH NP (2003).** Effect of pH, temperature, supplement with whey protein concentrate and adjunct cultures on the production of exopolysaccharides by *Streptococcus thermophilus* 1275. *Journal of Dairy Science* 86(11) : 3405- 3415.
- Zotta T, Ricciardi A .M, Rossano R, Parente E (2008).** Urease production by *Streptococcus thermophilus*. *Food Microbiology* 25 : 113– 119.