

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE FRERES MENTOURI CONSTANTINE1
INSTITUT DE LA NUTRITION, DE L'ALIMENTATION
ET DES TECHNOLOGIES AGRO-ALIMENTAIRES
I.N.A.T.A.A.



N° d'ordre :.....

N° de série :.....

Thèse de Doctorat en Sciences

Spécialité : Sciences Alimentaires

Thème

**Contribution à l'étude pour la caractérisation du fromage
traditionnel « *Bouhezza* » au lait de chèvre**

Présentée par : Hacène MEDJOUJ

Soutenue le : 10/04/2018

Devant le Jury composé de :

Présidente :	M ^{me} KHAROUB K.	Prof.	I.N.A.T.A-A. Univ. M.C. 1
Rapporteur :	M ^r ZIDOUNE M. N.	Prof.	I.N.A.T.A-A. Univ. M.C. 1
Examineurs :	M ^r MADANI T.	Prof. Fac Sci. Nat. & Vie Univ F.A. Sétif	
	M ^r BOULEKHSAIM M.	Prof. FSE&SNV-DSci Nat.&Vie Univ. L.BM OEB	
	M ^{me} AISSAOUI-ZITOUN O.	M.C.A. I.N.A.T.A-A. Univ. M.C. 1	

Année universitaire 2017- 2018

Dédicaces

DEDICACES

Je dédie ce travail

A la mémoire de mes chers parents ; mon père qui n'a jamais connu mes succès, et à ma très chère mère, que Dieu ait leur âmes ; et leur accorde une place dans son vaste paradis

A mon épouse TOURIYA, avec tout mon dévouement, qu'elle trouve ici tout mon attachement pour son accompagnement, sa patience et soutien indéfectible.

A mes fils ABDELMADJID, ABDERRAHMANE et ABDERRAOUF (MOUNIR), avec toute mon affection, que ce travail leur serve d'exemple de courage, que Dieu les protège.

A mon unique sœur, avec toute mon affection,

A la mémoire de mes grands-parents dont la vie fut consacrée à mon éducation, je les assure de mon éternelle reconnaissance (que Dieu ait leurs âmes).

A tous ceux qui sont proches qu'ils trouvent ici le témoignage de ma gratitude.

A toutes les personnes qui ont participé et soutenu la réalisation de ce travail.

Remerciements

REMERCIEMENTS

Dieu merci de m'avoir fait atteindre ce stade de ma carrière scientifique

Mes vifs remerciements vont :

D'abord à Monsieur le professeur ZIDOUNE M.N. pour avoir proposé et dirigé ce travail avec l'efficacité et la rigueur scientifiques qui lui sont propres. Pour la patience qu'il a eu à notre égard.

Aux membres du jury pour avoir accepté de juger ce travail :

-Madame le professeur KHAROUB K. pour avoir accepté de présider ce jury, par ses conseils éclairés elle ne fera qu'enrichir cette étude.

-Monsieur le professeur MADANI T. pour avoir accepté de faire partie du jury, par ses conseils et remarques il contribuera à améliorer la qualité de ce travail.

-Monsieur le professeur BOULEKHSAIM M. pour sa participation à l'évaluation de ce travail, ses remarques ne feront que l'enrichir.

-Madame AISSAOUI –ZITOUN O. pour sa participation à l'évaluation de ce travail, ses remarques ne feront qu'apporter un plus à ce travail.

Je tiens à exprimer ma gratitude aux responsables des laboratoires où certaines parties de cette thèse ont été réalisées :

A M^{me} CARPINO S. Directrice de recherche et Mr LICITRA G. directeur du CorFilac, Ragusa, Sicile, Italie ;

A M^{rs} CHOBERT J-M et HAERTLE TH. Responsables de l'équipe FIP INRA Nantes, France ;

A M^r ATTIA H. Directeur du laboratoire d'analyse des produits alimentaires à ENIS, Sfax, Tunisie et, M^r AYADI Med Ali son adjoint et Mr S. Makhoulouf, chef de service ; pour leur aide,

A M^r HAYALOGU A.A. Responsable du Laboratoire du Département de Génie Alimentaire, Université d'INONU, Malatya Turquie.

A Mme REBH O. et M^r GHODHBENI I. responsables du laboratoire du CHO (Compagnie d'Huile d'olive) de SFAX, Tunisie, pour l'analyse par CPG des AGL.

Aux responsables des Laiteries SAFILAIT de Ain Smara, Constantine et HABILAIT d'Oum El-Bouaghi où la matière grasse a été analysée ;

A l'ensemble des collègues pour m'avoir encouragé et aidé durant la préparation de cette étude,

A toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail ;

A mes amis qui n'ont cessé de me soutenir et m'encourager, ABDELGHANI et MOHAMED à qui je souhaite la réussite.

Abréviations
Liste des Tableaux et
Figures

Liste des abréviations

a_w : Activity water (activité de l'eau)
DHS : Dynamique Head space (Espace de tête dynamique)
°D : degré Dornic
°C : degré centigrade
EST : extrait sec total
Exp. : expérimentale
F : fabrication
Fer. : ferme
g : gramme
GC/MS : Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse
GC/O : Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à l'Olfactométrie
h : heure
J : jour
kg : kilogramme
L : Litre
mM : milliMolaire
mL : millilitre
mn : minutes
NT : Azote total
NS : azote total soluble à pH 4,4
NNP : azote non protéique
PAGE : Electrophorèse sur gel de polyacrylamide
pb : paire de base
PCR : Polymerase Chain Reaction
PDO : Protected Designations of Origin
PGI : Protected Geographical Indication
rpm : Rotation par minute
s. : seconde
SDS : Dodécylsulfate de sodium
SHS : Statique head space (Espace de tête statique))
SN pH 4,4 : azote soluble à pH 4,4
T% : % d'acrylamide et de bis-acrylamide dans un volume V de tampon
t : temps
TAE : Tris Acétate EDTA
TCA : Acide trichloracétique
TE : Tris EDTA
TEFD : Pourcentage de la Teneur en Eau dans le Fromage Dégraissé
TEMED : Tétraméthyléthylènediamine
APT : Analyse du Profil de la Texture
Tris : Tris-hydroxy-méthyl-amino-méthane
TTGE : Temporal Temperature Gel Electrophoresis
UFC : Unité formant Colonie
V : volume

Liste des Tableaux

N°	Titre	Page
<u>Synthèse Bibliographique</u>		
Tableau 1	Composition du lait de différentes espèces selon Amiot <i>et al.</i>, (2002) .	5
Tableau 2	Incidences dues à différents micro-organismes d'altération (Guiraud, 2003).	13
Tableau 3	Effets des micro-organismes pathogènes (Laurent <i>et al.</i>, 1998).	14
Tableau 4	Classification des fromages en fonction de la consistance, de la teneur en matière grasse et des principales caractéristiques d'affinage.	26
<u>Matériels et Méthodes</u>		
Tableau 1	Récapitulatif des fabrications du fromage <i>Bouhezza</i> au lait de chèvre et caractérisations réalisées par année entre 2010 et 2015.	30
Tableau 2	Récapitulatif de la caractérisation microbiologique.	39
Tableau 3	Souches utilisées comme marqueurs pour la PCR-TTGE.	Annexe 2
Tableau 4	Espèces de la base des données, selon Parayre <i>et al.</i> (2007) .	Annexe 2
Tableau 5	Composition du milieu réactionnel pour PCR (Mix PCR).	Annexe 2
Tableau 6	Composition des gels de séparation et de concentration de la TTGE.	Annexe 2
Tableau 7	Composition des gels d'électrophorèse SDS PAGE	Annexe 2
Tableau 8	Composition des gels de polyacrylamide en milieu urée.	Annexe 2
Tableau 9	Composition des solutions tampons des gels de concentration et de séparation.	Annexe 2
<u>Résultats et Discussion</u>		
Tableau 1	Type de peaux utilisées pour la préparation de la <i>Chekoua</i> de <i>Bouhezza</i> dans les 5 wilayas enquêtées.	59
Tableau 2	Taille de la peau utilisée pour la fabrication de <i>Bouhezza</i> .	60
Tableau 3	Type et quantités de matières utilisées pour le traitement de la peau.	62
Tableau 4	Différents produits utilisés pour le traitement de la peau.	62
Tableau 5	Forme d'utilisation du genièvre.	64
Tableau 6	Durée de traitement de la <i>Chekoua</i> .	65
Tableau 7	Produits utilisés avant l'utilisation de la <i>Chekoua</i> conservée.	66
Tableau 8	Période de lancement de fabrication du fromage <i>Bouhezza</i> .	68
Tableau 9	Type de matière première utilisée dans la fabrication du fromage.	69
Tableau 10	Endroit où le lait est abandonné pour la coagulation.	70
Tableau 11	Acidité du <i>Lben</i> utilisé dans la fabrication du <i>Bouhezza</i> .	71
Tableau 12	Facteurs influençant les fréquences d'ajouts du <i>Lben</i> ou lait au cours de la fabrication.	72
Tableau 13	Volume de premier ajout de la matière première mis dans l'outre.	73
Tableau 14	Mode de salage utilisé.	74
Tableau 15	Durée totale de la fabrication de <i>Bouhezza</i> .	78
Tableau 16	Conservation du fromage <i>Bouhezza</i> après fabrication.	79
Tableau 17	Altération de texture et d'aspect affectant le fromage <i>Bouhezza</i> .	79

Tableau 18	Altérations du goût affectant le fromage <i>Bouhezza</i> .	80
Tableau 19	Altérations d'odeur affectant le fromage <i>Bouhezza</i> .	80
Tableau 20	Résultat du pH et des caractéristiques physico-chimiques de la matière première de <i>Bouhezza</i> ; Lait, <i>Lben</i> et <i>Lben</i> salé de chèvre, exprimés en %.	83
Tableau 21	Récapitulatif de la caractérisation physico-chimique et biochimique du fromage <i>Bouhezza</i> de chèvre (moyenne de 13 fabrications).	Annexe 3
Tableau 22	Volume en Litre de lactosérum récupéré pour les cinq fabrications.	Annexe 3
Tableau 23	Volume du lactosérum égoutté pour les deux fabrications expérimentales.	Annexe 3
Tableau 24	Caractéristiques de lactosérum au cours de la fabrication du fromage <i>Bouhezza</i> F1, F2 et F9, F10 et F11.	90
Tableau 25	Rendements fromagers de <i>Bouhezza</i> des fabrications F1 et F2 et F9, F10 et F11.	91
Tableau 26	Résultats de la caractérisation microbiologique du lait et <i>Lben</i> de chèvre, utilisés dans la fabrication de <i>Bouhezza</i> , exprimés en log ufc/mL.	Annexe 3
Tableau 27	Résultats de la caractérisation microbiologique du fromage <i>Bouhezza</i> au lait cru de chèvre de fabrications expérimentales et e ferme, exprimés en log ufc/g.	Annexe 3
Tableau 28	Evolution de la flore halotolérante dans <i>Bouhezza</i> expérimentale et de ferme.	95
Tableau 29	Evolution des fractions protéiques au cours de l'affinage de <i>Bouhezza</i> de chèvre de trois fabrications de ferme (F4, F5 et F6).	Annexe 3
Tableau 30	Evolution du taux de MG et de lipolyse au cours de l'affinage dans différentes fabrications de <i>Bouhezza</i> au lait de chèvre (Moyenne de 2 à 7 fabrications± Etype).	Annexe 3
Tableau 31	Composition en AGL (g/100 g de MG) de <i>Bouhezza</i> au lait de chèvre obtenu après extraction d'échantillon d'âge d'environ 1 mois (29,38 et 42 jour) et de fin de production (50, 60 et 72 jour).	Annexe 3
Tableau 32	Esters (moyenne ±sd, µg/L de <i>Lben</i> et µg/ Kg de fromage) dans le <i>Lben</i> du lait de chèvre utilisé dans la fabrication et dans le fromage <i>Bouhezza</i> .	124
Tableau 33	Acides Carboxyliques (moyenne ±sd, µg/L de <i>Lben</i> et µg/ Kg de fromage) dans le <i>Lben</i> du lait de chèvre utilisé dans la fabrication et dans le fromage <i>Bouhezza</i> .	127
Tableau 34	Alcools (moyenne ±sd, µg/L de <i>Lben</i> et µg/ Kg de fromage) dans le <i>Lben</i> du lait de chèvre utilisé dans la fabrication et dans le fromage <i>Bouhezza</i> .	129
Tableau 35	Aldéhydes (moyenne ±sd, µg/L de <i>Lben</i> et µg/ Kg de fromage) dans le <i>Lben</i> du lait de chèvre utilisé dans la fabrication et dans le fromage <i>Bouhezza</i> .	132
Tableau 36	Cétones (moyenne ±sd, µg/L de <i>Lben</i> et µg/ Kg de fromage) dans le <i>Lben</i> du lait de chèvre utilisé dans la fabrication et dans le fromage <i>Bouhezza</i> .	133
Tableau 37	Terpènes (moyenne ± sd, µg/L de <i>Lben</i> et µg/ Kg de fromage) dans le <i>Lben</i> du lait de chèvre utilisé dans la fabrication et dans le fromage <i>Bouhezza</i> .	135

Tableau 38	Composés volatiles variés (moyenne \pm sd, $\mu\text{g/L}$ de Lben et $\mu\text{g/ Kg}$ de fromage) dans le <i>Lben</i> du lait de chèvre utilisé dans la fabrication et dans le fromage <i>Bouhezza</i> .	137
Tableau 39	Résultats du profil de la texture du fromage affiné <i>Bouhezza</i> de chèvre des fabrications expérimentales (F1) et de ferme (F4 de Tébessa et F7 d'Oum El-Bouaghi).	141
Tableau 40	Fiche technique (carte) d'identité du fromage traditionnel <i>Bouhezza</i> préparé au lait cru de chèvre.	143

Liste des Figures

N°	Titre	Page
	<u>Synthèse Bibliographique</u>	
Figure 1	Principaux mécanismes biochimiques de l'affinage : (a)Protéolyse, (b) lipolyse et (c) métabolisme du lactose, du lactate et du citrate (McSweeney and Sousa, 2000)	22

Matériels et Méthodes

Figure 1	Etapes globales de préparation du <i>Lben</i>	31
Figure 2	Diagramme couvrant globalement nos treize fabrications du fromage <i>Bouhezza</i>	33
Figure 3	Extraction des lipides par la méthode de Folch décrite par Serhan (2008)	49
Figure 4	Courbes étalon pour le dosage des protéines selon la méthode de LOWRY (Lowry et coll., 1951)	Annexe 2

Résultats et Discussion

Figure 1	Répartition des enquêtés selon leur connaissance de <i>Bouhezza</i>	57
Figure 2	Type de peaux utilisées pour la fabrication de <i>Bouhezza</i>	59
Figure 3	Volume de <i>Chekoua</i> utilisée pour la fabrication de <i>Bouhezza</i>	61
Figure 4	Diagramme et préparation traditionnelle de l'outre « Djeld » destinée à la fabrication de <i>Bouhezza</i>	67
Figure 5	Etapes de préparation du <i>Djeld</i> (<i>Chekoua</i>) selon les résultats de l'enquête	68
Figure 6	Ajout des matières premières	72
Figure 7	Diagramme du mode de préparation du <i>Lben</i> (selon enquête).	73
Figure 8	Diagramme de fabrication du fromage traditionnel <i>Bouhezza</i> selon les cinq Wilayas enquêtées.	75
Figure 9	Salage du <i>Lben</i>	75
Figure 10	Evolution du pH au cours de l'affinage du <i>Bouhezza</i> de chèvre dans différentes fabrications.	85
Figure 11	Evolution de l'acidité titrable au cours de l'affinage de <i>Bouhezza</i> de chèvre dans différentes fabrications.	85
Figure 12	Evolution de l'extrait sec total (EST) au cours de l'affinage du fromage <i>Bouhezza</i> de chèvre dans différentes fabrications.	86
Figure 13	Evolution du taux de cendre au cours de l'affinage de <i>Bouhezza</i> de chèvre de différentes fabrications.	87
Figure 14	Evolution de la matière grasse dans l'extrait sec total (MG/EST) au cours de l'affinage de <i>Bouhezza</i> de chèvre dans différentes fabrications.	88
Figure 15	Evolution du taux de chlorures dans l'EST au cours de l'affinage de <i>Bouhezza</i> de chèvre de 4 fabrications F1, F2 et F4, F5.	89
Figure 16	Evolution de la FTAM et de la flore fongique au cours de l'affinage du <i>Bouhezza</i> de chèvre dans des fabrications expérimentales et de ferme.	93
Figure 17	Evolution des Streptocoques lactiques et Lactobacilles au cours de l'affinage de <i>Bouhezza</i> de chèvre dans des fabrications expérimentales et de fermes.	94
Figure 18	SDS-PAGE dans 12% des six isolats identifiés comme des bactéries lactiques présentant des zones de protéolyse dérivées du fromage <i>Bouhezza</i> fabriqué avec du lait de chèvre à l'âge de 50 jours (d) et plus encore.	99

H1_non-identifié (P9 de F1 50 d); H2_non-identifié (P9 de F2 50 d); H3_ *Enterococcus faecalis* (P9 de F2 50 d); H4_ *Enterococcus faecium* (P7 de F3 56 d); H5_ *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* (P9 de F3 72 d) ; H6_ *Enterococcus faecalis* (P9 de F2 50 d)). Le dernier puits des gels est le lait de vache.

- Figure 19** Gels de confirmation de l'activité protéolytique sur du lait de vache et de chèvre à 24,48 et 72 heure d'incubation des souches présumées protéolytiques et identifiées comme bactéries lactiques. 1, 2,3...numéro du puits, Lv : lait de vache, Lch : lait de chèvre, H1, H2, H3, H4, H5, H6 : les souches lactique protéolytiques identifiées. 100
- Figure 20** TTGE (Temporal Temperature Gradient Electrophoresis) électrophorèse à gradient de température temporaire de fromage *Bouhezza* fabriqué à partir de lait de chèvre après extraction d'ADN d'échantillons issus de deux fromages de fabrication expérimentale (FH1 et FH2). Les deux fromages sont comparés au fromage de ferme : FH3, et deux échantillons de fabrication de ferme de Tébessa ; age > 30j d'affinage épicé au piment rouge ; Ain Fakroun : 13.> 30j d'affinage épicé au piment rouge. 102
- Figure 21** Evolution du taux de protéines sur EST au cours de l'affinage de *Bouhezza* de chèvre dans différentes fabrications. 104
- Figure 22** Fractions protéiques et taux de protéolyse dans *Bouhezza* de chèvre de ferme. 106
- Figure 23** Électrophorèse SDS-PAGE (à 12%) des échantillons de fromage *Bouhezza*, fabriqué à partir de lait cru de chèvre, montrant l'apparition de nouvelles petites fractions (γ -caséine) en raison de la protéolyse d'un mois de maturation jusqu'à la fin de la production, dans trois fromages. 107
- Figure 24** Électrophorèse SDS-PAGE (à 12%) des échantillons de fromage *Bouhezza*, fabriqué à partir de lait cru de chèvre, montrant l'apparition de nouvelles petites fractions (γ -caséine) en raison de la protéolyse d'un mois de maturation jusqu'à la fin de la production, dans trois fromages. Annexe3
- Figure 25** RP-HPLC d'échantillons de fromage *Bouhezza* épicé. De haut en bas: Fabrications 1 et 2 (F1 et F2) du laboratoire pendant 50 jours et fabrication 3 (F3) de la ferme à 72 jours de maturation, montrant le temps de rétention des fractions solubles à pH 4,4 en fonction de l'unité d'absorption à 216 nm. 110
- Figure 26** Profil RP-HPLC de la fraction d'azote soluble dans l'eau dans fromage *Bouhezza* au lait cru de chèvre lors de la maturation de F4 (a), F5 (b) et F6 (c). Temps exprimé en min. Signal exprimé en UV 214 nm (unités arbitraires). 111
- Figure 27** Urée-PAGE de l'azote (N) insoluble à pH 4,4 dans les échantillons de fromage *Bouhezza* fabriqués avec du lait de chèvre issu de deux fromages expérimentaux différents (FH1- FH2) : 1. fromage du 1^{er} jour de maturation, 2. 14j, 3. 28j, 4. 42j, 5. 50j sans piment et 6. 50 j épicé au piment rouge piquant. Les fromages expérimentaux ont été comparés aux échantillons de fromage *Bouhezza* fabriqués avec du lait de chèvre issu de fromage de ferme (fromage FH3 : 1. 1 jour de maturation, 2. 15j, 3. 30j, 4. 45j, 5. 64j non épicé et 6. 72j épicé au piment rouge piquant) et avec deux échantillons de fromage *Bouhezza* > 30j fabriqués avec du lait de vache (Tébessa et Ain-Fakroun, OEB). 113
- Figure 28** Gel d'électrophorèse polyacrylamide à l'Urée (urée-PAGE) de la fraction azotée insoluble à pH 4,4 (ou dans l'eau) au cours de l'affinage de *Bouhezza* de chèvre, *Lben*, 15, 30, 45, 64, et 72 jours d'affinage de trois fabrication- Annexe3

	affinage F1, F2 et F3 dans le fromage traditionnel Algérien <i>Bouhezza</i> préparé au lait cru de chèvre.	
Figure 29	Evolution de la libération des AAL dans <i>Bouhezza</i> des fabrications de ferme F4, F5 et F6.	114
Figure 30	Evolution du taux de MG et de lipolyse dans différentes fabrications de ferme de <i>Bouhezza</i> de chèvre au cours de l'affinage.	115
Figure 31	Histogramme représentant les proportions des différentes AGL trouvés dans les échantillons de <i>Bouhezza</i> de chèvre avant et après ajout de lait cru ; a -Fabrication expérimentale (F1), et de ferme b - de Tébessa (F4) et c - d'Oum El-Bouaghi (F7).	120
Figure 32	Description sensorielle du <i>Bouhezza</i> de vache et de chèvre non épicé.	121
Figure 33	a et b . Diagramme de score des deux premiers composants principaux des données volatiles issues de l'analyse GC-MS du fromage <i>Bouhezza</i> au lait cru de chèvre.	139
Figure 34	Graphes représentant l'analyse du profil de texture (TPA) des échantillons de fromage <i>Bouhezza</i> de chèvre (a.F1) expérimentale et de ferme (b.F4 et c.F7).	142

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des Tableaux

Liste des Figures

Sommaire

INTRODUCTION	1
Partie A. Revue Bibliographique	
1. Lait	4
2. Définition de lait de chèvre	4
2.1. Comparaison de la composition chimique du lait de chèvre et du lait de vache.....	4
2.2. Principaux constituants du lait de chèvre.....	4
2.3. Propriétés organoleptiques	6
2.4. Microbiologie du lait de chèvre	7
2.5. Bactéries lactiques	8
3. Fromage	12
3.1. Historique	12
3.2. Définition du fromage	12
3.3. Composition du fromage	13
3.4. Principales étapes de la fabrication du fromage	15
3.4.1. Coagulation.....	15
3.4.2. Egouttage.....	16
3.4.3. Salage.....	16
3.4.4. Affinage	17
4. Affinage des fromages	18
4.1. Qualité microbiologique du fromage	18
4.2. Microflore du fromage.....	18
4.2.1. Micro-organismes utiles et facteurs de l'affinage	19
4.3. Biochimie de l'affinage	20
4.3.1. Fermentation du lactose.....	20
4.3.2. Protéolyse et événements connexes.....	21
4.3.3. Lipolyse.....	23
4.4. Propriétés aromatiques et structurales des fromages et méthodes d'analyses.....	24
4.4.1. Profil aromatique des fromages.....	24
4.4.2. Méthodes d'analyses	25
5. Classification des fromages	26

6. Notion de terroir et appellation d'origine	26
Partie B. Matériels et Méthodes	
1. Enquête	28
1.1. But et Objectifs	28
1.2- Population ciblée	28
1.3- Déroulement de l'enquête.....	28
1.4- Description du questionnaire	28
2. Fabrication de <i>Bouhezza</i>	29
2.1. Sac ou contenant de la fabrication, outre (<i>Djeld</i>).....	29
2.2. Peaux utilisées dans les fabrications.....	29
2.3. Procédé traditionnel de fabrication du fromage <i>Bouhezza</i>	30
2.3.1. Matières premières utilisées dans la fabrication	30
2.3.2. Fabrication proprement dite du fromage <i>Bouhezza</i> de chèvre.....	31
2.4. Calcul du rendement fromager	32
3. Prélèvement et origine des échantillons de matière première et de fromage	32
4. Caractérisations physico-chimiques	34
4.1. pH et acidité titrable	34
4.2. Matière sèche(MS).....	34
4.3. Cendres	34
4.4. Matière grasse	35
4.5. Chlorures totaux	35
4.6. Caractérisation physico-chimique du lactosérum.....	35
5. Caractérisation microbiologique	36
5.1. Flores dénombrées et recherchées	36
5.1.1. Flore totale aérobie mésophile (FTAM).....	36
5.1.2. Bactéries lactiques.....	36
5.1.3. Flore halotolérante.....	36
5.1.4. Flore de contamination.....	37
5.1.5. Germes pathogènes	38
5.2. Recherche et caractérisation de souches ayant une activité protéolytique.....	38
5.2.1. Test sur le lait écrémé UHT du commerce, pour caractérisation de la protéolyse.....	38
5.2.2. Electrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence SDS (SDS-PAGE).....	39

5.2.3. Identification génétique et moléculaire des LAB par PCR-TTGE et séquençage de l'ADNr16S des isolats protéolytiques.....	40
6. Suivi de l'affinage.....	42
6.1. Matières et fractions azotées	42
6.1.1. Méthode de LOWRY	42
6.1.2. Méthode de KJELDAHL.....	43
6.1.3. Méthodes Electrophorétiques : gel SDS-PAGE et Urée-PAGE	44
6.1.3.1. Suivi de la protéolyse par Electrophorèse sur gel SDS-PAGE.....	44
6.1.3.2. Electrophorèse sur gel Urée-PAGE de la fraction insoluble des caséines	45
6.1.4. Méthodes chromatographiques.....	46
6.1.4.1. Profil peptidique par RP-HPLC de la fraction soluble à pH 4,4.....	46
6.1.4. Dosage des acides aminés libres dans le fromage <i>Bouhezza</i>	47
6.2. Matières lipidiques.....	47
6.2.1. Extraction par la méthode de Folch.....	48
6.2.2. Extraction par la méthode du Soxhlet	48
6.2.3. Evaluation quantitative de la lipolyse.....	50
6.2.4. Dosage des Acides Gras Libres (AGL) par CPG dans <i>Bouhezza</i> de chèvre.....	51
7. Caractérisation sensorielle et aromatique	51
7.1. Analyse sensorielle	51
7.2. Dosage et détermination des substances aromatique par GC-MS.....	52
8. Caractérisation texturale.....	53
9. Analyse statistique.....	54

Partie C. Résultats et Discussion

1. Résultats de l'enquête.....	55
1.1. Renseignements sur les familles enquêtées.....	55
1.2. Fabrication traditionnelle du fromage <i>Bouhezza</i>	55
1.2.1. Objectifs de la fabrication.....	58
1.2.2. Préparation de la peau (<i>Chekoua ou Djeld</i>).....	58
1.2.3. Fabrication du fromage de terroir.....	67
1.2.4. Mode de consommation.....	81
1.3. Conclusion de l'enquête.....	81
2. Caractéristiques physico-chimiques	83
2.1. Physico-chimie de la matière première de <i>Bouhezza</i>	83
2.2. Physico-chimie de la pâte fromagère de <i>Bouhezza</i>	84

2.3. Physico-chimie du lactosérum.....	89
2.4. Rendement fromager de <i>Bouhezza</i>	91
3. Caractéristiques microbiologiques	92
3.1. Matière première (Lait cru, Lben et Lben salé).....	92
3.2. Flore totale aérobie mésophile, Levures et Moisissures.....	93
3.3. Bactéries lactiques (Streptocoques lactiques (Lactocoques) et Lactobacilles).....	94
3.4. Flore halotolérante.....	95
3.5. Flore de contamination.....	96
3.6. Germes pathogènes	97
3.7. Caractérisation de souches ayant une activité protéolytique par SDS (SDS-PAGE)	98
3.8. Ecosystème et identification génétique des LAB du fromage par PCR-TTGE	100
<i>Conclusion partielle</i>	103
4. Niveau de l'affinage	104
4.1. Evolution des matières azotées.....	104
4.1.1. Protéines	104
4.1.2. Fractions azotées	105
4.1.3. Suivi de la protéolyse et produits de dégradation par Electrophorèse sur gel SDS-PAGE et Urée-PAGE et RP-HPLC.....	106
4.1.3.1. Suivi par électrophorèse sur gel SDS-PAGE.....	106
4.1.3.2. Suivi du profil peptidique par RP-HPLC.....	107
4.1.3.3. Suivi de la fraction insoluble des caséines par Urée-PAGE	109
4.1.3.4. Acides aminés libres dans le fromage <i>Bouhezza</i>	114
4.2. Suivi de l'évolution de la lipolyse	115
4.3. Acides Gras Libres (AGL) par CPG dans <i>Bouhezza</i> de chèvre.....	117
5. Caractéristiques sensorielles et profil aromatique du fromage <i>Bouhezza</i>	121
5.1. Analyse sensorielle et descripteurs sensoriels du fromage <i>Bouhezza</i>	121
5.2. Dosage et détermination des substances aromatique et volatiles par GC-MS.....	122
6. Suivi du Profil de la Texture du fromage <i>Bouhezza</i>	141
<i>Conclusion partielle</i>	144
Conclusion	145
Références bibliographiques	148
Annexes	

Introduction

Introduction

La fabrication du fromage est l'un des exemples classiques de conservation des aliments, datant de 6000-7000 avant JC. La préservation des constituants les plus importants du lait, la matière grasse et les protéines à travers le fromage, exploite deux des principes classiques de la conservation des aliments, à savoir : la fermentation lactique et la réduction de l'activité de l'eau. L'établissement d'un faible potentiel redox et la sécrétion d'antibiotiques par les microorganismes contribuent à la stabilité au stockage du fromage (**Fox, 1987**).

Les méthodes traditionnelles de fabrication du fromage ont été adaptées par la nécessité d'une plus grande efficacité dans la fabrication et la maturation du fromage tout en conservant les caractéristiques d'une variété de fromage donnée. La nécessité d'une meilleure compréhension des caractéristiques du fromage par l'application de principes scientifiques a également été stimulée par l'utilisation accrue du fromage comme ingrédient dans d'autres aliments (**Olson, 2004**).

Le manque de données sur les pratiques fromagères algériennes qui ne sont pas répertoriées laisse supposer que les produits du Terroir algérien sont méconnus, et méritent qu'une place leur soit accordée dans la recherche scientifique.

Alors que l'Algérie vit de nos jours une ouverture de son marché, avec avènement de l'industrialisation et l'implantation d'un nombre appréciable d'industries laitières, beaucoup de produits de terroir risquant de disparaître, continuent à être fabriqués par-ci et par-là à petite échelle ou plus simplement pour l'autoconsommation familiale. Ils se sont cantonnés dans des régions très limitées et délimitées, et peu de familles ont gardé ces pratiques traditionnelles. La connaissance de ces produits locaux et leur découverte à nouveau à travers le pays ne peut être que d'un grand intérêt pour retrouver le savoir-faire ancestral qu'ils contiennent et à les resituer à leur vraie valeur.

Ce fromage est préparé de façon traditionnelle par des ménagères des zones rurales dans des peaux d'animaux surtout en printemps-été. *Bouhezza* a existé depuis longtemps et est très répandu dans la région *Chaouia*. C'est un fromage fermier à égouttage spontané et à pâte épicée ou non, non moulée, préparé à l'origine à partir de lait de chèvre, de brebis, et plus récemment à partir de lait bovin pour sa plus grande abondance (**Zaidi, Zertal et Zidoune, 2000**), baratté et écrémé « *Lben* » (**Hellal, 2001**).

La fabrication de *Bouhezza* nécessite l'utilisation d'une outre (peau de chèvre ou de brebis). Le salage, l'égouttage et l'affinage sont réalisés simultanément dans une outre perméable traitée (**Aissaoui Zitoun, 2004**). Au stade de la consommation, le fromage est assaisonné avec

incorporation du piment rouge. Le fromage a un goût acidulé fort caractéristique (**Zaidi, Zertal et Zidoune, 2000**).

L'intérêt scientifique porté à ce produit, est venu du souci de sa disparition et afin de le protéger, le valoriser et lui redonner l'intérêt et la place qu'il mérite dans l'apport nutritif et nutritionnel qu'il fournit à la population, surtout rurale, qui fait partie de ses habitudes alimentaire. Éventuellement la possibilité d'en faire un produit labellisé à appellation d'origine contrôlée et/ou protégée ou à indication géographique.

L'étude de ce produit laitier fabriqué à partir de lait de chèvre est une suite dans les travaux de l'équipe TEPA afin de compléter la caractérisation du fromage déjà abordée en partant de lait bovin. Notre contribution est sa caractérisation des points de vue ; physico-chimique, biochimique, microbiologique, organoleptique et sensoriel, et ainsi que la confirmation de sa classification vis-à-vis de fromages du monde.

Le produit auquel nous nous sommes intéressés est un fromage de terroir dénommé *Bouhezza* issu de la région du « *Chaouia* » à l'Est de l'Algérie. Ce fromage est l'un des produits traditionnels étudiés par l'équipe de recherche Transformation et Elaboration des Produits Agro-Alimentaires (T.E.P.A.) de Laboratoire de Nutrition et de Technologie Alimentaire (L.N.T.A.) de notre Institut (I.N.A.T.A-A.)

Le *Bouhezza*, est étudié depuis près de deux décennies avec des enquêtes et des caractérisations physico-chimiques et microbiologiques sur des productions de ferme et de laboratoire afin de contrôler le processus de fabrication et le confirmer à partir de lait de vache et de mélange. Au sein de l'équipe TEPA du L.N.T.A. de l'I.N.A.T.A-A. Université Mentouri Constantine1, des travaux ont été réalisés et publiés, sur *Bouhezza* de vache et de chèvre (**Zaidi, Zertal et Zidoune, 2000 ; Aissaoui Zitoun, 2004 ; Aissaoui Zitoun et Zidoune, 2006 ; Aissaoui Zitoun et al., 2011 ; Aissaoui Zitoun et al., 2012 ; Medjoudj, Zidoune et Hayaloglu, 2017**). D'autres sont en cours.

La contribution scientifique était d'apporter les réponses à beaucoup de questions sur ce produit laitier.

Notre travail expérimental est une contribution à la caractérisation du fromage traditionnel *Bouhezza* constituée de trois volets : une enquête sur terrain ; une fabrication du fromage *Bouhezza* à partir de lait de chèvre avec caractérisation par des analyses physico-chimiques et biochimiques, microbiologiques au cours de sa fabrication, et analyse sensorielle.

La méthodologie, les outils d'analyse et techniques d'investigation utilisés sont comme suit :

- Enquêtes sur terrain auprès de familles qui connaissent et fabriquent ce fromage traditionnel ;

- Analyses physico-chimiques et biochimiques ;
- Analyses microbiologiques avec isolement et identification des bactéries lactiques par des méthodes classiques et de PCR-TTGE ;
- Estimation de l'affinage par :
 - recherche de la protéolyse sur les échantillons de fromage, isolement et identification d'isolats de bactéries lactiques protéolytiques par analyses avec des méthodes de séparation électrophorétiques.
 - détermination du profil peptidique par RP HPLC ;
 - analyse de la matière grasse et suivi de la lipolyse par CPG sur des échantillons de fromage ;
 - détermination du profil aromatique avec identification des composés volatiles par GC/MS et,
- Analyse sensorielle

Ces analyses sont réalisées tout au long de sa fabrication-maturation (de sept à neuf semaines).

Revue Bibliographique

1. Lait

« Le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum » (**Leseur et Melik, 1990**).

Le lait cru est un produit intéressant sur le plan de la nutrition puisqu'il ne subit aucun traitement d'assainissement lui permettant d'assurer une meilleure conservation. En raison des risques qu'il peut présenter pour la santé, sa production et sa commercialisation doivent être sévèrement contrôlée (**Leseur et Melik, 1990**). En effet, il doit :

- provenir d'animaux reconnus indemnes de brucellose et de tuberculose (maladies transmissibles de l'animal à l'homme) dans le cadre des prophylaxies collectives obligatoires ;
- provenir d'exploitations bien implantées ;
- être préparé (traite, conditionnement, stockage) dans des conditions hygiéniques satisfaisantes ;
- satisfaire à des critères microbiologiques déterminés (témoins de contamination) jusqu'à la date limite de consommation (**Leseur et Melik, 1990**).

2. Définition de lait de chèvre

Le lait de chèvre frais est un liquide légèrement plus blanc, contrairement au lait de vache, il ne contient pas de caroténoïdes, composé de lipides en émulsion sous forme de globules, de caséines en suspension colloïdale, de protéines du sérum en solution colloïdale, de lactose et de minéraux en solution (**Amiot et al., 2002**). Il est propre, sans grumeaux, son odeur est peu marquée ou inexistante lorsqu'il est proprement récolté, de saveur douceâtre, légèrement sucrée (**Badis et al., 2005**), agréable, plutôt neutre par contre après stockage au froid, il acquiert une saveur caractéristique de caprin (**Luquet, 1985**).

2.1. Comparaison de la composition chimique du lait de chèvre et du lait de vache

La composition des laits des différentes espèces de mammifères, varie d'une espèce à l'autre. Ils sont constitués des mêmes types de composants. Les principales propriétés physico-chimiques du lait de chèvre sont le pH 6,45-6,60 et, une acidité titrable de 14-18° Dornic (**Croguennec, 2008**).

2.2. Principaux constituants du lait de chèvre

Le lait de chèvre comme tous les laits ; renferme les différents composants : eau, protéines, lactose, matières grasses, sels minéraux, oligo-éléments et vitamines en quantités plus ou moins différentes de celles du lait de vache (Tableau 1).

Tableau 1. Composition du lait de différentes espèces selon **Amiot et al., (2002)**

Nutriment	Vache	Humain	Chèvre	Brebis
Eau (g/100g)	87,27	87,58	86,68	80,71
Protéines (g/100g)	3,3	1	3,6	6
Caséines	2,7	0,6	2,87	4,17
Lactosérum	0,6	0,4	0,73	1,83
Matière grasse	3,3	4,4	4,1	7
Lactose	4,7	6,9	4,4	5,4
Minéraux	0,7	0,2	0,8	1
Calcium (mg/100g)	119	32	134	193
Phosphore	93	14	111	158
Magnésium	13	3	14	18
Potassium	152	51	204	136
Vitamines				
Riboflavine	0,16	0,04	0,14	0,35
Vit. B12 (µg/100g)	0,36	0,04	0,06	0,71

2.2.1. Eau

C'est l'élément le plus important du point de vue quantitatif, elle est légèrement inférieure à celle du lait de vache. L'eau représente environ 81 à 87% du volume du lait, elle se trouve sous deux formes ; l'eau libre (96% de la totalité) et l'eau liée (4% de la matière sèche) (**Ramet, 1985**).

2.2.2. Protéines

La teneur en azote non protéique du lait de chèvre est légèrement supérieure, le pourcentage des caséines dans la matière azotée du lait de chèvre est inférieur à celui du lait de vache. Ce fait a une répercussion sur le pourcentage de caséine d'environ 2,3%, qui donne un rendement fromager inférieur à celui du lait de vache (**Amiot et al., 2002**). Les principaux types de caséines sont identiques, mais, le lait de chèvre contient une proportion plus faible de α -caséine, en particulier la caséine- α 1 et une proportion plus élevée en β -caséine (**Amiot et al., 2002 ; Medina & Munez, 2004**). Ce faible taux de caséine- α 1 explique que le fromage de chèvre a un goût amer moins prononcé puisque ce sont les peptides provenant de l'hydrolyse de cette protéine qui donnent le plus d'amertume (**Amiot et al., 2002**).

Les principales protéines du sérum sont identiques, soit l' α -lactalbumine, la β -lactoglobuline et les immunoglobulines. Par contre, la teneur en α -lactalbumine est supérieure dans le lait de chèvre alors que la teneur en β -lactoglobuline est inférieure (**Amiot et al., 2002**).

2.2.3. Glucides

Le lactose est le sucre caractéristique du lait, son pourcentage est légèrement inférieur dans le lait de chèvre, environ 4,4% comparativement à 4,8% pour le lait de vache (**Amiot et al., 2002**).

2.2.4. Matière grasse (MG)

Le pourcentage de matière grasse est sensiblement le même que dans le lait de vache. La matière grasse du lait de chèvre ne contient pas de caroténoïdes, raison de sa couleur plus blanche. Ce lait est composé de lipides en émulsion sous forme de globules dont le pourcentage en matière grasse (41g /L) est sensiblement le même que dans le lait de vache, mais les globules sont légèrement plus petit ; le diamètre moyen est d'environ 2 µm comparativement à 3-4µm pour le lait de vache. En raison de cette petite taille et d'un pourcentage plus faible d'agglutinine dans leurs membranes externes les globules de gras ont moins tendance à s'agglomérer et les matières grasses se séparent très peu par gravité (**Amiot *et al.*, 2002**).

Les triglycérides contiennent un pourcentage plus élevé d'acides gras contenant de six à dix atomes de carbones, soit les acides caproïque, caprylique et caprique. Ceux du lait de chèvre sont plus sujets à la lipolyse, laquelle provoque l'apparition d'une odeur rance (**Amiot *et al.*, 2002 ; Jeantet *et al.*, 2008**).

2.2.5. Minéraux

La minéralisation dans le lait de chèvre est plus importante que celle du lait de vache, avec une teneur plus élevée en chlore qui est deux fois plus importante que celle du lait de vache. Le lait de chèvre est plus riche en Potassium et Calcium que le lait de vache. On rapporte un pourcentage de sodium et de citrates légèrement inférieur dans le lait de chèvre (**Amiot *et al.*, 2002**).

2.2.6. Vitamines

La composition vitaminique du lait de chèvre est comparable à celle du lait humain mais, il se distingue par des teneurs supérieures en vitamines B1, B2, B3, B6 et B8, il est très riche en vitamine B3 par rapport au lait de vache, alors qu'il est particulièrement plus pauvre en vitamines C, D, pyridoxine, B12 et acide folique. Le manque de ces deux dernières vitamines peut entraîner l'anémie chez les nourrissons alimentés au lait de chèvre (**Amiot *et al.*, 2002**).

Enfin, de nombreuses sources mentionnent la valeur thérapeutique du lait de chèvre depuis l'avant Jésus-Christ. En effet le traitement de troubles de nutrition des bébés, d'ulcères d'estomac, d'arthrite, d'eczéma et d'allergie (**Amiot *et al.*, 2002**).

2.3. Propriétés organoleptiques

➤ **Couleur** : La couleur du lait a une signification car le consommateur la considère comme un paramètre de qualité. La couleur blanche opaque du lait est due à la dispersion des globules gras, micelles de caséine et le phosphate de calcium. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la taille et au nombre de ces particules (**Fox *et al.*, 1992**).

➤ **Odeur** : Le lait fixe les odeurs de l'animal grâce à la matière grasse qu'il contient, l'odeur caractéristique du lait est liée aussi à l'ambiance de la traite, à l'alimentation de l'animal, et à la conservation du lait (**Fredot, 2006**).

➤ **Saveur** : La saveur du lait est légèrement sucrée et d'odeur peu accentuée (**Veisseyre, 1979**). Elle varie en fonction de la température de dégustation et de l'alimentation de l'animal (**Fredot, 2006**).

2.4. Microbiologie du lait de chèvre

Le lait de chèvre se caractérise par une résistance à la prolifération bactérienne qui est élevée dans les premières heures de son existence. Ceci est lié d'une part à l'activité immunologique propre de ce lait, d'autre part, à sa minéralisation qui est plus importante que celle du lait de vache (**Lemens, 1985**), notamment le NaCl qui a une action stimulante sur la production de mésentéroïne-5. Cette dernière est une bactériocine produite par une souche de bactérie lactique présente particulièrement dans le lait de chèvre, dont le but antimicrobien est dirigé vers *Listeria monocytogenes* (**Hechard, 1992**).

La souche *Enterococcus faecium* F-420 a été isolée de lait cru de chèvre, et a été sélectionnée pour sa capacité d'inhiber *Listeria monocytogenes* et autres souches de genre *Enterococcus*. Cette souche et sa bactériocine montrent des potentialités très intéressantes pour leur application de lutte contre *Listeria monocytogenes* dans le "Jben" de lait de chèvre élaboré de façon artisanale et dans des conditions hygiéniques non contrôlées (**Achemchem et al., 2004**).

Le lait se contamine par des apports microbiens de diverses origines :

- Coliformes, entérocoques, *Clostridium*, éventuellement Entérobactéries pathogènes (*Salmonella, Shigella, Yersinia*), etc. à partir des fèces et téguments de l'animal.
- *Streptomyces, Listeria*, bactéries sporulées, spores fongiques, etc. à partir du sol.
- Flore banale variée, en particulier lactobacilles, *Clostridium butyriques* (ensilages) par les litières et aliments.
- Flores diverses dont *Pseudomonas*, bactéries sporulées, etc. de l'air et eau.
- Microcoques, levures, et flore lactique avec lactobacilles, streptocoques (*Streptococcus, Lactococcus, Enterococcus*), *Leuconostoc*, etc. de l'équipement de traite et de stockage du lait. Cette flore est souvent spécifique d'une usine ;
- Staphylocoques dans le cas de traite manuelle, mais aussi germes provenant d'expectoration, de contaminations fécales, etc. des manipulateurs.
- des vecteurs divers Insectes en particulier : flore de contamination fécale (**Guiraud, 2003**).

2.5. Bactéries lactiques

2.5.1. Définition

Le groupe des bactéries lactiques réunit plusieurs genres caractérisés par leur capacité à fermenter les glucides en produisant de l'acide lactique. La fermentation est dite : homolactique si l'acide lactique est pratiquement le seul produit formé ce qui entraîne une rapide baisse du pH du milieu. Elle est principalement réalisée par les bactéries du genre *Streptococcus*, de nombreuses espèces de *Lactobacillus* et certains *Bacillus* et hétérolactique si d'autres composés sont aussi présents : acide acétique, éthanol, CO₂ seule une partie du substrat est consacrée à d'autres voies fermentaires. Elle est effectuée par les bactéries du genre *Leuconostoc* et nombreuses espèces de *Lactobacillus*. Selon le mode de fermentation obligatoire ou préférentiel, on parle de bactéries homofermentaires ou hétérofermentaires. Certaines bactéries homofermentaires sont aussi capables de fermentation hétérolactique dans des conditions de croissance non optimales ou selon la nature du sucre utilisé (**Leveau et Bouix, 1993**).

2.5.2. Caractéristiques

Les bactéries lactiques présentent d'autres caractéristiques communes qui expliquent leur regroupement :

1. Ce sont des bactéries Gram-positives, immobiles, jamais sporulées, catalase-négative, oxydase-négative, nitrate réductase négatives ;
2. Leur capacité de biosynthèse est faible, sont polyauxotrophes pour divers acides aminés, des bases nucléiques, des vitamines et des acides gras mais aussi leur métabolisme fermentaire : incapables de synthétiser le noyau hème des porphyrines, elles sont dépourvues de cytochromes et en conséquence inaptes à toute respiration aérobie ou anaérobie ;
3. Ce sont des bactéries anaérobies facultatives : microaérophiles, capables de fermentation en aérobiose comme en anaérobiose (**Leveau et Bouix, 1993**).

Il existe deux types de ferments lactiques : les mésophiles, composés de bactéries dont la température optimale de croissance est proche de 30°C et les thermophiles, pour lesquels la température optimale se situe entre 37 et 43°C (**Oteng Gyang, 1984**).

a. Caractères morphologiques

Groupe hétérogène, les bactéries lactiques sont représentées par plusieurs genres d'importance d'ailleurs différente. Leurs cellules sont soit des coques, soit des bacilles. (**Leveau et Bouix, 1993**).

- **Coques ou les cocci** : sont des petites sphères plus ou moins ovoïdes, de 0,5 à 1,5 µm de diamètre dont la division peut engendrer des paires, des tétrades, des chaînettes ou des amas.

C'est le cas de *Streptococcus*, mais aussi de *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* (Leveau et Bouix, 1993).

▪ **Bacilles** : sont des petits bâtonnets plus ou moins allongés, de 0,5 à 2µm de diamètre et de 1,5 à environ 10µm de long, qui se présentent par paires ou en chaînettes de longueur variable. C'est le cas de *Lactobacillus* (Leveau et Bouix, 1993).

Ils se distinguent en plus par leur type fermentaire : homolactique ou hétérolactique. A ces genres, a été ajouté récemment le genre *Bifidobacterium* (Leveau et Bouix, 1993).

b. Caractère physiologique

Les bactéries lactiques sont utilisées pour la fermentation d'un grand nombre de produits d'origine animale ou végétale. Seuls les cinq genres *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Streptococcus* sont communément propagés dans les salles à ferments des industries laitières. Le rôle principal des bactéries lactiques est la production d'acide lactique qui influence la texture, le goût et la qualité microbiologique des produits fermentés. En effet, la production d'acide facilite la coagulation des protéines par la présure ainsi que la synérèse. L'abaissement du pH limite aussi la croissance des bactéries indésirables (Gilliland, 1985).

c. Habitat

Les bactéries lactiques sont des microorganismes très exigeants du point de vue nutritionnel. On les trouve associées à des environnements particulièrement riches. D'une manière générale, les bactéries lactiques colonisent des milieux naturels variés tels que la surface des végétaux, les muqueuses des mammifères (intestin, bouche, vagin), mais aussi dans les produits laitiers et dérivés (yaourt, fromage), viande et produits carnés ou boissons fermentés et jus de fruits (Leveau et Bouix, 1993).

d. Bactéries lactiques utilisées en fromagerie

Elles appartiennent principalement à trois genres : *Lactobacillus*, *Lactococcus* et *Streptococcus* qui se différencient, entre autre, par leur activité acidifiante. Il existe cependant de grandes différences d'activité acidifiante entre espèces d'un même genre et entre souches de la même espèce. Ces différences sont naturellement utilisées par le fromager pour obtenir le degré d'acidification attendu pour chaque type de fromage.

□ **Lactobacilles.** Les lactobacilles sont des agents de fermentation lactique, utilisés dans de nombreuses industries, sont des bacilles souvent allongés, parfois groupés en paires ou en chaîne. Les lactobacilles exigent pour leur développement des milieux bien adaptés, riches en acides

aminés, vitamines, acides gras, ils sont acidophiles, ils ne sont jamais pathogènes et sont des agents de surissement (**Guiraud, 1998**).

Les fromages frais subissent essentiellement l'action de germes d'arôme comme *Leuconostoc cremoris* et *Lc. diacetylactis*. On rencontre aussi dans certains cas *Leuconostoc citrovorum*.

Les fromages à pâte molle présentent une fermentation à *Lactococcus lactis*, avec intervention de ferments d'arôme : *Lc. cremoris*, *Lc. diacetylactis* et de lactobacilles (surtout *Lactobacillus casei*, mais aussi *Lb. plantarum*, *brevis* et *buchneri*). Il faut noter que les lactobacilles hétérofermentaires et les *Leuconostoc* sont indésirables dans les fromages à pâte molle sans ouverture.

Les fromages à pâte pressée subissent une fermentation à *Lactococcus lactis* et *cremoris* avec intervention de lactobacilles et de *Leuconostoc* (**Leclerc et al., 1976 ; Guiraud, 1998**).

Ils sont utilisés pour leur activité acidifiante, sont thermophiles et appartiennent au groupe I : *L.delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L.delbrueckii* subsp. *Lactis* et *L.helveticus*. Généralement, *L.delbrueckii* subsp. *bulgaricus* acidifie plus rapidement que les deux autres *lactobacillus*, mais il est incapable d'utiliser le galactose et produit du D-lactate. Il se développe relativement bien entre 30 et 40°C, mais résiste assez mal à des températures supérieures à 50°C. À température optimale de croissance, comprise entre 42 et 45°C, *L.helveticus* pousse généralement lentement, mais il acidifie fortement le milieu, dont il peut abaisser le pH jusque vers 3,5. *L.delbrueckii* subsp. *Lactis* et *L.helveticus* sont principalement utilisées pour la fabrication des fromages à pâte pressée cuite, alors que *L.delbrueckii* subsp. *bulgaricus* peut être employé dans plusieurs autres types de fromages.

Les lactobacilles hétérofermentaires facultatifs groupe II, constituent une part importante de la flore lactique secondaire se développant au cours de l'affinage des fromages. Leur utilisation permet de réenrichir une flore dont l'appauvrissement résulte de l'amélioration de la qualité microbiologique des laits et des progrès de l'hygiène en fromagerie. On lui attribue généralement un rôle dans la formation de l'arôme des fromages. De plus, certaines souches sont capables de produire des bactériocines inhibant, par exemple, des bactéries d'altération telles que le *Clostridia*. Les principales espèces utilisables comme ferments sont *L.casei*, *L. plantarum* et *L.paracasei*.

❑ **Lactocoques.** *Lactococcus lactis* est la seule espèce de lactocoque utilisée industriellement en fromagerie. C'est une bactérie lactique mésophile dont la température optimale de croissance est comprise entre 30 et 35°C, mais elle est capable de se développer assez bien entre 20°C et 30°C.

□ **Streptocoques.** Ils constituent la famille des Streptococcaceae qui regroupe des coques, groupés en paires ou surtout en chaînes de longueur variable (**Guiraud, 1998**).

Streptococcus thermophilus est le seul streptocoque habituellement utilisé en fromagerie. *S.thermophilus* acidifie rapidement le lait, mais il n'abaisse pas le pH au-dessous de 4,8. Cette espèce est incapable d'utiliser le galactose, et elle produit uniquement du L-lactate. Bien que thermophile, sa température optimale de croissance étant comprise entre 40 et 44°C, elle est capable de se développer entre 20 et 30°C, mais beaucoup plus lentement. Elle résiste bien à des températures comprises entre 50 et 55°C. Elle est maintenant utilisée dans de nombreuses technologies fromagères, toujours en association avec d'autres espèces.

□ **Leuconostocs.** D'emploi moins fréquent. Ils sont essentiellement utilisés pour leur production de composés aromatiques (diacétyle, acétoïne) et de CO₂ utile pour assurer l'ouverture de certains fromages.

e. Différentes utilisations des bactéries lactiques en alimentation

- **Produits laitiers**

Fromages, yaourts, laits fermentés, kéfirs : *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*, *cremoris* et biovar *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Ln. Lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus helveticus*, *Lb. acidophilus*, *Lb.casei*, *Lb.kefir*, *Lb. hilgardii*.

- **Fermentation des végétaux**

« Pickles », choucroute, « miso », « gari », olives : *Lactobacillus plantarum*, *Lb. brevis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *pediococcus pentosaceus*, *pediococcus damnosus*.

- **Pains spéciaux aux levains**

Lactobacillus plantarum, *Lb.brevis*, *Lb.fermentum*, *Lb.sanfrancisco*.

- **Fermentation des produits carnés**

Carnobacterium divergens, *Cb. Piscicola*, *Lactobacillus sake*, *Lb. curvatus*.

- **Fermentation des produits de la pêche**

Pediococcus halophilus, *Lactobacillus buchneri*, *Lb. Brevis*, *Leuconostoc mesenteroides*

- **Boissons**

Vin, bière, cidre : *Leuconostoc oenos* (*Oenococcus oeni*), *Lactobacillus delbrueckii*

3. Fromage

3.1. Historique

Le lait se consomme à l'état nature, et peut également subir différentes biotransformations qui contribuent à élargir considérablement ses qualités sensorielles et nutritionnelles. L'un des dérivés de ces transformations est le fromage, de l'ancien français «fromage» (du latin *formaticus*, c'est-à-dire fait dans une forme) (**St-Gelais et Tirard-Collet, 2002**).

La première utilisation d'un fromage comme aliment est inconnue. Les ethnologues tiennent la preuve que l'homme connaît depuis longtemps le phénomène de coagulation du lait. Cependant, l'origine exacte de la transformation du lait en fromage est incertaine. On s'entend pour dire que le fromage serait originaire du Sud-Ouest Asiatique et daterait d'environ 8000 ans (**St-Gelais et Tirard-Collet, 2002**).

3.2. Définition du fromage

La définition «fromage» est réservée au produit fermenté ou non, affiné ou non, obtenu à partir des matières d'origine exclusivement laitières (lait, lait partiellement ou totalement écrémé, babeurre) utilisées seules ou en mélange et coagulées en tout ou en partie avant égouttage ou après élimination partielle de la phase aqueuse (**Brulé et al., 2007**).

Les fromages sont produits par la coagulation d'un produit laitier assortie d'un égouttage. De la matière grasse d'origine laitière peut être éventuellement ajoutée. La coagulation suivie d'égouttage correspond aux méthodes traditionnelles (**Leyral, 2003**).

Le fromage, selon la norme du *codex alimentarius* (STAN A-6 – 1978 Amendé en 2006) ; est le produit affiné ou non affiné, de consistance molle ou semi dure, dure ou extra dure obtenu après coagulation du lait, lait écrémé, lait partiellement écrémé, crème, crème de lactosérum ou babeurre, seuls ou en combinaison, qui peut être enrobé et dans lequel le rapport protéines de lactosérum : caséines ne dépasse pas celui du lait. On obtient le fromage par coagulation complète ou partielle du lait grâce à l'action de la présure ou d'autres agents coagulants appropriés et par égouttage partiel du lactosérum résultant de cette coagulation ; on peut aussi faire appel à des techniques de fabrication entraînant la coagulation du lait de manière à obtenir un produit fini ayant des caractéristiques physiques, chimiques et sensorielles similaires à celles de la définition précédente (**St-Gelais et Tirard-Collet, 2002**).

Le fromage affiné est un fromage qui n'est pas prêt à la consommation peu après sa fabrication, mais qu'on doit maintenir pendant un certain temps à la température et dans les conditions nécessaires pour que s'opèrent les changements biochimiques et physiques caractéristiques du fromage (**St-Gelais et Tirard-Collet, 2002**).

3.2.1. Définition du fromage de chèvre

La dénomination « fromage de chèvre » est réservée aux fromages de formes et poids variables préparés exclusivement avec du lait de chèvre. Ils doivent contenir au moins 45g de matière grasse pour 100g de fromage après complète dessiccation (Décret du 31/12/1988 de la république française, mise à jour Septembre 2001).

3.3. Composition du fromage

Malgré des points communs avec le lait, il existe des différences dues aux divers procédés de fabrication. Le poids sec varie avec l'intensité de l'égouttage et teneur en matières sèches.

-du lait : 12 à 13% ; -du fromage frais : 25% ; -du fromage à pâte dure : 65%

Lors de l'égouttage, il y a élimination plus ou moins grande de substance soluble : Ca⁺⁺ et autres (solubles), modifications subies par le fromage au cours de la maturation, disparition progressive des vitamines A, etc. Les vitamines comme les sels minéraux, sont plus concentrées à la périphérie des fromages surtout dans le fromage à moisissures internes (Apefebaum *et al.*, 2004). Une partie importante du lactose est éliminée lors de l'étape de l'égouttage (St-Gelais et Tirard-Collet, 2002).

La synthèse de vitamine (B₂, PP) par les micro-organismes responsables de la maturation de fromage au voisinage de la croûte, une partie d'une vitamine synthétisée va migrer vers l'intérieur du fromage. La caséine est en partie, partiellement transformée en peptone et en acides aminés (Apfelbaum *et al.*, 2004).

3.3.1. Micro-organismes responsables d'altération

Du fait même de leur composition et des conditions de production ; le lait et les produits laitiers peuvent être contaminés par des micro-organismes qui provoquent des transformations nuisibles à la qualité des produits par dégradation de leurs constituants (protéines, lipides et lactose) et/ou libération en leur sein de composés indésirables. Ces dégradation peuvent être dues à des bactéries, levures et moisissures et se traduisent par des défauts de goût, d'odeur, d'aspect et de texture. Le tableau 16 présente quelques exemples de microorganismes et de leurs altérations.

Tableau 2. Incidences dues à différents micro-organismes d'altération (Guiraud, 2003)

Micro-organismes	Incidences
Coliformes	Gonflement, défaut de gout (gout rance, protéases)
Bactéries butyriques (<i>Clostridium tyrobutyricum</i>)	Défaut de gout et d'ouverture "gonflement tardif"
Levures et moisissures, mucor, <i>Geotrichum candidum</i>	"Poil de chat" défaut d'aspect, mauvais goût, défaut de texture et de goût,

3.3.2. Micro-organismes responsables d'intoxication et de toxi-infection

Lors de la consommation des produits laitiers, on peut trouver des germes dangereux pour la santé du consommateur.

Les bactéries coliformes, aérobies anaérobies facultatifs fermentent le lactose avec production de gaz), ce sont des hôtes normaux de l'intestin de l'homme et des animaux. Leur présence indique habituellement une contamination par les matières fécales (le plus souvent une contamination d'origine fécale), certaines espèces sont pathogènes, responsables d'intoxication ou de toxi-infection.

Les streptocoques sont des coques, groupés en paires ou surtout en chaînes de longueur variable, ils sont aéro-anaérobies ou microaérophiles.

Les levures et moisissures, considérées comme des contaminants du lait (**Ramet, 1985**), prolifèrent de façon normale dans les produits acides. Leur dénombrement représente un bon paramètre d'appréciation de la capacité de conservation des produits laitiers de fermentation.

Les Salmonelles sont très largement répandus dans la nature, elles concernent particulièrement les populations avicoles. Elles sont présentes dans le tube digestif de l'homme et des animaux, qui contaminent le milieu extérieur par leurs excréments. Ces bactéries pathogènes spécifiques provoquent des maladies à la suite de l'absorption d'eau ou d'aliments contaminés par des excréments. Bien que leur présence soit rare dans les produits laitiers, leur recherche est systématique vu leurs implication dans de très graves toxi-infection des aliments notamment les produits laitiers.

Les salmonelles provoquent des toxi-infections alimentaires et des salmonelloses. Cette dernière est rencontrée dans tous les pays elle est isolée chez l'homme, les animaux et dans l'environnement, elle occupe la première place dans l'étiologie des toxi-infections alimentaires (**Prescott et al., 2004**).

La maîtrise de la contamination des produits laitiers par *Staphylococcus aureus* est un enjeu économique et sanitaire pour l'ensemble des filières au lait cru, notamment caprine. Ce germe provoquant une toxi-infection alimentaire (TIA), par ingestion d'une entérotoxine. Le tableau 17 présente les micro-organismes pathogènes et leurs effets.

Tableau 3. Effets des micro-organismes pathogènes (**Laurent et al., 1998**)

Micro-organismes	Effets
<i>Staphylococcus aureus</i>	Toxi-infection ou intoxication ; produire des enterotoxines (vomissements, diarrhée)
<i>Listeria monocytogenes</i>	Listériose
<i>E. coli</i> –entéropathogène, <i>E coli d'angines</i>	Intoxication
<i>Salmonella</i>	Fièvres typhoïdes ou paratyphoïdes

3.4. Principales étapes de la fabrication du fromage

Le fromage correspond à une véritable conserve alimentaire, obtenue grâce à l'action conjuguée de l'élimination de l'eau du lait et de la récupération des matières sèches. Le fromage peut être assimilé à une concentration des éléments majeurs du lait (protéines, matière grasse), réalisée par égouttage d'un coagulum obtenu par acidification et ou action d'une enzyme (le plus souvent la présure extraite de la caillette des jeunes bovins avant sevrage).

La transformation du lait en fromage comporte, pour la plus grande partie des fromages, trois étapes principales : la coagulation, l'égouttage et l'affinage (**St-Gelais et Tirard-Collet, 2002 ; Brule et al., 1997**).

3.4.1. Coagulation

La coagulation du lait correspond à des modifications physicochimiques et déstabilisation des micelles de caséines qui flocculent puis se soudent pour former un gel emprisonnant des éléments solubles du lait (**St-Gelais et Tirard-Collet, 2002**) sous l'action d'enzymes protéolytiques et (ou) de l'acide lactique, entraînant la formation d'un réseau protéique tridimensionnel appelé coagulum ou gel.

On distingue trois types de coagulation.

3.4.1.1. Coagulation acide

Les caséines précipitent à leur point isoélectrique ($pH_i = 4,6$) par acidification biologique progressive obtenue soit par fermentation lactique qui transforme le lactose en acide lactique soit par hydrolyse de la gluconolactone, conduit à la formation d'un gel lisse homogène (**Brule et Lenoir, 1987**) ou par acidification chimique (injection de CO_2 , addition de glucono- δ -lactone ou ajout de protéines sériques à pH acide) (**Jeantet et al., 2008**).

Ce type de gel, de par la solubilisation du phosphate de calcium colloïdal au cours de l'acidification, présente une bonne perméabilité mais une friabilité élevée, le manque de structuration du réseau (liaisons de faibles énergies de type hydrophobe) a pour conséquences une élasticité et une plasticité pratiquement nulles et une faible résistance aux traitements mécaniques (**Jeantet et al., 2008**).

3.4.1.2. Coagulation par voie enzymatique

le lait est transformé de l'état liquide à l'état de gel par action d'enzymes protéolytiques (**Jeantet et al., 2008**). Il y a un grand nombre d'enzymes protéolytiques, d'origine animale, végétale ou microbienne, qui ont la propriété de coaguler le lait (**St-Gelais et Tirard-Collet, 2002**).

3.4.1.3. Coagulation mixte

Elle résulte de l'action conjuguée de la présure et de l'acidification. La multitude de combinaisons conduisant à différents états d'équilibres spécifiques est à l'origine de la grande diversité des fromages à pâte pressée non cuite (**Jeantet et al., 2008**).

3.4.2. Egouttage

L'égouttage du caillé assure une déshydratation partielle du gel, obtenu par séparation d'une partie du lactosérum. Il correspond à une séparation physique entre solide et liquide. Le gel obtenu par la floculation des caséines étant instable, il se transforme rapidement à la suite de la contraction des micelles, ce qui provoque l'expulsion de la phase liquide hors du caillé.

Ce phénomène appelé synérèse permet de séparer le caillé, contenant la caséine et la matière grasse, du sérum qui contient le lactose, des minéraux et les protéines solubles du lait (**St-Gelais et Tirard-Collet, 2002**). L'égouttage peut être spontané ou amélioré par pressage, par découpage et par brassage (**Guiraud, 2003**).

Cette phase consiste en l'élimination plus ou moins grande du lactosérum emprisonné dans les mailles du gel formé par voie acide et/ou enzymatique (**Brule et al., 1997**). La séparation entre les phases solide et liquide, qui devient visible pendant la coagulation du lait, résulte de phénomènes physiques actifs (synérèse du gel) et passifs (la porosité et la perméabilité du gel). Dans un caillé, la porosité correspond aux vides occupés par la phase liquide. C'est donc une différence de volume entre le volume total et le volume solide. La porosité varie selon que les éléments solides, sont de même grosseur ou associés à des éléments grossiers ou fins. La perméabilité, c'est la libre circulation du lactosérum à l'intérieur du caillé (**St-Gelais et Tirard-Collet, 2002**).

3.4.3. Salage

Dans la plupart des fabrications, entre l'égouttage et l'affinage, se situe l'opération de salage qui représente à la fois un complément d'égouttage et un facteur important de la maîtrise de l'affinage par action sur l'activité de l'eau.

Le sel ajouté au fromage permet de rehausser la saveur finale mais il fait plus :

- il complète l'égouttage sous l'effet de la pression osmotique ;
- il arrête l'acidification du caillé et prévient une déminéralisation excessive de la pâte ;
- il contrôle le développement des bactéries nuisibles ou pathogènes et sélectionne le développement des micro-organismes utiles à l'affinage.

Trois méthodes de salage sont couramment utilisées. La plus simple consiste, après le démoulage, à saupoudrer ou à frotter régulièrement chacune des surfaces du fromage avec du sel. Cette technique à sec évite de mouiller la surface et permet de l'assécher et de faire la croûte. Par contre, elle entraîne une baisse de rendement et des fluctuations dans la teneur finale en sel. On l'utilise pour des fromages de type suisse, comme le comté ou le gruyère, et pour des fromages fermiers de chèvre. Une autre possibilité est la méthode en saumure (**St-Gelais et Tirard-Collet, 2002**).

3.4.4. Affinage

L'affinage se caractérise par des transformations biochimiques des constituants du caillé, essentiellement sous l'action d'enzymes microbiennes.

L'affinage correspond à une phase de digestion enzymatique des constituants protéiques et lipidiques du caillé égoutté (**Jeantet et al., 2008**), qui lui confèrera à la fin une texture et une saveur caractéristique selon le type de fromage recherché (**St-Gelais et Tirard-Collet, 2002**).

L'affinage est un processus biochimique complexe pour plusieurs raisons :

- D'une part, la matrice fromagère issue de la coagulation du lait et de l'égouttage du caillé présente une très grande hétérogénéité physico-chimique ;
- D'autre part, les enzymes intervenant dans l'affinage ont plusieurs origines : il peut s'agir d'enzymes endogènes du lait (plasmine, lipase, etc.), ajoutées au lait au cours de la fabrication (enzymes coagulantes, microorganismes) ou produites au cours de l'affinage par synthèse microbienne (bactéries, levures, moisissures) (**Jeantet et al., 2008**).

L'ensemble caillé et agents biologiques est un écosystème complexe et un bioréacteur hétérogène dont les paramètres ne sont pas toujours bien définis. L'affinage est dominé par trois grands phénomènes biochimiques :

_ La fermentation du lactose résiduel et consommation du lactate ;

_ L'hydrolyse de la matière grasse et des protéines (**Jeantet et al., 2008**) ; la lipolyse est un phénomène limité qui collabore véritablement à l'élaboration des caractères gustatifs des fromages. Ce sont principalement les lipases des moisissures et des microcoques qui sont les plus actives (**Alais et Linden, 1997**).

La protéolyse est un phénomène important et le plus complexe pendant l'affinage des fromages. Cette dégradation est réalisée par les systèmes enzymatiques des micro-organismes, les enzymes coagulantes et les enzymes du lait (**Courroye, 1987**).

_ La production d'arôme à partir des acides gras et acides aminés.

Ces transformations confèrent à la pâte fromagère des caractères nouveaux ; elles modifient son aspect, sa composition, sa consistance, simultanément, saveur, arôme et texture se développent (**Jeantet et al., 2008**).

La période d'affinage est longue, elle dure quelques semaines à deux ans ou plus (**Fox et al., 1994**).

3.2. Fermentations secondaires

Elles interviennent sur le caillé et se prolongent pendant l'affinage. Evidemment, l'action de la flore lactique continue et se produit des sélections et des successions de flores qui dépendent des conditions de fabrication.

L'affinage entraîne de nombreuses transformations biochimiques : dégradation de l'acide lactique par une voie « respiratoire » ou fermentaire, ce qui provoque une remontée du pH ; hydrolyse des protéines et parfois des acides aminés avec désamination ; lipolyse donnant des acides gras qui sont oxydés en donnant des sous-produits aromatiques (méthylcétones, etc.).

4. Affinage des fromages

4.1. Qualité microbiologique du fromage

La microflore des fromages est composée d'un grand nombre de micro-organismes de différentes origines (lait, atmosphère, matériel de fromagerie, etc.). Cette microflore est en évolution constante ; certains germes se multiplient, d'autres disparaissent ; l'équilibre microbien n'est pas stable. La plupart des fromages sont préparés à partir de laits pasteurisés dont les germes pathogènes sont en général absents. La fermentation lactique crée une acidification, et l'affinage, pendant lequel le pH acide $\leq 4,5$ se maintient, entraîne, après deux mois au moins, la destruction des germes pathogènes éventuellement présents. Aux Etats-Unis et au Canada, outre la pasteurisation du lait, un temps d'affinage minimum est fixé, assorti de températures maximales d'affinage et de stockage des fromages (**Leyral, 2003**).

4.2. Microflore du fromage

La microflore lactique tend à se réduire au cours de l'affinage. Les lactobacilles participent par leurs enzymes protéolytiques et lipolytiques qui sont endocellulaires mais elles passent dans le milieu après la mort des cellules.

Les entérocoques sont abondants dans les fromages du lait cru, leurs protéases dégradent la caséine. Les levures se trouvent aussi bien à l'extérieur qu'à l'intérieur des fromages. Elles sont en général hâtives, car elles supportent bien le milieu acide (**Alais et al., 2008**).

4.2.1. Micro-organismes utiles et facteurs de l'affinage

Dans les fabrications traditionnelles, les bactéries lactiques cultivées dans le lait, sont utilisées comme levain pour la transformation ultérieure de ce milieu (Choisy, 1995). On les trouve dans les fromages, les yaourts et les laits fermentés (Desmazeaud, 1996). Industriellement les bactéries lactiques utilisées comme ferments commerciaux sont des cultures pures ou des cultures en mélange appartenant au genre *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pedicoccus* et *Bifidobacterium* (Reinbold, 1985).

L'affinage des fromages est en grande partie tributaire des enzymes, qui sont surtout d'origine microbienne. Tous les facteurs qui touchent le développement des microorganismes, la production d'enzymes et l'activité enzymatique auront des effets importants sur le déroulement de l'affinage. Les principaux facteurs sont : la température, l'humidité, l'indice de disponibilité de l'eau, le pH et la composition de l'atmosphère. La température est l'un des facteurs importants à contrôler lors de l'affinage puisque, pour un fromage donné, l'activité microbienne et enzymatique varie selon la température (St-Gelais et Tirard-Collet, 2002).

Les agents impliqués dans l'affinage sont les enzymes d'origines diverses :

a. Enzymes du lait

La plasmine, phosphatase alcaline dans les fromages issus de lait cru et la lipase qui n'intervient que dans les fromages au lait cru. Elle hydrolyse préférentiellement les acides gras à courte chaîne localisés. Son action est plus marquée dans les laits de brebis et de chèvre car les globules gras sont plus petits et conduit à des fromages plus typés (Brulé *et al.*, 1997).

b. Enzymes coagulantes

L'agent coagulant, présure (mélange de chymosine et pepsine) ajouté au lait a une activité de protéolyse générale), agent coagulant. Les produits formés sont principalement des peptides de poids moléculaire élevé.

c. Enzymes d'origine microbienne

Ces enzymes proviennent de cinq principaux groupes microbiens

❖ **Les bactéries lactiques**, transformation du lactose en acide lactique qui acidifie le milieu et conjointement avec la protéolyse des caséines préparent la coagulation du lait et la synthèse du caillé. On distingue :

— les lactocoques : dominants dans les pâtes molles et pâtes pressées non cuites, ils ont une action protéolytique ;

— les lactobacilles et streptocoques thermophiles, flore des pâtes pressées cuites, ils exercent une action d'acidification et de protéolyse ;

— les *Leuconostoc*, produisent à côté de l'acide lactique, des composants d'arôme et participent à l'ouverture des fromages à pâte persillée (**Brulé et al., 1997**).

❖ **Les bactéries propioniques** produisent à partir du lactate de l'acide propionique et du CO₂ en plus de l'acide lactique et acide acétique, contribuent à la formation de la saveur et de l'arôme **Brulé et al., 1997**

❖ **Les bactéries de surface**, les plus fréquentes sont les microcoques et les bactéries corynéformes (*Bacterium linens*) ; elles sont présentes dans les pâtes molles à croûte lavée ou immergée. Elles sont dotées d'activité protéolytique et lipolytique **Brulé et al., 1997**.

❖ **Les levures** : la plus rencontrée est *Geotrichum candidum* ; qui se développe en surface des fromages en consommant l'acide lactique, produit de l'éthanol et elle est lipolytique et protéolytique **Brulé et al., 1997**.

❖ **Les moisissures**, possèdent les enzymes les plus lipolytiques, à l'origine de la formation de méthylcétones, d'alcools secondaires et sont aussi dotées d'activité protéolytique (**Leveau et Bouix, 1993 ; Jeantet et al., 2008**).

4.3. Biochimie de l'affinage

Le processus de maturation du fromage est très complexe et implique des modifications microbiologiques et biochimiques du caillé, ce qui se traduit par une saveur et une texture caractéristiques de la variété particulière.

Les processus biochimiques qui se produisent lors de la maturation peuvent être regroupés en événements primaires incluant le métabolisme du lactose résiduel, du lactate et du citrate, la lipolyse et la protéolyse. Puis les événements biochimiques secondaires qui sont très importants pour le développement de nombreux composés aromatiques volatils et comprennent le métabolisme des acides gras et des acides aminés (**McSweeney, 2004**).

4.3.1. Fermentation du lactose

Le métabolisme du lactose au lactate est essentiel à la production de toutes les variétés de fromage. Selon les types de fromage considérés, la microflore et les conditions d'affinage, le lactate peut être transformé en de nombreux métabolites contribuant aux arômes du fromage ou produisant des défauts de flaveur (**McSweeney and Sousa, 2000**). Selon le type de bactéries de démarrage (Starters LAB), le lactose est métabolisé par les voies glycolytiques (la plupart des

bactéries initiales) ou de la phosphocetolase (*Leuconostoc spp.*). Les principaux produits du métabolisme du lactose sont le L- ou D-lactate ou un mélange racémique des deux.

Le lactate contribue à la saveur des fromages à caillé acide et contribue probablement également à la saveur des variétés de fromage affinés, en particulier en début de maturation (**McSweeney and Sousa, 2000**).

L'acidification du fromage a un effet indirect majeur sur la saveur, puisqu'il détermine la capacité tampon du fromage et donc la croissance de divers microorganismes pendant la maturation et l'activité des enzymes impliquées dans la maturation du fromage. Selon la variété, le lactate peut également être encore métabolisé par un nombre de voies en divers composés qui contribuent à la saveur du fromage (**McSweeney and Sousa, 2000**).

Le métabolisme du citrate réalisé par les espèces de lactocoques citrate-positives ou par *Leuconostoc ssp.* est d'une grande importance dans certains fromages, notamment de type Gouda (**McSweeney and Sousa, 2000**).

4.3.2. Protéolyse et événements connexes

Selon **Medina et Nuñez (2004)**, la caséine caprine contient une proportion plus faible de caséine α_S , en particulier la casse α_1 et une proportion plus élevée que la caséine bovine de caséine β .

La protéolyse est la plus complexe et, la plus importante des événements primaires qui se produisent dans la plupart des variétés, pendant la maturation du fromage.

La protéolyse des caséines en peptides de différentes tailles (courts et intermédiaires) et en acides aminés libres, ne contribue probablement qu'à la production d'arômes communs à la plupart des fromages, mais les acides aminés libres sont d'importants précurseurs d'une grande variété de réactions cataboliques encore mal élucidées, qui produisent des composés volatils essentiels pour la saveur (**McSweeney and Sousa, 2000**).

La protéolyse joue un rôle essentiel dans :

- les changements de texture dans la pâte du fromage (en raison de la dégradation du réseau de protéines, diminution de a_w par liaison d'eau par groupes carboxyle et amines libérés et augmentation du pH) ;
- la contribution directe à la saveur et au goût à travers la formation de peptides et d'acides aminés libres (AAL) ;
- la libération de substrats (amino-acides) pour des modifications cataboliques secondaires (désamination, décarboxylation, transamination, désulfuration, catabolisme des composés aromatique tels que la phénylalanine, la tyrosine, le tryptophane et les réactions des acides aminés avec d'autres composés) ;

- et changements dans la matrice du fromage, qui facilite la libération de composés sapides pendant la mastication (McSweeney and Sousa, 2000).

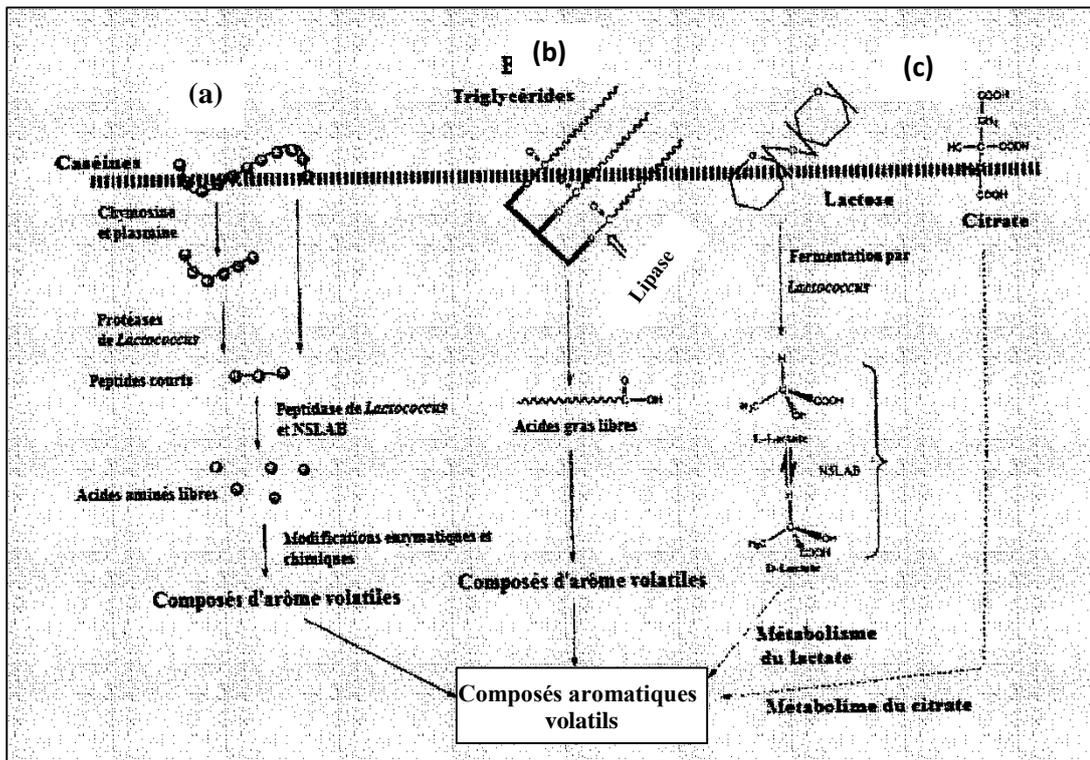


Figure 1. Principaux mécanismes biochimiques de l'affinage :

(a)Protéolyse, (b) lipolyse et (c) métabolisme du lactose, du lactate et du citrate (McSweeney and Sousa, 2000)

La protéolyse dans le fromage est catalysée au cours de la maturation, par un ensemble extrêmement complexe de changements biochimiques, grâce aux actions catalytiques des enzymes ; des protéinases et peptidases provenant de différentes sources :

1. le coagulant (chymosine, pepsine ou protéases d'acide des champignons ou des plantes) ;
2. le lait (plasmin, cathepsine D et peut-être d'autres protéinases des cellules somatiques);
3. les enzymes lactiques indigènes, en particulier la protéinase et la lipase, qui sont particulièrement importantes dans le fromage à base de lait cru
4. bactéries initiales (Starters LAB) et leurs enzymes (protéinases des enveloppes cellulaires CEP, lactocepine, PrtP) ;
5. la microflore secondaire et ses enzymes, non Starters LAB (NSLAB) (Fox *et al.*, 2000 ; Upadhyay *et al.*, 2004).

Dans la plupart des variétés de fromage, l'hydrolyse initiale des caséines est causée par le coagulant et, dans une moindre mesure, par la plasmin et peut-être des protéinases de cellules somatiques (cathepsine D), ce qui se traduit par la formation de grands peptides (insolubles dans

l'eau) et intermédiaires (hydrosolubles) qui sont ensuite dégradés par le coagulant et les enzymes du démarreur (SLAB) et la flore du non-démarreur (NSLAB) du fromage. La production de petits peptides et d'AAL est causée par l'action des protéinases microbiennes et des peptidases.

Bien que LAB (*Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*) soient faiblement protéolytiques, ils possèdent un système protéinase / peptidase très complet.

Les NSLAB sont particulièrement importants dans les fromages à base de lait cru. L'activité du NSLAB semble compléter l'action protéolytique du démarreur, produisant des peptides avec des poids moléculaires généralement similaires et des AAL (**Lynch et al., 1997**).

4.3.3. Lipolyse

La lipolyse conduit directement à la formation de composés d'arômes résultant de la libération d'acides gras. Les acides gras libres peuvent également être transformés en alcan-2-ones et lactones (**McSweeney and Sousa, 2000**). Le degré de lipolyse est démontré par l'augmentation de la concentration des AGL pendant la maturation (**Mallatou et al., 2003**). La matière grasse du lait est essentielle pour le développement de la bonne saveur du fromage au cours de la maturation. Les fromages fabriqués à partir de lait écrémé développent des saveurs correctes, contrairement à ceux faits à partir de lait entier.

Les lipases dans le fromage proviennent du lait, de la présure et des microorganismes. Les fromages affinés pour une longue période développent des concentrations assez élevées d'AGL. Le lait contient une lipase indigène (lipoprotéine lipase, LPL) en plus d'un nombre d'estérases. LPL est la principale lipase indigène dans le lait. LPL est plus important dans les fromages au lait cru, car son activité est réduite par la pasteurisation (**McSweeney and Sousa, 2000**).

McSweeney et Sousa (2000) ont rapporté que l'étendue de la lipolyse est considérée comme indésirable dans plusieurs variétés à affinage bactériens internes, telles que le fromage cheddar, gouda et suisse ; les hauts niveaux d'acides gras dans ces fromages conduisent à la rancidité. Cependant, de faibles concentrations d'AGL contribuent à la saveur de ces fromages. En raison du potentiel d'oxydo-réduction négatif dans le fromage, l'oxydation des lipides du fromage est probablement limitée.

Les systèmes lipase / esterase des *Lactococcus sp.* sont intracellulaires, ils ne sont que faiblement lipolytiques, mais les *lactococci* peuvent libérer des niveaux élevés d'AGL lorsque les cellules sont présentes en nombre élevé au cours d'un affinage prolongé. Les lactobacilles homofermentaires obligatoires utilisés comme starters (*Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus* et *Lb. delbrueckii subsp. lactis*) produisent également des estérases. Les lactobacilles

hétérofermentaires facultatifs (par exemple, *Lb. casei*, *Lb. paracasei* et *Lb. plantarum*), qui dominent la flore lactique secondaire NSLAB de beaucoup de variétés de fromage, avec *Micrococcus* et *Pediococcus*, sont faiblement lipolytiques.

4.4. Propriétés aromatiques et structurales des fromages et méthodes d'analyses

4.4.1. Profil aromatique des fromages

Les principales voies métaboliques conduisant à la production de composés aromatiques au cours de l'affinage dans les fromages sont la glycolyse, lipolyse et protéolyse (**McSweeney and Sousa, 2000**).

Le niveau de peptides et d'AAL solubles dans le fromage dans 5% l'acide phosphotungstique (PTA) a été considéré comme un indicateur fiable du taux du développement de la saveur (**Ardo and Petterson, 1988 ; Aston and Douglas, 1983**) et la composition de la fraction d'acides aminés et les proportions relatives d'acides aminés individuels sont considérés comme importants pour le développement de la saveur caractéristique (**Broome et al., 1990**).

Cependant, la proportion relative des acides aminés individuels semble être similaire dans de nombreuses variétés, et la concentration des AAL augmente dans le fromage n'accélère pas la maturation ou l'intensité de la saveur. Moyens et petits peptides et AAL contribuent à la saveur de fond de la plupart des variétés de fromage (**Urbach, 1995**) et certains peptides individuels ont des goûts «bouillon», «amère», «noisette» et «doux».

En plus de leur impact direct sur la saveur des fromages, les AGL agissent également comme précurseur de molécules pour une série de réactions cataboliques qui a conduit à la production d'autres composés du goût. La voie par laquelle les alcan-2-ones sont produit (β -oxydation) implique la libération d'acides gras par lipolyse, leur oxydation en β -cétoacides et décarboxylation en Alcan-2-ones avec un atome de C en moins. Alcan-2-ones peuvent être réduits en alcools secondaires correspondant (alcan-2-ol), une étape qui est réversible dans des conditions aérobies (**McSweeney and Sousa, 2000**).

L'hydrolyse enzymatique des triglycérides en Acides gras et glycérol, mono- ou diglycérides (lipolyse) est cependant essentielle pour le développement de la saveur dans plusieurs variétés de fromages. La graisse de lait contient des concentrations élevées d'acides gras à chaîne courte et intermédiaire qui, sont libérés par la lipolyse, contribuent directement à la saveur du fromage. La spécificité des lipases influence également le développement de saveur de fromage, puisque les acides gras à chaîne courte (qui ont le plus grand impact sur la saveur) sont trouvés à la position sn-3 des triglycérides. Le pH du fromage influence également l'impact de saveur des AGL, les acides carboxyliques et leurs sels étant perçus différemment (**McSweeney and Sousa, 2000**).

4.4.2. Méthodes d'analyses

La méthodologie pour évaluer l'étendue et le schéma de protéolyse dans le fromage est l'intérêt en tant qu'indice de maturité du fromage et de qualité.

- Electrophorèse sur gel d'urée-polyacrylamide (PAGE) pour résoudre et identifier les peptides soluble dans l'eau (ou pH 4,6 ou 4,4 pour chèvre) peptides insolubles. Sulfate de dodécyl de sodium (SDS) -PAGE ou électrophorèse capillaire devrait également être efficace, mais à ce jour ont été utilisés beaucoup moins largement que l'urée-PAGE.

- Reverse-phase RP-HPLC pour résoudre et peut-être identifier les petits peptides solubles dans l'eau (pH 4,6). Interface RP-HPLC et spectrométrie de masse (MS) devrait faciliter grandement l'identification des petits Peptides.

- Le profil d'acides aminés libres du fromage peut être utile comme critère de classification. Bien qu'il existe une quantité considérable d'informations sur la concentration d'Acides aminés dans un certain nombre de fromages, son utilisation comme critère pour la classification des fromages n'est pas bien connue.

- Profil des composés volatils déterminés par GC ou GC-MS ; tente de classer les fromages en fonction de leurs composés aromatiques volatils sont discutés en plus.

- La plupart des schémas de classification des fromages sont basés sur la texture (et donc sur l'humidité et teneur en matières grasses). La texture est habituellement évaluée de façon subjective ou indirecte par la détermination du contenu de l'humidité. Les schémas de classification basés sur la rhéologie. Les mesures seraient précises et sensibles.

Un certain nombre d'études chimiques ou physico-chimiques ont été effectués pour comparer différentes variétés de fromage ou pour distinguer les fromages de la même variété qui diffèrent selon les attributs d'âge ou de qualité (**McSweeney *et al.*, 2004**).

- L'empreinte moléculaire des écosystèmes bactériens dans le domaine de la microbiologie alimentaire a récemment augmenté. Les méthodes couramment utilisées sont

- l'électrophorèse sur gel à gradient de dénaturation par PCR (PCR-DGGE),
- l'électrophorèse temporelle de gel de température (PCR-TTGE) ou
- le polymorphisme conformationnel à simple brin (SSCP).

Les produits laitiers fermentés contiennent généralement des écosystèmes complexes, en particulier lorsqu'ils sont fabriqués à partir de lait cru. Une telle complexité est difficile à évaluer et à décrire précisément par une approche de numération traditionnelle (**Parayre *et al.*, 2007**).

5. Classification des fromages

La classification d'un fromage adoptée par les normes du codex alimentaire CODEX STAN A-6-1978 amendé en 2006 est obtenue après application des trois formules suivantes :

Cette classification peut être accompagnée par des formules descriptives appropriées :

➤ Selon la fermeté (Formule I) qui appartient à l'intervalle de 69 à 51 % d'où la pâte molle évolue jusqu'à la pâte extra dure, cette classification est portée selon la teneur en eau dans le fromage dégraissé (TEFD).

➤ La deuxième classification (Formule II) est classée selon la teneur de la matière grasse par rapport à l'extrait sec total.

➤ La troisième classification (Formule III) les fromages sont classés en trois catégories différentes selon l'affinité du fromage, ces classifications sont mentionnées dans le tableau 2.

Le fromage est donc classé selon trois critères successifs : sa teneur en eau dans la fraction dégraissée, sa teneur en matières grasses dans l'extrait sec et son type d'affinage.

Tableau 4. Classification des fromages en fonction de la consistance, de la teneur en matière grasse et des principales caractéristiques d'affinage.

Formule I		Formule II		Formule III
TEFD %	le présent élément de la dénomination sera	MGES%	Le second élément de la dénomination sera	Dénomination d'après les principales caractéristiques d'affinage
< 51	Pâte extra dure	> 60	Extra gras	1- Affinage *Principalement en surface *Principalement dans la masse 2- Affiné aux moisissures a- Principalement en surface b- Principalement dans la masse 3 -Frais
49 - 56	Pâte dure	45-60	Tout gras	
54 - 63	Pâte demi dure	25-45	Mi gras	
61 - 69	Pâte demi molle	10-25	Quart Gras	
> 67	Pâte molle	< 10	Maigre	

TEFD : pourcentage de la teneur en eau dans le fromage dégraissé c'est-à-dire :

TEFD = poids de l'eau du fromage x 100/ (poids total du fromage – matière grasse du fromage).

MGES : pourcentage de la matière grasse dans l'extrait sec c'est-à-dire :

MGES= la teneur en matière grasse du fromage x 100/ (poids total du fromage- eau dans le fromage).

6. Notion de terroir et appellation d'origine

Une grande diversité de fromages est produite à partir de mêmes matières premières (généralement bovins, ovins, caprins ou laits de buffle, bactéries lactiques (LAB), coagulants et NaCl). En effet, on a dit qu'il y avait un fromage pour chaque préférence gustative et une préférence gustative pour chaque fromage (**Olson, 1990**).

La production de fromage a une longue histoire qui se reflète dans la large gamme de technologies utilisées pour leur fabrication. L'idée de protéger et de préserver les traditions, la diversité des aliments, y compris le fromage, a commencé à la convention de Paris de 1883 où le terme Appellation d'Origine Contrôlée (AOC) a été introduit pour reconnaître l'héritage spécifique des produits alimentaires provenant de régions, tout en garantissant l'authenticité du produit (**Bertozzi et Panari, 1993**). Ce concept est devenu répandu en Europe et remplacé par le schéma de l'UE, appellations d'origine protégées (DOP) qui s'applique aux denrées alimentaires produites, traitées et préparées dans une zone géographique donnée en utilisant une technologie reconnue.

Les aliments avec la désignation «Indication géographique protégée» (PGI) ont un lien géographique avec une région particulière pendant au moins une étape de la production, de traitement ou de préparation, tandis que le statut «Foods With Tradition Specialty Guaranteed» (TSG) a un caractère traditionnel, soit dans leur composition ou leurs moyens de production. Un certain nombre de fromages ont un statut de DOP (par exemple, Roquefort, Stilton, Manchego, Grana, Padano, Parmigiano Reggiano, Gruyère de Comté). Contrairement aux marques commerciales, la dénomination DOP reflète un patrimoine collectif et peut être utilisée par tous les producteurs d'une variété particulière dans une zone géographique définie. Les fromages de l'ODA sont protégés par l'Union européenne dans le cadre de divers accords internationaux (**Bertozzi et Panari, 1993**).

Une liste des fromages avec statut PDO est indiquée où d'autres variétés peuvent être produites à l'extérieur du pays ou Région d'origine, par exemple, Cheddar, Emmental, Gouda, Gruyère et Camembert, mais le nom du pays producteur est souvent inclus (**McSweeney et al., 2004**).

Etude expérimentale

Notre contribution est la caractérisation du fromage *Bouhezza* au lait de chèvre, sous différents aspects ; physico-chimique, biochimique, microbiologique, organoleptique et sensoriel, et rhéologiques au cours de sa fabrication. Ainsi le situer parmi les fromages existant sur le marché mondial et lui attribuer une identité relative à ses caractéristiques.

1. Enquête

1.1- But et objectifs

L'enquête a pour objectif de collecter le maximum d'informations et de déterminer, à titre indicatif, les étapes de préparation, le mode de fabrication et de consommation du fromage traditionnel Algérien *Bouhezza* pour confirmer et compléter le diagramme de fabrication représentatif, les limites de sa zone géographique en Algérie.

Notre approche expérimentale concernant la caractérisation du fromage traditionnel *Bouhezza* de chèvre est constituée d'une enquête sur terrain sur la fromagerie de *Bouhezza* à partir de laquelle le diagramme de fabrication existant est complété et/ou confirmé (Aissaoui Zitoun, 2014), et ressortir les différences si elles existent.

1.3- Population ciblée

C'est une enquête par interview à l'aide d'un questionnaire (annexe 1). Nous avons questionné des familles, sur la pratique du *Bouhezza* dans différents endroits de la zone des *Chaouias* (wilayas de Batna, Khenchela, Oum El Bouaghi, Tébessa et Souk Ahras) au Nord-Est de l'Algérie. L'échantillon global est constitué de **842** familles.

1.4- Déroulement de l'enquête

La réalisation de l'enquête au niveau des wilayas suscitées, a eu lieu entre 2010 et 2014, par des étudiants de fin de cycles de l'INATAA, Université Mentouri Constantine 1 et de l'Université d'Oum El-Bouaghi à qui nous avons expliqué le questionnaire et appris la méthode à adopter pour la collecte et le traitement des informations.

1.5- Description du questionnaire

L'enquête qui a été réalisée sur la base d'un questionnaire utilisé par l'équipe T.E.P.A. (Aissaoui Zitoun (2004) ; Aissaoui Zitoun et Zidoune (2006), auquel nous avons modifié par ajout d'une partie 6, concernant les objectifs de la fabrication et perspective de commercialisation par les familles qui fabriquent *Bouhezza* (dont modèle en **annexe 1a**). Les interrogations visent à enquêter sur les données inhérentes aux caractéristiques du fromage. Le questionnaire proposé comprend six

parties de manière à rassembler toutes les informations possibles sur le fromage traditionnel *Bouhezza* :

1. Renseignements sur la famille et zone : lieu et origine, appartenance géographique et ethnique, famille enquêtée (nom de l'enquêté(e), wilaya, commune, daïra, douar ou dachra et origine de la famille). Identité des personnes enquêtées ; âge, sexe, origine ethnique.
2. Préparation de la peau : (modes de fabrication de *Chekoua*, type, caractéristiques et traitement de la peau).
3. Mode de Fabrication du fromage : matière première utilisée, mode de préparation, préparation du fromage et période de fabrication, salage.
4. Conservation du fromage : modes, moyen et durée de conservations, défaut de fabrication de *Bouhezza*.
5. Modes de consommation habituelle et coutumes.
6. Objectifs de la fabrication et perspective éventuelle de commercialisation et de la mise sur le marché.

Le questionnaire a été distribué sur des familles productrices de *Bouhezza*. Il a été traduit en arabe pour faciliter le dialogue avec les enquêtés. L'enquête nous a permis de déduire le diagramme de fabrication du fromage.

2. Fabrication de *Bouhezza*

2.1. Sac ou contenant de la fabrication, outre (*Djeld*)

L'outre de *Bouhezza* se présente comme un sac souple et humide, avec la couleur naturelle de la peau et se caractérise par sa perméabilité. En effet, elle joue un rôle à la fois d'un contenant de la masse fromagère et d'un séparateur de phase (ultrafiltre). C'est à travers les perforations naturelles de la peau que le lactosérum est exsudé.

2.2. Peaux utilisées dans les fabrications

Nous avons réutilisé, pour les fabrications expérimentales du laboratoire, des outres issues de peau de chèvre de capacités différentes (entre 5 et 10 L). Celles des fabrications de ferme ont été préparées pour l'occasion, donc utilisées pour la première fois. Ces dernières ont des capacités différentes entre 10 L et 15 L. Celles destinées à la fabrication doivent être préparées avant leur utilisation. Les peaux des chèvres qui ont été séchées et conservées avec du sel et du genièvre (*Araâr*), subiront un lavage avec de l'eau puis rinçage intérieur à l'aide de *Lben* qui est introduit dans l'outre à raison de 3 litres par outre pendant au moins 24 heures puis vidange et rejet du *Lben*. Ensuite elles sont utilisées pour les fabrications.

Le tableau 1 récapitule le nombre de fabrications expérimentales et de fermes réalisées au cours de cette étude par année, lieu de fabrication avec la caractérisation correspondante réalisée.

Tableau 1. Récapitulatif des fabrications du fromage *Bouhezza* au lait de chèvre et caractérisations réalisées par année entre 2010 et 2015.

Année	Nombre de Fabrications	Origine de la matière ^{1ère}	Numéro	Nature de la fabrication	durée	Lieu de fabrication	Caractérisations
2010	Trois	Ferme à Baaraouia Constantine	F1	Expérimentale	50	2 au LNTA – INATAA*	Physico-chimique, microbiologique et Sensorielle
			F2	Expérimentale	50		
		Locale chez la famille (Tébessa)	F3	En ferme***	64-72	1 à Hammamet-Tébessa	
2011	Trois	Ferme locale à Boukhadra (Tébessa)	F4	En ferme***	72	2 à Boukhadra - Tébessa	Physico-chimique, et Sensorielle
			F5		64		
		Locale chez la famille (Tébessa)	F6			1 à Chréa-Tébessa	
2012	Deux	Ferme chez la famille à Oued Ninni (OEB)	F7**	En ferme***		60	2 à Ain Beida-Oum El-Bouaghi
			F8				
2013	Trois	Acheté de Ain Fakroun, Ain Beida et Ain Kercha (OEB)	F9	En ferme***	60	2 à Ain Fakroun-Oum El-Bouaghi	Physico-chimique et microbiologique
			F10				
			F11		51	1 à Ain Beida-Oum El-Bouaghi	Physico-chimique et microbiologique
2015	Deux	Acheté de Ain Fakroun et de Ain M'lila (OEB)	F12	En ferme***	64	1 à Ain Fakroun-Oum El-Bouaghi	physico-chimique et microbiologique
			F13		64	1 à Ksar Sbihi-Oum El-Bouaghi	physico-chimique et microbiologique

*Peaux de F1 et F2 utilisées pour la 2^{ème} fois ; **Fabrication de F7 démarrée dans une peau de chèvre et complété l'affinage à partir du 22^{ème} jour dans une peau de Brebis suite à la déchirure de la 1^{ère} peau de chèvre ; ***Toutes les peaux des fabrications de ferme ont été utilisées pour la première fois.

2.3. Procédé traditionnel de fabrication du fromage *Bouhezza*

2.3.1. Matières premières utilisées dans la fabrication

Les matières premières de fabrication du fromage *Bouhezza* sont le lait et *Lben* de chèvre.

2.3.1.1. Lait

Le lait cru de chèvre collecté ou acheté est issu de chèvres de races inconnues. L'origine de la matière première utilisée dans les différentes fabrications est présentée dans le tableau 1. Le lait utilisé dans la fabrication du *Bouhezza* a été récupéré dans des bouteilles propres.

2.3.1.2. *Lben*

Le *Lben* utilisé dans la fabrication de *Bouhezza* est préparé traditionnellement suivant le procédé artisanal, à partir du lait de chèvre, représenté globalement par les étapes de la figure1. Le *Lben* obtenu est récupéré pour être utilisé comme matière première dans la fabrication du *Bouhezza*.

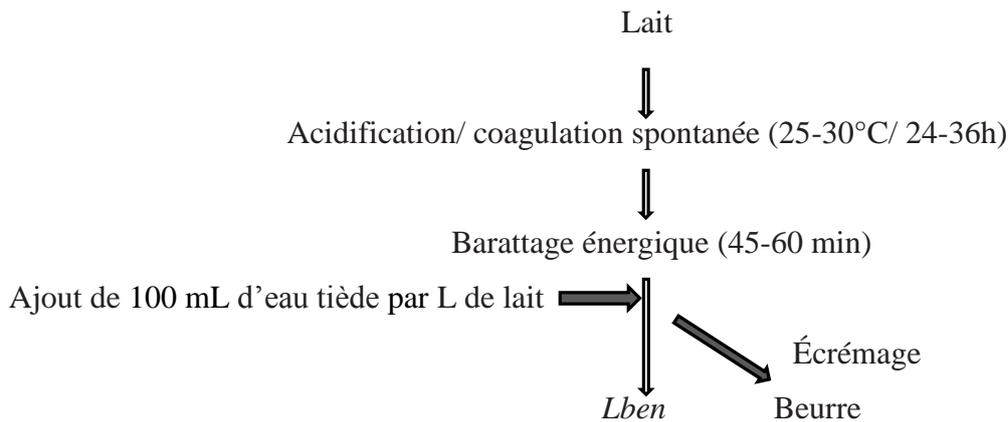


Figure 1. Etapes globales de préparation du *Lben*

2.3.1.3. Sel

Du sel de table du commerce est utilisé pour le traitement des peaux et le salage des matières premières des différentes fabrications. C'est un sel de différentes origines ; Entreprise Nationale du Sel (ENASEL), SARL Sels Hamraia commune El-Hamraia, wilaya El-Oued –Algérie et « Trésor de la nature » (traité et conditionné par « EL-ZAD » EL-Oued).

La quantité du sel ajouté est de 25g/L du *Lben* équivalente à deux cuillères à soupe. En fin d'affinage elle est diminuée de moitié si le fromage est trop salé.

2.3.1.4. Genièvre

Le genièvre (*Juniperus communis*) utilisé pour la préparation des peaux est acheté dans le commerce sous forme d'un mélange d'écorces, baies et fruits, il est utilisé après broyage et tamisage.

2.3.1.5. Piment rouge piquant

Le piment rouge (*Capsicum annuum*), a été utilisé pour assaisonner la pâte fromagère des différentes fabrications. Il a été acheté du commerce sous forme de poudre issue de broyage des fruits. De l'« Harissa » a été aussi utilisée dans les fabrications F4 et F5. Elle se caractérise par son piquant et son âcreté, et permet d'assaisonner le fromage en fin de fabrication.

2.3.2. Fabrication proprement dite du fromage *Bouhezza* de chèvre

La fabrication de *Bouhezza* est préparée par la méthode traditionnelle à partir du lait de chèvre. Après le traitement de la peau et la confection de l'outre « *Djeld* » commence la fabrication de *Bouhezza*. Elle est réalisée selon le diagramme rapporté par **Aissaoui Zitoun (2011)** et affiné à partir de l'enquête réalisée auprès de familles produisant ce fromage. La matière première utilisée est le lait cru de chèvre, collecté et transformé en *Lben* en ajoutant du sel. Les ajouts de *Lben* à l'intérieur de l'outre se font durant une période de deux à trois mois.

Les principales étapes de la fabrication (figure 2) sont similaires pour les fabrications en parallèles, dans l'âge d'échantillon, le volume de remplissage, la quantité de sel et les fréquences des ajouts de *Lben*. Cependant il existe de légères différences (fréquences d'ajout) entre ces dernières et celles qui sont préparées de façon isolée dans des lieux différents et temps différent.

Il existe quelques différences entre les différentes fabrications, concernant l'âge de l'affinage, la quantité de sel ajoutée, l'assaisonnement par les épices et le remplissage des peaux. Les étapes du diagramme issues de l'enquête sont les mêmes que celles présentées par **Aissaoui Zitoun et al. (2011) et Aissaoui Zitoun (2014)**.

2.4. Calcul du rendement fromager

Le rendement fromager est l'expression mathématique de la quantité de fromage obtenue à partir d'une quantité donnée de lait (souvent 100 L ou 100 kg) (**Vandeweghe, 1997**). Pour cela, selon qu'on prend en considération la quantité de caillé frais (rendement frais) ou la quantité de caillé sec (rendement sec), différentes formules utilisées.

Rendement frais : Rendement frais = $\frac{\text{Quantité du caillé frais}}{\text{Quantité du lait}} \times 100$

Rendement sec : Pour éviter les erreurs de la teneur en eau dans le calcul du rendement, l'option choisie est le calcul du rendement en matière sèche par rapport à la matière première (lait) et le fromage obtenu. La formule mathématique utilisée (**Michalski et al., 2003**) est la suivante :

$$\text{Rendement sec} = \frac{\text{Quantité du caillé frais} \times \text{EST}_{\text{caillé}}}{\text{Quantité du lait} \times \text{EST}_{\text{lait}}} \times 100$$

3. Prélèvement et origine des échantillons de matière première et de fromage

Les échantillons de lait cru de chèvre, *Lben*, *Lben* salé et de fromage *Bouhezza* sont prélevés dans des pots stériles munis de bouchons à vis. Les échantillons ont été transportés depuis leur lieu de fabrication dans une glacière et acheminés au laboratoire pour analyse. La conservation au laboratoire est faite à température de 4-10°C. Les échantillons dont les analyses sont différées, sont congelés à -18°C jusqu'au moment de leur utilisation. Avant analyse, les échantillons sont amenés à la température ambiante de 20-25°C. L'origine des échantillons de matière première et de fromage *Bouhezza* est résumée dans le tableau 1.

- Pour le lait et le *Lben*, le prélèvement pour l'analyse microbiologique classique est effectué à raison de 150 mL par un transvasement direct dans des pots stériles.
- Concernant le lactosérum, à trois reprises des échantillons sont récupérés ; deux des fabrications expérimentales de 2010 et à partir des fabrications de ferme ; trois de 2013 et de deux de 2015.

- Pour *Bouhezza*, le prélèvement est effectué à l'aide d'une cuillère propre à raison de 250 à 300 g par prélèvement et les échantillons sont rapidement conditionnés dans les pots stériles.

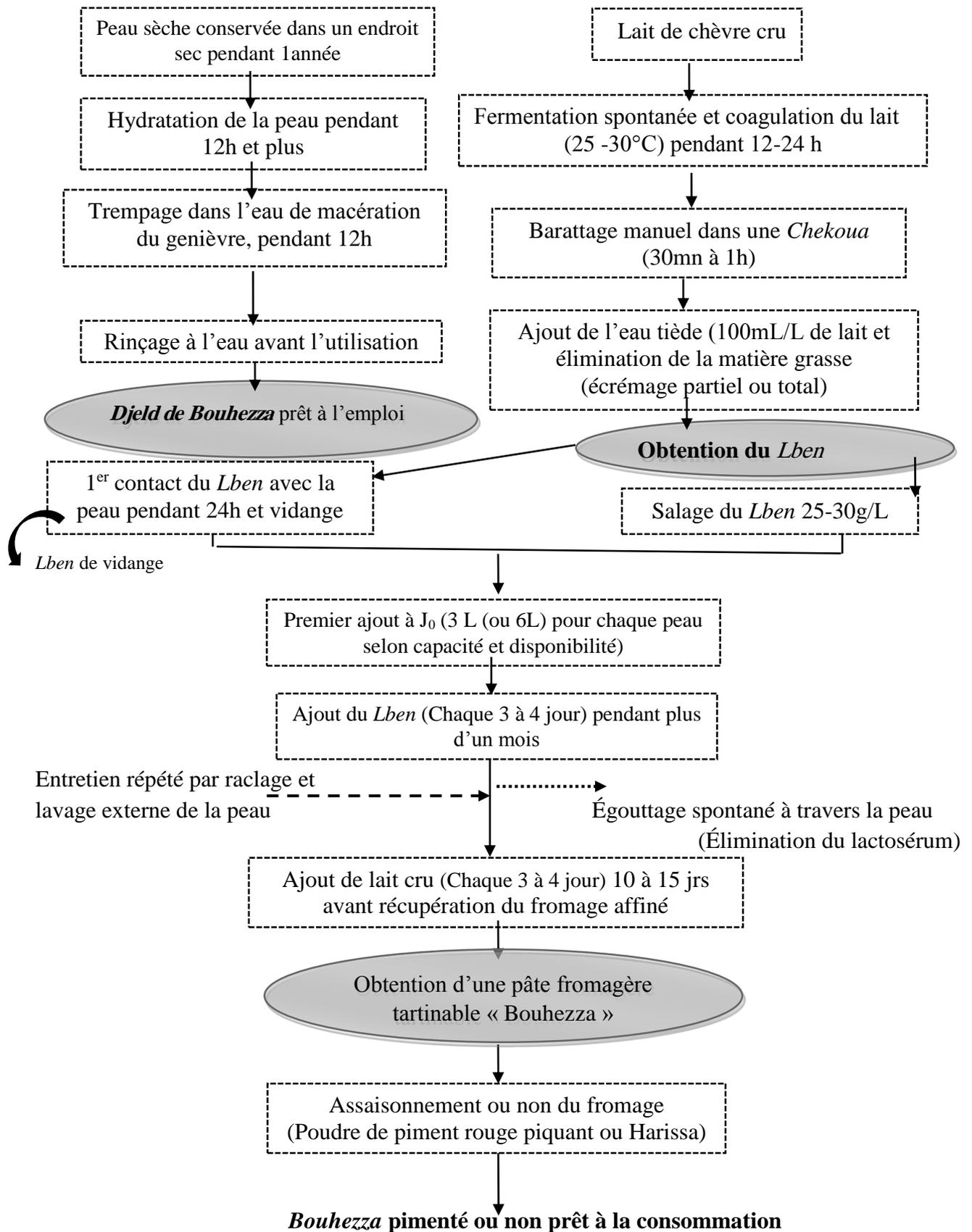


Figure 2. Diagramme couvrant globalement nos treize fabrications du fromage *Bouhezza*.

4. Caractérisations physico-chimiques

Cette partie concerne la caractérisation physico-chimique des échantillons de matière première (lait, *Lben*) et de fromage *Bouhezza* de lait de chèvre tout au long de sa fabrication-maturation 50-72 jours. Les analyses ont été réalisées au laboratoire LNTA de l'I.N.A.T.A.A, au niveau des laboratoires de biochimie et de microbiologie aux départements des sciences de la nature et de la vie, à l'université de Tébessa et d'Oum El-Bouaghi, ainsi qu'au cours des stages au niveau des laboratoires à l'étranger. Le dosage de la matière grasse a été réalisé aux laboratoires de la laiterie SAFILAIT à Constantine et HABILAIT à Oum-El-Bouaghi.

Les caractéristiques physico-chimiques déterminées sont : pH et acidité titrable, taux de matière sèche (Extrait sec total), cendres, protéines (matière azotée et fractions issues de la protéolyse) et chlorures ainsi que de la matière grasse dans la masse fromagère.

Pour le lactosérum, la mesure du pH, de l'acidité titrable, de la matière sèche et des chlorures ont été effectuées afin d'estimer les composants de cette phase.

4.1. pH et acidité titrable (AFNOR, 1993)

Le **pH** est mesuré à l'aide d'un pH mètre (*Amiot et al., 2002*). L'électrode de pH mètre est plongée dans la solution. La valeur est affichée sur l'écran du pH mètre.

L'**acidité** est exprimée en grammes d'acide lactique par litre de lait ou en degré Dornic (°D). Elle consiste au dosage de l'acide lactique à l'aide d'hydroxyde de sodium à 0,111 mol/L (1 mL de NaOH (N/9) correspond à 0,01 g d'acide lactique pour cent) en présence de phénolphthaléine à 1% (p/v) (indicateur coloré). Le virage est atteint lorsque la coloration rose pâle persiste pendant une dizaine de secondes (*AOAC, 1995*).

Sur 10 mL de lait, *Lben* ou lactosérum ou 10g de fromage, complétés à 100 mL avec l'eau distillée. La suspension est chauffée pour dissoudre la matière grasse, et dispersée avec agitation vigoureuse. Deux déterminations sur le même échantillon préparé sont effectuées, soit pour le pH ou l'acidité.

4.2. Matière sèche (MS) (AFNOR, 1993)

Méthode basée sur la dessiccation par évaporation de 3g de fromage (3 mL de lait, *Lben* ou lactosérum) dans l'étuve réglée à $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ et l'y laisser 3h. Après refroidissement, la pesée du résidu jusqu'à la stabilité du poids est réalisée. Au moins deux déterminations sont effectuées sur le même échantillon préparé. La matière sèche est exprimée en pour cent en masse.

4.3. Cendres

Le taux de cendres est déterminé selon la méthode décrite par **AOAC (2002)** par calcination d'une prise d'essai de 5 g de fromage (5 mL de Lait, *Lben* ou lactosérum) et incinération à 500°C

dans un four à moufle à lent courant d'air « LINN HighTherm » pendant 5 heures. Le résidu obtenu est pesé de nouveau (minéraux) exprimé en % de cendre totale.

4.4. Matière grasse (AFNOR, 1993)

Selon la méthode acido-butyrométrique, en premier lieu, il y'a dissolution des protéines du produit à doser par addition d'acide sulfurique, puis la séparation de la matière grasse s'effectue par centrifugation dans un butyromètre. Elle est favorisée par l'addition de l'alcool isoamylique (AFNOR, 1993). La matière grasse se sépare en couche claire sur les graduations du butyromètre. Peser 3g de l'échantillon de fromage broyé (11mL de lait ou *Lben*) que l'on introduit dans le godet du butyromètre de GERBER ou de VAN GULIK. Ajout de l'acide sulfurique jusqu'à ce que le niveau d'acide soit d'environ les 2/3 du godet (ou 10 mL de la chambre butyrométrique). Le butyromètre est placé dans le bain marie 5min à 65°C jusqu'à dissolution totale des protéines. Ajout d'1mL d'alcool iso amylique avec agitation. L'acide sulfurique est rajouté jusqu'à ce que le niveau atteigne la dernière graduation du butyromètre, retournement et agitation jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de particules blanches. Le butyromètre est centrifugé à 1200 tours/min pendant 6 min. La teneur en matière grasse est donnée par lecture directe sur le butyromètre et est exprimée en g/100g de produit.

4.5. Chlorures totaux (Audigié *et al.*, 1984, FAO, 1997)

Les chlorures totaux sont exprimés en chlorure de sodium selon la méthode de VOLLARD. Le dosage est basé sur la minéralisation de l'échantillon par l'acide nitrique concentré puis une défécation de la matière organique qui reste (essentiellement les protéines) par le permanganate de potassium (5% p/v). En présence d'un excès de nitrate d'argent, les chlorures de l'échantillon précipitent en chlorure d'argent (Audigié *et al.*, 1984 ; FAO, 1997). L'excès d'ions d'argent est dosé par une solution titrée de thiocyanate de potassium (0,1 N) en présence d'alun de fer et d'ammonium qui forme avec le thiocyanate un complexe rouge (complexe ferrithiocyanique). Peser 2g du fromage dans une fiole conique (3mL de *Lben*, lait ou lactosérum) ; 25mL de la solution de nitrate d'argent est ajoutée puis 15 mL d'acide nitrique, mélange et chauffage jusqu'à ébullition. Ajout goutte à goutte (environ 10 mL) de la solution de permanganate de potassium et maintenir le mélange réactionnel à ébullition modérée. Ajout de 15 – 25 mL d'eau distillée, chauffage jusqu'à obtention d'un liquide clair (pendant 5 min). Après refroidissement, la solution est complétée à 150 mL avec de l'eau distillée et 2 mL d'alun de fer puis mélange. Faire un essai à blanc avec 2 mL d'eau à la place de 2 g de fromage.

4.6. Caractérisation physico-chimique du lactosérum

Des échantillons de lactosérum ont été récupérés après collecte de l'exsudat au cours de la fabrication de *Bouhezza*. Le volume total de fabrication a été mesuré afin de calculer le rendement

fromager et des prélèvements ont été faits pour analyse physico-chimique. Les mesures réalisées sont le pH, l'acidité titrable, l'extrait sec total et chlorures totaux.

5. Caractérisation microbiologique

La caractérisation microbiologique est l'évaluation, la détermination et la mise en évidence de la qualité microbiologique et hygiénique de la matière première (lait et *Lben* de chèvre) et du fromage traditionnel « *Bouhezza* » au cours de sa fabrication-affinage. Elle comporte la recherche et le dénombrement des bactéries lactiques (Streptocoques lactiques et lactobacilles) et suivi de leur évolution, et les flores de contamination et pathogène éventuellement présentes dans ces produits.

La caractérisation est aussi basée sur la :

- Recherche et détermination d'une Activité protéolytique chez des isolats de bactéries lactiques dans des échantillons issus de différentes fabrications de *Bouhezza* ;
- Identification de la microflore de *Bouhezza* dans trois fabrications de 2010 par PCR-TTGE.

5.1. Flores dénombrées et recherchées

L'ensemencement a été fait dans 2 boîtes de pétri pour chaque dilution et chaque milieu de culture solide et dans 3 tubes pour chaque dilution des milieux de culture liquide. Pour la numération, le calcul de la moyenne arithmétique des 2 valeurs des deux boîtes et des trois dilutions est réalisé.

5.1.1. Flore totale aérobie mésophile (FTAM)

Le dénombrement de la FTAM reflète la qualité microbiologique générale d'un produit naturel et permet de connaître la charge microbienne du produit et d'en suivre l'évolution (**Guiraud et Rosec, 2004**). Le résultat est exprimé en unité formant colonie, UFC /mL (lait et *Lben*) ou UFC /g (fromage *Bouhezza*) de produit (**Journal Officiel Algérien, 1993 ; Guiraud, 2003**).

5.1.2. Bactéries lactiques

Les genres de la flore lactique essentiellement recherchés sont **Streptocoques lactiques** (des coques) ou **lactobacilles** (bacilles), qui produisent l'acide lactique par voie fermentaire (**Guiraud, 2003 ; Guiraud et Rosec, 2004 ; Journal Officiel Algérien, 2004**). Leur recherche est importante car ce sont des germes utiles dans l'affinage. Leur dénombrement permet de suivre l'évolution de la maturation du fromage, particulièrement la protéolyse et lipolyse.

5.1.3. Flore halotolérante

Ces germes sont très protéolytiques et responsables de la couleur orange de certains fromages. Le développement des bactéries se traduit par l'apparition des colonies sur la surface du milieu hypersalé de Chapman (**Richard et Zadi, 1983**).

5.1.4. Flore de contamination

5.1.4.1. Recherche et dénombrement des coliformes

- **sur milieu liquide** : La recherche des coliformes se fait par deux tests consécutifs à savoir :

1. Coliformes totaux (CT)

-Test présomptif : Une série de trois tubes du Bouillon Lactose Bilié au Vert Brillant (BLBVB), avec cloche de Durham est utilisée. La lecture finale se fait selon la table de Mac GRADY (Annexe 1).

2. Coliformes fécaux (CF)

-Test confirmatif (appelé test de Mackenzie) : Les tubes considérés positifs sont repiqués chacun dans un tube de BLBVB et un autre d'Eau Péptonée Exempte d'Indole (EPEI), pour la recherche de production d'indole. Les tubes qui présentent un trouble microbien et du gaz dans la cloche sont comptés positifs. La présence d'*Echerichia coli* est confirmée avec le réactif de Kovacs dans l'EPEI. Le dénombrement s'effectue sur la table de Mac Grady selon le nombre de tubes positifs.

- **sur milieu solide** : Les coliformes en fermentant le lactose, apparaissent en masse sous forme de petites colonies de couleur rouge foncé, (Guiraud, 2003).

5.1.4.2. Streptocoques fécaux

La recherche et le dénombrement de ce groupe comporte deux tests :

- Test présomptif : A partir de la solution mère et de chaque dilution, introduire dans trois tubes de milieu de ROTHE double et simple concentration.
- Test confirmatif : Les tubes qui présentent un trouble microbien, sont repiqués dans le milieu d'Eva Litsky. Une pastille violette au fond du tube indique la présence de Streptocoques fécaux.

5.1.4.3. Clostridium sulfito-réducteur (CSR)

Le dénombrement de la forme sporulée nécessite un chauffage à 80°C pendant 10 minutes de quatre tubes contenant chacun 5mL de la solution mère additionnée de 20 mL de gélose additionnée de quatre gouttes d'alun de fer et de 1 mL de sulfite de sodium. Les spores de CSR apparaissent sous forme de grosses taches noires.

5.1.4.4. Levures et moisissures (LM)

La numération des levures et moisissures s'effectue sur milieu de base OGA avec addition de 20mL/L d'oxytétracycline à 5 mg/mL (Oxoid, SR0073). Les colonies de levures se présentent sous forme rondes légèrement bombées arrondie, lisse à contour régulier et parfois pigmenté, jaune, orange ou blanc. Celles des moisissures se présentent sous forme plus au moins grandes et de couleur différentes avec un aspect filamenteux (ISO 6611-IDF 94, 2004).

5.1.5. Germes pathogènes

5.2.1. *Salmonella*.

La recherche des salmonelles est effectuée en 02 étapes : Enrichissement sur bouillon suivi d'un ensemencement sur milieu gélosé (**Joffin et Joffin, 2000**). Les *Salmonella* se présentent sous forme de colonies translucides avec ou sans centre noir (vertes et bleues vertes avec ou sans centre noir sur Hecktoen) (**Journal Officiel Algérien, 2005**).

5.2.2. *Staphylococcus aureus*.

Leur dénombrement est effectué en 02 étapes :

- Enrichissement dans un bouillon additionné de tellurite de potassium. Les tubes comptés positifs présentent un noircissement.
- Ensemencement en surface, à partir des tubes positifs et étaler (**Joffin et Joffin, 2000**).

Les colonies suspectes sont des colonies de taille moyenne, lisses, brillantes, pigmentées en jaune sur Chapman et de couleur noire sur Baird Parker.

5.2.3. *Brucella*.

Le milieu de base pour *Brucella* est la gélose Columbia (BioMérieux). Un volume de 1mL d'inoculum est ensemencé à la masse. La température optimale de croissance est de 34°C pendant trois semaines (**Guiraud, 2003**).

Le tableau 2 résume la caractérisation microbiologique réalisé sur les échantillons.

5.2. Recherche et caractérisation de souches ayant une activité protéolytique

Préparation des échantillons et des dilutions atteignant 10^{-8} , ensemencement sur les milieux spécifiques aux Lactocoques (en surface sur M17) et le celui spécifique aux Lactobacilles (en masse dans MRS) et incubation (Tableau 2). Après lecture par observation et repérage des colonies caractéristiques, l'isolement a permis de récupérer 62 colonies de F4 ; 71 colonies de F5 et 132 colonies de F6 au total 265.

Parmi ces isolats, les colonies semblables n'ont été prises qu'une seule fois, après le test à la catalase et la coloration de Gram avec observation au microscope. Les bactéries trouvées gram (+) et catalase (-), sont ensemencées dans des Eppendorfs de 1,5 mL contenant du bouillon MRS en vue de leur purification. Trente-cinq (35) souches ont été retenues, dont 15 cocci et 20 bacilles. Après 24h, d'incubation les 35 échantillons de lait sont préparés pour une Electrophorèse SDS PAGE.

5.2.1. Test sur le lait écrémé UHT du commerce, pour caractérisation de la protéolyse

Les isolats purifiées sont réactivés en prélevant 50 µL des souches purifiées et en les ensemencant dans 500 µL de bouillon MRS, et incubation 24h à 37°C. Les différents isolats ont été réactivés par

mélange de 50 µL de la pré-culture (les isolats) avec 500 µL de lait UHT écrémé du commerce, incubés une nuit à 37°C.

Tableau 2. Récapitulatif de la caractérisation microbiologique

Microorganismes recherchés	Milieu de culture	Dilutions utilisées	Volume et mode d'ensemencement	Incubation
Streptocoques lactiques	M 17	10 ⁻⁵ -10 ⁻⁷ (lait, <i>Lben</i>) 10 ⁻⁶ - 10 ⁻⁸ (fromage)	0,1mL en surface	37°C/ 48h
Lactobacilles	MRS (Man, Rogosa et Sharp)	10 ⁻⁵ -10 ⁻⁷ (lait, <i>Lben</i>) 10 ⁻⁶ - 10 ⁻⁸ (fromage)	1mL en masse	37°C/ 48h
FTAM	PCA (Plate Count Agar, MERCK, Germany)	10 ⁻⁵ -10 ⁻⁷ (lait, <i>Lben</i>) 10 ⁻⁶ à 10 ⁻⁸ (fromage)	1mL en masse	30°C/ 72h.
Coliformes Totaux (CT)	BLBVB (Bouillon Lactosé Bilié au Vert Brillant) (Institut Pasteur)	10 ⁻¹ ,10 ⁻² ,10 ⁻³	Inoculation 1mL dans la masse	37°C / 24 to 48 h.
Coliformes Fécaux (CF)	BLBVB et EPEI (Eau peptone exempte d'indole (Institut Pasteur)	10 ⁻¹ ,10 ⁻² ,10 ⁻³	0,5mL dans le liquide	44°C / 24h
Streptocoques Fécaux	Rothe (BIO-RAD, France) Litsky (BIO-RAD, France)	SM, 10 ⁻¹ ,10 ⁻²	1mL dans le liquide 0,5mL dans le liquide	37°C / 24 à 48h. 37°C / 48h
Clostridium Sulfito-réducteurs	Viande-Foie (Institut Pasteur)	Solution mère	5mL en anaérobiose en masse	37°C / 24 à 72 h
Flore halotolérante	hypersalé de Chapman (Mannitol Salt agar, Institut Pasteur)	10 ⁻³ , 10 ⁻⁴ -10 ⁻⁵	0, 1 mL en surface	37°C / 24
Levures et Moisissures	OGA (Oxytétracycline Glucose Agar, Institut Pasteur)	10 ⁻³ , 10 ⁻⁴ -10 ⁻⁵	0,1mL en surface	20 - 25°C/5 jours
<i>Salmonella</i>	Bouillon Selenite de Na Hecktoen; Gélose Salmonella (S-S) (Institut Pasteur)	Solution mère	Inoculation 25 mL en stries espacées de 5mm	37°C / 24-48 h. 37°C / 24 h
<i>Staphylococcus aureus</i>	Giolitti-Cantoni (Conda, Spain) Chapman (Institut Pasteur)	10 ⁻² , 10 ⁻³ et 10 ⁻⁴	Inoculation d'1mL 0,1mL en surface	37°C / 24h à 48h 37°C / 24h à 48h
<i>Brucella</i>	Gélose Columbia (BioMérieux)	10 ⁻² , 10 ⁻³ et 10 ⁻⁴	1 mL en masse	34°C/3semaines

Après incubation, prélèvement à l'aide d'une micropipette stérile 20 µL de mélange (préculture + lait UHT), et les déposant dans les Eppendorfs, on ajoute 200 µL de tampon échantillon (solution de solubilisation des protéines) ou tampon Laemmli, agitation au vortex pendant 2 min, chauffage des échantillons à 100°C pendant 3 min, et on laisse refroidir.

5.2.2. Electrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence SDS (SDS-PAGE)

L'électrophorèse des protéines a pour but de séparer des molécules chargées à travers un gel sous l'effet d'un champ électrique. La technique et les étapes de la séparation des protéines par SDS PAGE seront décrites dans le chapitre 6.1.3.1.

5.2.3. Identification génétique et moléculaire des LAB par PCR-TTGE (PCR- Temporal Temperature Gel Electrophoresis) et séquençage de l'ADNr16S des isolats protéolytiques

La technique d'électrophorèse sur gel de polyacrylamide sous gradient de température dénaturant, est basée sur l'extraction directe de l'ADN microbien de la matrice du fromage (ou d'autres échantillons), et l'amplification de l'ADNr (codant l'ARN ribosomique 16S) à l'aide des amorces universelles. La TTGE est une méthode électrophorétique capable de détecter des différences entre les fragments d'ADN de même taille mais avec différentes séquences (Parayre *et al.*, 2007). Les fragments peuvent être séparés sur un gel de polyacrylamide par un gradient de dénaturation basé sur le profil différentiel de dénaturation des fragments d'ADN amplifié (Ercolini, 2008).

5.2.2.1. Mode d'extraction de l'ADN génomique bactérien à partir de la masse fromagère

L'ADN chromosomique a été extrait de la matrice du fromage *Bouhezza*, selon le protocole proposé par Licitra *et al.* (2007). Les étapes sont présentées en annexe 2.

5.2.2.2. Amplification de l'ADN extrait par PCR

L'Amplification selon le protocole proposé par Parayre *et al.*, (2007), de la région du gène V3 de l'ADN codant l'ARN ribosomique 16S (ADNr 16S), par PCR utilise des amorces universelles V3P3-GC- Clamp (5'-GCCCCGCCGCGCGCGGGCGGGGCGGGGGCACGGGGGGCCTC GGGAGGCAGCAG-3') et V3P2 (5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3') (Sigma, Italie). Ces amorces donnent des produits de PCR d'environ 233 paires de base. Le mélange réactionnel des amorces est composé de 50µL dans chaque tube de PCR composé de 40 µL de Mix PCR (Tableau 5, annexe 2) et 10µL de l'extrait de l'ADN bactérien obtenu de la matrice du fromage.

Le Thermocycleur, icycler Therman cycler (Laboratories-BioRad, Hercule, CA) permet d'amplifier les échantillons par une incubation à 94 °C/2min, suivie de 35cycles. Un cycle est la succession de 3 étapes : 30 s de **dénaturation** à 95 °C, 60 s **hybridation** à 63 °C et **élongation** 1 min à 72 °C, ensuite une **extension** finale de 5 min à 72 °C et à la fin de réaction stabilisation de la température à 4 °C.

Amplification, identification et séquençage du 16S rDNA

L'ADN génomique bactérien a été extrait des isolats de bactéries issues de *Bouhezza*, en utilisant Dneasy Blood & Tissue Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Allemagne) et utilisé comme modèle pour l'amplification du gène de l'ARN 16S. Les amorces universelles fD1 (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') et rD1 (5'-TAAGGAGGTGATCCAGGC-3') ont été utilisées (Weisburg *et al.*, 1991). Des **amplifications** d'ADN ont été réalisées dans un modèle cyclique d'ADN (Techno, Barloworld scientific, Cambridge, UK). Tampon de PCR mixte (Tris-HCl 20 mM,

KCl 50 mM, pH 8,4), MgCl₂ 1,5 mM, 0,2 mM chacun de dNTP, 1 ADN polymerase Taq (Qiagen), 1 mM chaque amorce et 40 ng d'ADN. Un volume final de 50 µm. Les amplifications par PCR ont été réalisées dans les conditions suivantes : dénaturation à 94 °C pendant 5 min, 35 cycles de dénaturation à 94 °C pendant 1 min, recuit d'amorces à 56 °C pendant 1,15 min, ADN à 72 °C pour 1,15 min.

Une **extension** finale a été ajoutée à 72 °C pendant 5 min. Les mélanges ont été analysés sur un gel d'agarose à 1% (p / v) avec du bromure d'éthidium (0,5 mg / ml) dans du tampon TAE (Tris-acétate 40 mM, EDTA 1 mM) pH 8,2-8,4 pendant 30 minutes à 100 V.

5.2.2.3. Electrophorèse sur gel d'agarose

Une séparation sur gel d'agarose permet de vérifier la pureté et la taille des produits de l'amplification. Le gel est préparé par l'addition de 1,5 g d'agarose à 100 mL de tampon Tris Borate EDTA (TBE 1X) (10,8 g/L de Tris-HCl, 0,93 g/L de l'EDTA, 5,5 g/L de l'acide borique, le pH est ajusté à 8,3).

Une fois le gel d'agarose coulé, on dépose 05 µL de l'amplifiât dans les puits de gel recouvert par le tampon Tris Borate EDTA (TBE 1X). La migration est réalisée sous une tension de 100V pendant 35 min dans une cuve de type Vary Gel (BIO-RAD). Comparaison des bandes obtenues à un marqueur de taille d'une échelle 100-pb (paire base) d'ADN (Fermentas Life Science, Vilnius, Lituanie).

La coloration est faite au bromure d'éthidium à 2,5 µg/L pendant 15 min suivie d'un rinçage pendant 5 min dans l'eau. Les gels sont scannés par transillumination à Ultraviolets avec photo.

5.2.2.4. Migration sur gel de polyacrylamide et analyses en TTGE

Les analyses en TTGE ont été réalisées avec le système universel de détection de mutation (BIO-RAD Laboratories, Hercules, CA, USA). Le gel utilisé est composé de 10% d'acrylamide, bisacrylamide (37,5 :1), et 7 M d'urée pour le gel de séparation ou Resolving, et de 8% d'acrylamide du gel de concentration ou Stacking. Le tableau 6 (annexe 2) présente la composition des deux gels utilisés.

Dix µL de l'amplifiât (produit de PCR) de chaque échantillon sont mélangés à 5 µL de tampon de charge (0,05% bleu de bromophenol, 0,05% xylène cyanol, et 70% glycérol). Le mélange de chaque échantillon est alors déposé dans un puit du gel de concentration. Le marqueur qui a été utilisé contient des amplifiâts de 12 souches (tableau 3 en annexe 2), et a été déposé à raison de 30 µL par puit (le marqueur est fourni par les laboratoires INRA-Agrocompus Rennes, France).

La migration est réalisée sur un gel de polyacrylamide à l'urée sous une tension de 41 V pendant 16h, avec un gradient de température de 63°C à 70°C variant de 0,4°C/h pour les bactéries à faible teneur en GC.

Une fois l'électrophorèse achevée, l'ADN est coloré par immersion du gel dans une solution de bromure d'éthydiuim (0,6µg de bromure d'éthydiuim par mL de tampon TAE 1,25X), pendant 15 min. Le gel est ensuite immergé dans l'eau distillée pendant 30 min. Les bandes sont enfin visualisées et photographiées par transillumination ultraviolette (E-Box 1000/26M, Euroclone, Siziano, Italie).

Les bandes sont ensuite comparées avec les principaux micro-organismes détectés par profil de TTGE des espèces spécifiques ; les bandes sont analysées en utilisant un logiciel de comparaison de gels, à une base de données des espèces développée par **Parayre *et al.* (2007)**, à l'aide du programme BioNumerics, version 4.6 (Applied Maths, Kortrijk, Belgique). Le tableau 3 (Annexe 2) regroupe les souches utilisées comme marqueurs pour la PCR –TTGE.

La base des données permet de comparer les bandes aux 56 espèces les plus fréquentes dans les fromages et les produits laitiers (tableau 4, Annexe 2), appartenant aux 18 genres (*Arthrobacter*, *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Brachybacterium*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Enterobacterium*, *Kocuria*, *Microbacterium*, *Propionibacterium*, *Staphylococcus*, *Hafnia*, *Escherichia*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* et *Streptococcus*).

6. Suivi de l'affinage

6.1. Matières et fractions azotées

6.1.1. Méthode de LOWRY

Le dosage des protéines est déterminé par la méthode de LOWRY (**Lowry *et al.*, 1951**).

L'addition successive à une solution protéique diluée d'un sel de cuivre en milieu alcalin puis de réactif de Folin-Ciocalteu donne une coloration bleu foncée. Celle-ci résulte de la réaction du cuivre avec les liaisons peptidiques et la réduction de l'acide phospho-tungsto-molybdique par la tyrosine, le tryptophane et la cystéine. Les espèces réduites absorbent la lumière à 750 nm. A cette longueur d'onde, le spectrophotomètre donne une valeur de densité optique (DO) qui permet de déterminer la concentration en protéines de l'échantillon analysé en se référant par projection à une courbe d'étalonnage $DO = f(C)$ où l'albumine sérique bovine commerciale est utilisée comme protéine étalon (courbes présentées par la figure 9 en annexe 2).

Homogénéisation au mortier de 10 g de fromage à dissoudre dans 40 mL de solution de citrate de sodium à 0,5% et pH 5,2 préalablement chauffé à 45°C. Dans cet échantillon 1 mL contiendrait de 25 à 100 µg de protéine. A 1mL de l'échantillon, on ajoute 5 mL de la solution C (annexe 2) et

on laisse pendant 10min. Du réactif de Folin est ajouté, 0,5 mL. On laisse la préparation 30 min à l'obscurité puis lecture de la DO à 750nm à l'aide d'un spectrophotomètre (CECIL, CE 2041 ; PRIM, SECOMAM, France).

6.1.2. Méthode de KJELDAHL (Audigié *et al.*, 1984 ; FIL, 1993 ; AFNOR, 1993)

Le fromage est digéré par l'acide sulfurique concentré et en présence d'un catalyseur. L'ammoniaque est libérée de la solution de minéralisation par une base (alcalinisation de l'ammoniaque libérée de la solution de minéralisation), et distillation à la vapeur d'eau dans une solution d'acide borique.

La préparation des échantillons pour le dosage de l'azote est de solubiliser 10g de fromage dans 50mL de solution citratée (solution de citrate trisodique 0,5mL/L à une température de 40 – 50°C) pour assurer la dissolution complète du fromage, après refroidissement, on complète avec l'eau distillée jusqu'à 200mL.

Le dosage des différentes fractions d'azote a été réalisé : azote total (NT) et l'azote soluble total (NST).

6.1.2.1. Azote total (NT) (Audigié *et al.*, 1984)

La minéralisation est la première étape, son but est de dégrader la matière organique (MO) azotée sous la forme de sel d'ammonium. On introduit 5mL de la prise d'essai de la solution citratée qui correspond à 0,25g de fromage (ou à 1 g de fromage selon préparation), dans un matras de minéralisation, 10mL d'acide sulfurique concentré $d = 1,83 \text{ g / cm}^3$ est versé lentement en ajoutant 2g de catalyseur (sélénium en pastille). La minéralisation commence, et lorsque le liquide est devenu limpide, on règle le chauffage de manière à condenser les vapeurs d'acide vers le milieu du col du matras et poursuivre pendant au moins 30 min. Laisser refroidir le matras obturé pour éviter un contact éventuel avec des vapeurs ammoniacales présentes dans l'atmosphère.

L'azote de différents constituants (protéique et non protéique) est converti en sulfate d'ammonium en présence du catalyseur. Le pH acide permet au sel d'ammonium d'apparaître sous sa forme acide de l'ammonium NH_4^+ .

La distillation de l'ammonium se fait par l'ajout de soude : on transforme l'ammonium sous sa forme volatile, l'ammoniaque.

Alcalinisation d'un volume de 15 mL de digestat acide avec NaOH concentré (10 N) à raison de 3,5 mL pour chaque mL de H_2SO_4 restant dans le matras après minéralisation. L'ammoniac est entraîné par la vapeur surchauffée, condensées en contact d'un réfrigérant et recueillies dans une solution contenant deux indicateurs coloré (rouge de méthyle et bleu de bromothymol) pour être ensuite récupéré dans 60 mL d'une solution d'acide borique à 4%. Ce dernier va retenir

l'ammoniaque sous sa forme acide. Après, alcalinisation, la soude est ajoutée en excès afin de changer le pH acide en pH basique, ce qui a pour effet d'obtenir de l'ammoniac (NH_3) qui est entraîné par la vapeur d'eau par distillation.

La **titration** est l'étape où l'ammoniaque, fixé sous forme de borate d'ammonium est titré avec une solution d'acide chlorhydrique ou d'acide sulfurique 0,1 N.

La teneur en azote totale est exprimée en gramme par 100g de fromages. La teneur en protéines totales est calculée en multipliant par 6,38 la teneur en azote obtenue selon cette méthode.

Le dosage de fractions d'azote a été réalisé : azote total (NT), l'azote soluble total (NST) à pH 4,4 et l'azote soluble dans l'acide Trichloracétique (TCA) à 12%.

6.1.2.2. Azote soluble (NST) (AFNOR, 1993)

Ce dosage concerne la fraction azotée non caseinique, c'est l'azote soluble total (NST) (**Amiot et al., 2002**). Il consiste en une séparation par précipitation des caséines au point isoélectrique (pH=4,4), une centrifugation puis dosage de la fraction soluble (surnageant) par la méthode de KJELDAHL. Ce dosage permet d'estimer le degré de la protéolyse à pH 4,4 et la cinétique de celle-ci est suivie par le rapport $\text{NST} \times 100 / \text{NT}$ d'où $\text{N caséinique} = \text{NT} - \text{NST}$

D'où : NST : azote soluble total et NT : azote total

Ajuster le pH sur 80 mL de la solution citratée du fromage avec de l'HCL 1N jusqu'à pH 4,4. La solution est complétée à 100 mL avec de l'eau distillée puis centrifugée à 4000 tours /mn pendant 30 mn à 4°C. Le dosage est effectué sur 5 mL du surnageant par la méthode de KJELDAHL.

6.1.2.3. Azote soluble au TCA (Trichloracétique) 12% (NS-TCA 12%)

Prendre 5 mL du surnageant obtenu de l'étape précédente. Ajouter 5 mL d'acide TCA (laisser pendant 2 heures). Le dosage de l'azote est effectué par la méthode de KJELDAHL. L'essai est répété deux fois.

6.1.3. Méthodes Electrophorétiques : gel SDS-PAGE, Urée-PAGE

6.1.3.1. Suivi de la protéolyse par Electrophorèse sur gel SDS-PAGE

Les échantillons de *Bouhezza* de fabrications de 2010, 2011 et 2012 ont été soumis au suivi de la protéolyse par SDS-PAGE. Une pesée est effectuée d'environ 100 mg par échantillon à dissoudre dans 0,9 mL de citrate de sodium à 2% (p/p) (au $1/10^{\text{ème}}$) dans des eppendorfs et homogénéisés au vortex.

On mélange 20 μL de l'échantillon préparé dans 200 μL de tampon échantillon phosphate. Le mélange est préparé au $1/10^{\text{ème}}$ (v/v) dans du tampon échantillon, bien homogénéisé au vortex puis chauffé 3 min dans un bain d'eau bouillante à 100°C. Le mélange est laissé refroidir, puis analysé

par électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de SDS (SDS-PAGE). L'APS (le PerSulfate d'Ammonium) doit être fraîchement préparée à une concentration de 10%. La composition et préparation des gels utilisés est telle que le gel de concentration est à 4%, et le gel de séparation est à 12% de concentration finale (la composition des gels est présentée en Annexe 2).

L'analyse par SDS-PAGE permet une séparation des protéines en fonction de leur masse moléculaire. Les échantillons de fromage ont été soumis à une Electrophorèse SDS PAGE afin de voir s'il y a une éventuelle protéolyse et ont été séparés à l'aide d'un gel de polyacrylamide 12%. Les échantillons ont été migré sous une intensité constante de 10 mA dans le gel de concentration (Stacking gel ; 40mA pour 4gels) et de 20 mA dans le gel de séparation soit 80 mA jusqu'à la fin de la migration. Après migration, les gels ont été colorés avec le Bleu de Coomassie R250 pendant 1 h puis décoloré pendant 2 h. Ils ont, ensuite, été numérisés avec un scanner d'images III (GE Healthcare, USA) et l'intensité des bandes a été quantifiée par un logiciel d'image. Les analyses sont effectuées en utilisant Fuji Film Image Gauge V3.0 logiciel (Fuji Photo Film Co. Ltd, Japon). Les résultats ont été exprimés par l'intensité de la bande. La réduction de l'intensité de la bande pendant l'affinage exprime une certaine hydrolyse (**Ong *et al.* 2006**).

6.1.3.2. Electrophorèse sur gel Urée-PAGE de la fraction insoluble des caséines

L'électrophorèse Urée-PAGE est une méthode particulièrement adaptée pour la séparation des caséines qui sont difficilement séparables en conditions natives. L'urée à forte molarité élimine les liaisons faibles, particulièrement les liaisons hydrogènes et hydrophobes (**Damerval *et al.*, 1993**).

Le culot de centrifugation, qui est la fraction insoluble dans l'eau (à pH 4,4) du fromage, a été récupéré et lyophilisé.

Pour la préparation des échantillons selon **Andrews (1983)**, 10mg du lyophilisat (fraction insoluble à pH 4,4), sont mélangés avec 1mL de tampon de charge (7,5g/L Tris, 490g/L urée, 7mL/L de 2-mércaptoéthanol), le mélange est homogénéisé jusqu'à solubilisation complète du lyophilisat avec ajout de 10 µL de bleu de bromophénol. Ensuite 15 µL de chaque échantillon sont déposés dans les puits du gel de concentration.

Un gel de polyacrylamide utilisé selon la méthode d'**Andrews (1983)**, est composé d'une partie supérieure dite gel supérieur ou de concentration (4% (p/v) d'acrylamide), qui permet de concentrer les protéines, et d'une partie inférieure dite gel de séparation (12% (p/v) d'acrylamide), qui permet la séparation des protéines (la composition des gels utilisés est indiquée en annexe 2,).

La séparation est réalisée par urée-PAGE en utilisant une unité de gel verticale Protean II XI (Bio-Rad Laboratories Ltd., Watford, RU) selon **Andrews (1983)**. un courant de 280V a été appliqué pendant 20min jusqu'à ce que le bleu de bromophénol atteigne le début de gel de concentration, puis

de 300V pendant 16h, la migration est réalisée à 12°C, température assurée par un système d'écoulement réfrigérant en continu (Julabo F25-HL).

Les gels ont été colorés selon la méthode de **Blakesley et Boezi (1977)** pendant 16 h avec du Bleu de Coomassie Brilliant G-250 à 0,2% dans de l'acide sulfurique à 50% (1 M et 10 M d'hydroxyde de potassium, contenant 12% de TCA). La décoloration du gel s'effectue sous agitation douce pendant 1 jour dans des solutions de 30% (v/v) de méthanol et 7,5 % (v/v) acide acétique, renouvelées plusieurs fois. La décoloration est réalisée en utilisant de l'eau déminéralisée par trois lavages à 30 min, 6 h et à 18 h, respectivement. Les gels ont été numérisés par un scanner (logiciel HP ScanJet, ScanJet G4010, Hewlett Packard, Palo Alto, CA). L'identification des bandes des caséines et des peptides a été déterminée par observation de l'intensité des bandes en comparant à un témoin qui présente la position des fractions des caséines natives du lait et à l'aide de la bibliographie.

6.1.4. Méthodes Chromatographiques

6.1.4.1. Profil peptidique par RP-HPLC de la fraction soluble à pH 4,4

La chromatographie liquide à haute performance en phase inverse (RP-HPLC) a été utilisée pour étudier le degré de protéolyse dans le *Bouhezza* de chèvre. Elle permet une séparation hautement résolutive des protéines et des peptides selon leur hydrophobicité.

Les fractions d'azote hydrosolubles des fromages ont été séparées, lyophilisées et analysées par RP-HPLC comme décrit par **Hayaloglu and Karagul-Yuceer (2011)** en utilisant un système de HPLC Shimadzu LC 20 AD Prominence (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japon). La colonne utilisée est Phenomenex Jupiter C18 de 250 x 4,6 mm x 5 µm, taille de pores de 300 Å (Phenomenex Co, Torrance, CA, USA). La phase mobile utilisée est un mélange de deux solvants. La composition de la phase mobile varie au cours de l'analyse d'un solvant A à un solvant B dans des proportions déterminées au préalable comme il est indiqué par **Hayaloglu et al. (2005)**.

Les solvants utilisés sont : 0,1% (v / v) d'acide trifluoroacétique (TFA, classe de séquençage Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH, Seelze, Allemagne) dans de l'eau déionisée HPLC (Système Milli-Q, Waters Corp., Molsheim, France) (A) et TFA 0,1% (v / v) dans de l'acétonitrile à 100% (qualité HPLC, Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne) (B) à un débit de 0,75 mL / mn. Une fraction aliquote de 10 mg de la fraction soluble lyophilisée a été dissoute dans 1 mL du solvant A (10 mg / mL) et filtrée à travers un filtre à acétate de cellulose de 0,45 µL (Sartorius GmbH, Gottingen, Allemagne) et placée dans des flacons de 1,5mL pour l'auto-échantillonnage. Un aliquote (60 µL) de filtrat a été injecté dans la colonne. Les échantillons ont été élués initialement avec 100% de solvant A pendant 10 min, puis avec un gradient de 0% à 50% de B et 50 à 60% de solvant B pendant 80 et 5 min,

respectivement. Il est maintenu à 60% de B pendant 5 min, suivi d'un gradient linéaire de 60% à 95% de B pendant 5 min et maintenu à 95% de B pendant 5 min. L'éluat a été détecté à une longueur d'onde de 214 nm.

Finalement la colonne est rincée avec 95% (v/v) de solvant B pendant 10 min et équilibrée avec 100% de solvant A pendant 25 min. Le temps de séparation pour chaque échantillon est de 70min (105min par échantillon avec rinçage et calibrage de la colonne).

6.1.4. Dosage des acides aminés libres dans le fromage *Bouhezza*

Les teneurs totales en acides aminés libres (AAL) dans la fraction soluble de pH 4,4 du fromage étaient déterminées en utilisant la méthode Cd-ninhydrine décrite par **Hayaloglu et al. (2007)**. Les niveaux des AAL individuels ont été déterminés dans des filtrats solubles dans TCA à 12% des extraits solubles à pH 4,4 en utilisant un Beckman 6300 High-Performance Amino Acid Analyzer (Beckman Instruments Ltd., High Wycombe, UK) comme décrit par **Hayaloglu et al. (2005)**. Les concentrations ont été exprimées en milligrammes de Leucine /g de fromage.

6.2. Matières lipidiques

L'approche expérimentale de cette partie, a touché différents volets de l'évaluation de l'activité lipolytique. L'objectif principal de notre travail est basé sur le suivi de l'évolution de la lipolyse au cours de l'affinage du fromage traditionnel *Bouhezza*.

L'estimation de la lipolyse au cours de la fabrication de six productions de *Bouhezza* (fabrications de 2012, 2013 et 2015), avec extraction de la matière grasse et détermination, par chromatographie en phase gazeuse (CPG), des acides gras libérés au cours de l'affinage. Chaque essai est répété deux à trois fois selon ce que préconise la méthode utilisée.

Les échantillons de fromage ont été prélevés de fabrications réalisées au niveau de la Wilaya d'Oum El Bouaghi. Neuf (9) échantillons prélevés de chacune de deux fabrications de 2012 (18 échantillons au total) ; de Oued Nenni, daïra d'Ain El-Beida (F7 et F8). D'autres échantillons issus de trois productions de 2013, deux à Ain Fakroun (F9 et F10) et l'autre d'Ain El-Beida (F11), ont été prélevés à raison 4 échantillons de chaque production à un intervalle de 15 jours (12 échantillons au total). La lipolyse a été suivie sur 2 fabrications réalisées l'une à Ain fakroun et l'autre à Ksar Sbihi en 2015 (F12 et F13), 5 échantillons par fabrication à 15, 30, 45,54 et 64 jours (10 au total).

La détermination de la teneur en matière grasse a été réalisée au niveau de l'usine SAFILAIT selon la méthode acido-butyrométrique de Van Gulik (**AFNOR, 1993**).

Les lipides sont insolubles dans l'eau et très solubles dans les solvants organiques, tel l'éther éthylique. La plupart des méthodes de dosage des lipides exploitent ces propriétés physiques pour

extraire les lipides des aliments dans le but de mesurer leur concentration. Le dosage des lipides est réalisé selon deux méthodes : **Folch et Soxhlet**.

6.2.1. Extraction par la méthode de Folch

L'extraction des lipides, est réalisée suivant le protocole décrit par **Folch et al. (1957)**. Elle est basée sur leur solubilité dans les solvants organiques. Pour la méthode de Folch, le méthanol et le chloroforme sont utilisés.

Les étapes de l'extraction des lipides selon la méthode de Folch sont indiquées dans la Figure 3. La méthode se base sur l'utilisation de solvants organiques pour extraire la totalité des lipides polaires et apolaires. A un échantillon de 50 g de fromage, 200 mL de chloroforme et 100 mL de méthanol sont ajoutés puis homogénéisés vigoureusement à l'aide d'un mixeur pendant 2 min. Par manque de solvant, nous avons procédé comme suit : un échantillon de 20 g de fromage est mélangé à 40 mL de méthanol et agité pendant 30 minutes. Puis, 80 mL de chloroforme sont ajoutés. Le mélange est de nouveau laissé sous agitation magnétique pendant 30 minutes puis filtré sur Büchner muni d'un papier filtre Whatman n°1. Le résidu est redispersé dans un mélange chloroforme/méthanol (2/1, v/v, 300 mL), homogénéisé pendant 3 min et filtré à nouveau. Les solides restants sont lavés avec un mélange chloroforme/méthanol (2/1, v/v, 60 mL).

Tous les filtrats sont rassemblés dans une ampoule à décanter. Les filtrats sont ajoutés à 0,2 volume d'une solution de NaCl à 0,7% du volume du filtrat. On observe une séparation en deux phases : une 1^{ère} phase en surnageant contenant la quasi-totalité des lipides. Une 2^{ème} phase organique est récupérée dans un ballon, puis le solvant est éliminé à 50°C à l'évaporateur rotatif sous vide (**Serhan, 2008**).

Les lipides issus de l'extraction selon la méthode de *Folch* sont récupérés. Ils sont alors conservés au froid à 4°C dans des tubes propres et couverts à l'aide de papier aluminium pour les protéger contre toute dégradation par la lumière ou rayons solaire.

6.2.2. Extraction par la méthode du Soxhlet

La méthode Soxhlet est la méthode de référence utilisée pour la détermination de la matière grasse dans les aliments solides déshydratés. C'est une méthode gravimétrique, puisqu'on pèse l'échantillon au début et la matière grasse à la fin de l'extraction.

On entend par teneur en matière grasse totale (MGT %) du lait sec, le % en masse de substance déterminée par pesée après une extraction à l'hexane ou à l'éther de pétrole comme solvant chaud, par le SOXHLET.

L'échantillon solide est pesé et placé dans une capsule de cellulose qui est perméable au solvant et à la matière grasse qui y est dissoute. L'extraction en continu par de l'éther éthylique et/ou éther de pétrole à point d'ébullition (P.E) 35°C qui dissout graduellement la matière grasse.

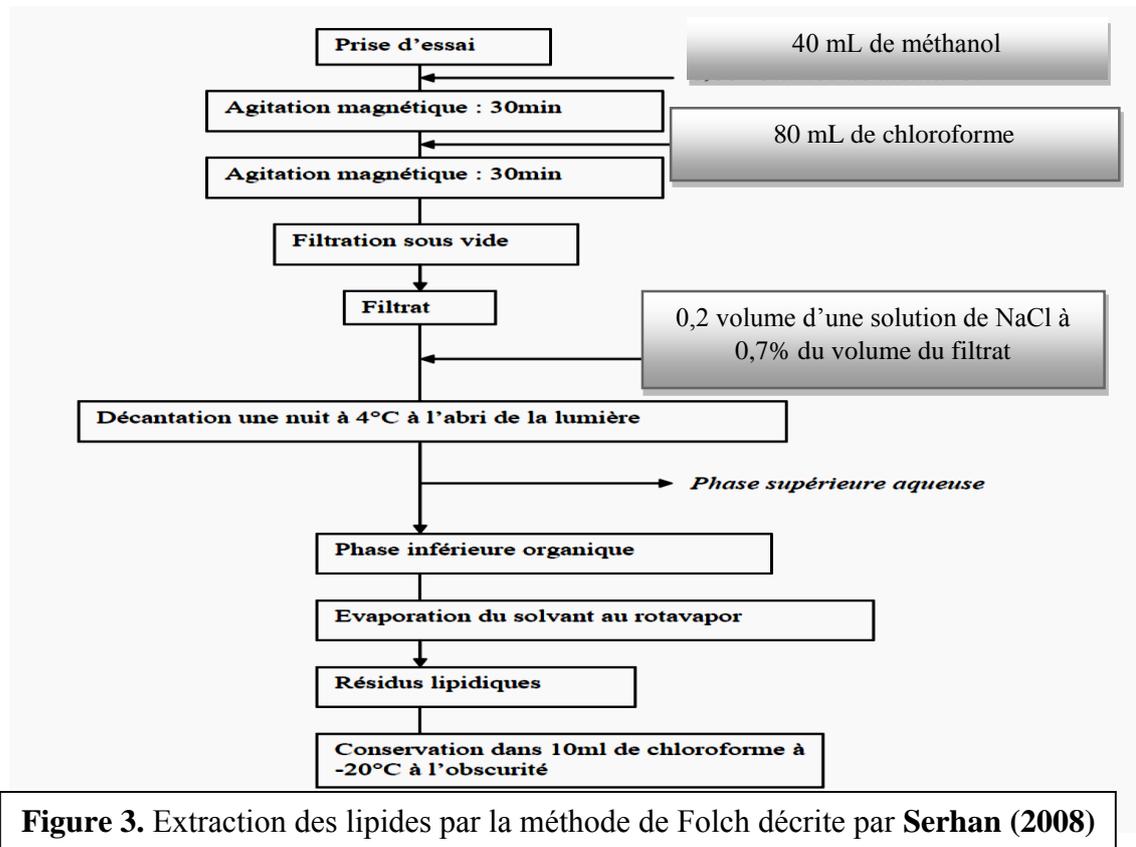


Figure 3. Extraction des lipides par la méthode de Folch décrite par Serhan (2008)

Le solvant contenant la matière grasse retourne dans le ballon par déversements successifs causés par un effet de siphon dans le coude latéral. La matière grasse s'accumule dans le ballon jusqu'à ce que l'extraction soit complète. Une fois terminée, l'éther est évaporé, sur un évaporateur rotatif, et la matière grasse est pesée.

L'expression de la teneur de la matière grasse en lipides est comme suit :

$$\% \text{ lipides} = \frac{M \text{ (lipides)}}{M \text{ (échantillon)}} \times 100$$

Avec précision, 5 g de fromage *Bouhezza* sont pesés en notant le poids exact dans la cartouche qui suffira pour l'extraction et la placer dans le SOXHLET en l'ayant recouvert avec du coton sec. Le ballon qui servira à recouvrir le solvant est pesé, quelques billes en verre y sont introduites et 200 mL d'hexane et/ou d'éther de pétrole. Après montage de l'appareil, le réfrigérant est branché à un robinet d'eau courante. La température du chauffe-ballon, est alors réglée à 65°C (éviter les surchauffes). On effectue 4-6 siphonages au cours de l'extraction. Une fois la durée d'extraction est terminée, la majeure partie du solvant est chassée à l'aide du ROTAVAPOR pour éviter l'ébullition de matière grasse, qui pourrait modifier les indices d'acidité.

Le ballon contenant les lipides est placé à l'étuve pendant 30 min à 103°C, puis au dessiccateur pendant 30 min. On réalise une série de pesées jusqu'à l'obtention d'un poids constant. Les lipides sont récupérés et conservés au froid à 4°C dans des tubes propres en les couvrant à l'aide de papier aluminium pour leur protection contre toute dégradation, pendant 12 heures (**Salghi, sans date**).

6.2.3. Evaluation quantitative de la lipolyse

○ **Acides gras libres (AGL)** : Pesée dans un Erlenmeyer de 250 mL, 1g (ou 0,25 g) de matière grasse dans 100 mL d'éthanol additionnés de 2 ml de phénolphaléine. Après une bonne agitation, le tout est titré avec une base (0,1 N NaOH) en agitant vigoureusement jusqu'à ce que la neutralisation soit atteinte. Ceci est indiqué par une couleur légèrement rose qui persiste pendant 30s, le volume titrant utilisé est noté. Ces étapes sont répétées 3 fois.

Le calcul de la valeur des acides gras libre (AGL) de chaque échantillon est réalisé comme suit :

$$\% \text{ AGL} = \frac{V \times N \times 282}{W} \times 100$$

% AGL : % d'acide gras libre (g/100g), exprimée en acide oléique (masse molaire : 282 g/mol).

V : Volume du NaOH titrant (mL)

N : Normalité du NaOH titrant (mol/1000 mL)

282 : Masse molaire de l'acide oléique (g /mol)

W : Masse de l'échantillon (g)

○ **Indice d'acide**

L'indice d'acide correspond au nombre de milligrammes de KOH nécessaires pour neutraliser l'acidité libre d'un gramme de matière grasse (**AOAC, 1997**). Il donne une évaluation de la quantité en acides gras libres. Environ exactement 500 mg de matière grasse sont dissous dans un mélange éthanol/éther diéthylique (1/1, v/v) préalablement neutralisé par l'hydroxyde de potassium 0,1 N en présence de 4 à 5 gouttes de phénolphaléine. Titration sous agitation magnétique avec une du KOH 0,1 N jusqu'à coloration rose. L'indice d'acide se détermine comme suit :

$$\text{IA (mg KOH. g}^{-1} \text{ de matière grasse)} = V \times N \times 56,1 / \text{masse de la matière grasse}$$

-V est le volume de KOH nécessaire à la neutralisation des acides gras libres

- N est la normalité de la solution de KOH ;

-56,1 est la masse molaire de KOH.

Dans l'industrie des huiles et corps gras, l'acidité est couramment exprimée en pourcentage d'acide oléique (masse molaire : 282 g/mol). Cette expression, toutefois est superflue en chimie du lait où l'on peut se contenter de la simple correspondance entre la quantité de KOH et la masse de matière grasse (**Serhan, 2008**).

6.2.4. Dosage des Acides Gras Libres (AGL) par CPG dans *Bouhezza* de chèvre

Cette partie consiste en la détermination de la fraction lipidique et de sa composition en acides gras libres dans deux échantillons ; non épicé âgé d'un mois et épicé, âgé entre 50 et 72 jours d'affinage de 3 fabrications (F1, F4 et F7) de *Bouhezza* au lait de chèvre. Entre 10 et 15 g de fromage sont pesés dans du papier wattman N°1 et mis dans le Soxhlet, auxquels sont ajoutés environ 100mL d'éther de pétrole dans un ballon taré et maintenus sur un chauffe ballon pendant au moins 6 heures (Temps nécessaire pour l'extraction totale de la matière grasse).

Après extraction, le ballon contenant la MG passe au RotaVapor jusqu'à ce que le solvant ait disparu et il est mis à l'étuve pour compléter l'évaporation du solvant. On pèse le ballon avec la MG jusqu'à poids constant. La matière grasse est obtenue par différence entre le poids après extraction et le poids du ballon vide. Pour récupérer la MG en vue de l'analyse par CPG, une petite quantité (2mL) d'éther de pétrole est ajoutée dans le ballon pour rincer les parois de celui-ci et ainsi récupérer la MG dans des tubes à hémolyse propre et stérile. Ces derniers sont fermés à l'aide de parafilm et couverts pour éviter toute oxydation et seront destinés à l'analyse par CPG dans les 12 h. La méthylation des échantillons de MG a été réalisée par ajout de 200 μ L de matière grasse avec 750 μ L d'hexane et 200 μ L d'une solution de KOH (2N dans le méthanol). Agitation au vortex pendant 2 min. Centrifugation à 5000 tours pendant 5 min puis récupération de la phase supérieure (phase grasse). Élimination des traces d'eau par double passage de l'échantillon dans une colonne remplie du Na₃SO₄.

L'appareil utilisé est un CPG, GC-17A (marque Agilent, USA) équipé d'un injecteur (Température de l'injecteur : 270°C) sur colonne et d'un détecteur d'ionisation de flamme (FID) (Température du détecteur : 280°C). La longueur de la colonne est 50 m ; diamètre 0,25 μ m, épaisseur du film 0,2 μ m (Ohio Valley Specialty Chemical Inc., Marietta, OH, USA). La température du Four : 179°C avec un débit de gaz vecteur de 0.9 mL / min. Le volume d'échantillon injecté dans le CPG est de 5 μ L. Le protocole adopté est celui utilisé par **Mallatou *et al.* (2003)**, où les conditions de travail sont, la température du four de la colonne était programmée à partir de 60°C à 70°C à un taux de 1°C / min, après 2 min maintenir à 60 °C ; puis à 220°C à un taux de 10°C / min avec un maintien de 40 min à 220°C. La température du FID était fixée à 280°C.

7. Caractérisation sensorielle et aromatique

7.1. Analyse sensorielle

L'analyse sensorielle a concerné une comparaison entre échantillons de *Bouhezza* de fabrications différentes avec des échantillons de commerce et de ferme ; une analyse des descripteurs sensoriels du fromage *Bouhezza* et une comparaison sensorielle entre *Bouhezza* de lait de vache et de lait de chèvre (de 2010). Lors de l'analyse, les échantillons sont ramenés à 20-25°C.

L'objectif de cette analyse consiste à donner la description sensorielle du fromage traditionnel *Bouhezza* de chèvre de fabrication expérimentale (F1 et F2) obtenus après 07 semaines d'affinage et de ferme (F3) et celui collecté du commerce fabriqué au lait de vache.

Un échantillon de *Bouhezza* est présenté à un sujet, pour lequel il doit préciser les caractéristiques sensorielles évaluées par des observations visuelles et des dégustations selon **Berodier et al., (2003)**.

La caractérisation porte sur l'aspect (élastique, ferme, lisse), la texture et consistance (de très molle à très dure), l'odeur (de faible à élevée), l'arôme (de faible à élevé), le goût, les sensations trigéminales et leur intensité (piquant, arrière-goût et brûlant) et la persistance du goût du fromage (de brève à longue) (**Berodier et al., 2003**). Le bulletin de réponse de cette épreuve est présenté en annexe 03.

- Le **jury** est constitué d'un groupe d'étudiants de l'INATAA en nombre de 10. Les sujets ont bénéficié d'une formation en analyse sensorielle lors de leur cursus de formation.
- L'analyse sensorielle a été réalisée dans les locaux (salles et laboratoires) de l'INATAA, les tests sont menés selon les directives de la norme V09-001 (**AFNOR 1995**).
- A chaque examinateur un échantillon de *Bouhezza* est présenté et mis dans une boîte de pétri fermée pendant une heure avant le test.
- l'évaluation de la saveur salée et acide sur une échelle, des échantillons témoins (petit suisse nature) ont été préparés de saveur salée et acide de note 2 à 6 (**Berodier et al., 2003**).

Bouhezza non épicé : F3nép. est obtenu de *Bouhezza* de chèvre et prélevé après 64 jours de fabrication de la wilaya de Tébessa. B2 est prélevé d'une ferme à Douar El-Medfoune wilaya d'Oum El-Bouaghi fabriqué au lait de vache après 45 jours.

Bouhezza épicé : F3ép. est obtenu à partir de *Bouhezza* de chèvre épicé, prélevé à 72 jours de fabrication de la wilaya de Tébessa, et B4 est prélevé d'une ferme à Ain M'lila (Oum El-Bouaghi) fabriqué au lait de vache après 45 jours et épicé avec la *Herissa*.

7.2. Dosage et détermination des substances aromatique par GC-MS

Les échantillons de fromage ont été obtenus par grattage en petits granules et placés immédiatement dans des flacons en verre dans un congélateur à -20 °C. Des portions de 3,0 g de l'échantillon ont été ensuite placées dans une fiole de 15 mL, puis 10 uL de l'étalon interne contenant 81 mg / kg de 2-méthyl-3-heptanone dans du méthanol (Sigma-Aldrich Co. USA), pour équilibrer à 40 ° C pendant 30 min. L'extraction des matières volatiles a été effectuée selon une technique d'extraction sans solvant (**Pawliszyn, 1997**). Essentiellement, l'extraction a été réalisée en injectant dans la fiole une fibre de divinylbenzène-carboxényl-polydiméthylsiloxane (DVB / CAR / PDMS) de 2 cm 50/30 µm (Supelco, Bellefonte, PA, USA) et l'exposant à l'espace de tête pendant 30 min à 40 °C. L'aiguille

d'injection a été positionnée à 3,0 unités d'échelle sur la seringue SPME (Supelco, Bellefonte, PA, U SA) dans chaque essai. La désorption des matières volatiles extraites a été réalisée sur un système de spectrométrie de masse Shimadzu GC-2010 - Shimadzu Corporation, Kyoto, Japon, et en mode faible division (*splitless*). Pendant la désorption, la fibre est restée dans l'injecteur pendant 2 minutes à une température de 250 °C, avec de l'hélium comme gaz porteur à un débit de 1,0 ml / min. Les composés volatils ont été séparés sur une colonne DB-Wax (60 mx 0,25 mm x 0,25 um, J & W Scientific, Folsom, CA, USA). Le four a été maintenu à 40 °C pendant 2 min (période de désorption), puis augmenté de 5 °C par minute à 70 °C, où il a été maintenu pendant 1 min. La température a ensuite été augmentée de 10 °C par minute à 240 °C, pour donner un temps d'exécution de 30 minutes. Le spectromètre de masse a été mis à enregistrer à 33 à 450 amu (seuil 1000) à un taux d'échantillonnage de 1,11 scans / s. Les composés volatils ont été identifiés par calcul de l'indice de rétention (RI) de chaque composé, en utilisant une norme de série n-alcane (C8 à C20) dans les mêmes conditions. Les identifications des pics ont été basées sur la comparaison des spectres de masse de composés inconnus avec ceux des banques de spectres de masse Wiley 7 (7ème édition) et NIST / EPA / NIH 02. Les identifications ont également été confirmées en comparant les durées de rétention aux normes de référence disponibles. Une trentaine de composés standard authentiques (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) ont été utilisés pour confirmer les volatiles dans les échantillons de fromage. Les valeurs de RI ont également été comparées à celles déterminées dans les mêmes conditions et décrites dans la littérature pour correspondre aux composés. Les résultats ont été calculés par comparaison de la surface de pic du standard interne et des composés inconnus. Chaque composé a été exprimé sous forme de µg / 100 g de fromage. Les étalons utilisés pour la confirmation dans l'analyse de chromatographie phase gaz (GC) sont ceux rapportés en 2017 (Medjoudj *et al.*, 2017).

8. Caractérisation texturale

L'analyse de profil de texture (APT) du fromage *Bouhezza* a été effectuée à l'aide d'un texturomètre (analyseur de texture, TA Plus, instruments LLOYD, Angleterre). L'analyse de profil de texture est un essai de compression double pour déterminer les propriétés texturales des aliments. Au cours d'un essai APT, les échantillons sont comprimés deux fois à l'aide d'un analyseur de texture pour donner un aperçu de la façon dont les échantillons se comportent lorsqu'ils sont mâchés. Le test a souvent été appelé le «test de deux morsures» parce que l'analyseur de texture imite l'action mordante de la bouche.

L'APT permet de mesurer différentes caractéristiques d'un échantillon. L'objectif de cette analyse est de quantifier le changement des propriétés texturales du fromage au-delà de 5 semaines de

fabrication affinage. A cet âge le produit aura atteint l'état d'un produit pâteux et solide. Toute l'analyse instrumentale de texture a été effectuée sur des échantillons de fromage affinés non épicés et épicés, des 3 fabrications (F1, F2 et F3) qui ont été soumis au test d'évaluation de la texture. Une quantité d'échantillon est déposée dans une capsule de 2 cm de hauteur et de 3 cm de diamètre puis soumise à une double compression puis relâchement, à l'aide d'une sonde circulaire de 0,5cm de diamètre, avec une pénétration sur une profondeur de 15mm (75% de la hauteur de l'échantillon). Les échantillons ont été ramenés à la température ambiante de 25°C. Pour chaque test, deux mesures répétées ont été effectuées et des valeurs moyennes sont rapportées.

Les deux cycles mesurés, on obtient les valeurs de différentes caractéristiques qui sont tirés des tracés résultant grâce au logiciel NEXYGEN relié au texturomètre. Les forces maximales enregistrées lors des compressions successives ainsi que les aires sous les courbes de forces permettent de calculer différentes grandeurs pouvant être mises en relation avec des descripteurs de texture tels que la dureté, le collant, l'élasticité et la cohésion du produit.

Cette analyse texturale permet de déterminer la dureté (N), l'élasticité (mm) et la masticabilité (Nmm), la cohésion, l'indice d'élasticité, l'adhésion (N), la force de rupture (N), la force d'adhésion (Nmm), la force d'adhésivité (N) et la rigidité (N/mm) de notre pâte fromagère.

La courbe générée par le texturomètre avec des termes spécifiques, est connue sous le nom de technique d'analyse de profil de texture des aliments. **Bourne (1978)** a répertorié (et modifié) 5 paramètres mesurés et deux calculés.

9. Analyse statistique

La présence d'une différence spécifiée est recherchée entre les fabrications du *Bouhezza*. Le test de comparaison de deux moyennes pour série apparié à un seuil de 5% a été effectué. Le test t de Student pour deux échantillons appariés ; test bilatéral au seuil de 0,05 ($\alpha = 5\%$) a été réalisé pour la recherche de la présence d'une différence spécifiée entre les paramètres physicochimiques et microbiologiques des échantillons de *Bouhezza*.

L'analyse de variance (ANOVA) a été effectuée avec un test de comparaison multiple pour comparer les moyennes de composition chimique des fabrications de fromages. La relation entre les variables des substances volatiles a été évaluée par l'analyse en composantes principales (ACP). Le traitement statistique a été effectué en utilisant le logiciel XLSTAT version 2009.

Résultats et discussion

I- Résultats de l'enquête

L'objectif de cette recherche était de rassembler le maximum d'information sur le processus de fabrication traditionnel du fromage « *Bouhezza* » dans les différentes régions de la zone « Chaouia ». C'est la zone la plus touchée par la préparation de ce fromage traditionnelle.

Dans cette partie nous donnerons l'ensemble de nos résultats portant sur les réponses obtenues de l'enquête. Elle nous a permis de décrire les étapes de fabrication du fromage qui commence par la préparation de la *Chekoua* (autre ou *Djeld de Bouhezza*). Il faut souligner que l'utilisation de cette dernière revêt une grande importance en jouant le rôle d'un ultrafiltre.

Nous avons obtenu les méthodes de préparation de la peau et de préparation du fromage de terroir, la période de la fabrication, la conservation et les modes de consommation de ce fromage.

1.1. Renseignements sur les familles enquêtées

La majorité des réponses sur la fabrication de *Bouhezza* est obtenue dans les communes d'Ain Fakroun, Ain Karcha et Ain beida (Oum El-Bouaghi) dont la totalité vit en zones urbaines. Sedrata (Souk Ahras), keis et Khenchela (Khenchela), Batna et Merouaana (Batna) où presque tous le pourcentage des enquêtés habitent en zones rurale. Dans la wilaya de Tébessa, c'est au niveau d'El-Aouinet, Ouenza, Tébessa et Bir Mokadem où sont obtenues la majorité des réponses sur *Bouhezza*.

L'âge minimum moyen des enquêtés est de 29 ans, le maximum est en moyenne de 83 ans. Environ 88% de sexe féminin et le reste des hommes. Les différentes origines ethniques de wilayas enquêtées (Oum El Bouaghi, Khenchela, Souk Ahras, Batna et Tébessa) et la quasi-totalité des familles enquêtées sont d'origine *Chaouie* avec **98,5%**.

1.2. Fabrication traditionnelle du fromage *Bouhezza*

Notre enquête a touché plusieurs Dairates et Communes dans les wilayas de Batna, Khenchela, Oum El-Bouaghi, Tébessa et Souk Ahras, selon les pourcentages suivants :

- **25,65%** des enquêtées à **Tébessa**,
- **55,94%** des familles enquêtées **d'Oum El-Bouaghi**,
- **2,25%** des enquêtes à **Batna**,
- **13,30%** des familles de **Khenchla**
- **et 2,85% de Souk Ahras.**

Parmi les enquêtées dans les 05 wilayas, 604 familles en zone urbaine et 238 en zone rurale, au total 842 familles approchées réparties comme suit :

Oum El Bouaghi	
Daira	Commune
Ain el Beida	Ain Beida
	Bir Ounas
	Ouelad Amar
	El-Djazia
Ain Fakroun	El hassi
	Ouelad zina
	Ain fakroun
Sigus	Snoussi aissa
	Boughrara Saoudi
	Sigus
Oum El-Bouaghi	Bir Amar
	El Wasâa
	El Mdfoune
	Abass Lghroun
Ain Karcha	Sidi R'ghis
	Ain Karcha
	Hanchir Toumghani
Ain M'lila	Ain M'lila
	Ouelad Gacem
Ksar Sbahi	Ksar Sbahi
Meski ana	Meskiana
Fkirina	Fkirina
	Oued Nini
Dhalâa	Dhalâa
	Wlad Salah
	Rmaidia
	Binaïm
	Wlad Mbarak
	EL Djazia
Souk Naâmane	Srahna
	Bordj Hssana
	Ras Zbar
	Souk Naaâmane
Ain Babouche	Ain Babouche
	Ain Diss
12/12	19/29
zu :301/ zr : 170	

Zu : zone urbaine
Zr : zone ruraale

Tébessa	
Daira	Commune
Tébessa	Tébessa
	Ain fadha
Bir El MokKadem	Bir El Mokkadem
	Hammamet
	Guorriguer
El-kouif	El-kouif
	Ouenza
El Aouinet	El Aouinet
	Boukhadra
Chéria	Chéria
Morsot	Morsot
El ma labiodh	El ma labiodh
Bir El-Ater	Bir El-Ater
El Ogla	El Ogla
10/12	14/28
zu :182 zr :34	

Souk Ahras		Batna	
Daira	Commune	Daira	Commune
Sedrata	Sedrata	Batna	Batna
			Fesdis
Oum El Adhaim - Terraguelt	Oum El Adhaim - Terraguelt		Kéchida
		Merouana	
Bir Bouhaouch	Bir Bouhaouch	Chemora	Chemora
03/10	04/26	03/21	04/61
zu : 16 zr : 08		zu :15 zr : 04	

Selon les résultats de l'enquête, il y a sur 498 enquêtées :

◆ Des personnes enquêtées ne connaissent pas le fromage *Bouhezza*, ignorent les détails de sa fabrication, et n'ont jamais entendu parler de ce fromage (18,36%) ;

◆ Des personnes qui connaissent le fromage *Bouhezza* mais sans le fabriquer (la majorité des personnes l'achètent prêt à la consommation ou préparé), ne connaissent pas la mode et ignorent les détails de sa fabrication (31,88%).

◆ Des personnes qui connaissent *Bouhezza* et le fabriquent, ce groupe a été choisi pour reprendre à nos questions sur la partie du fromage (49,76%).

La répartition des enquêtés par wilaya selon leur connaissance de *Bouhezza* est présentée dans la figure1.

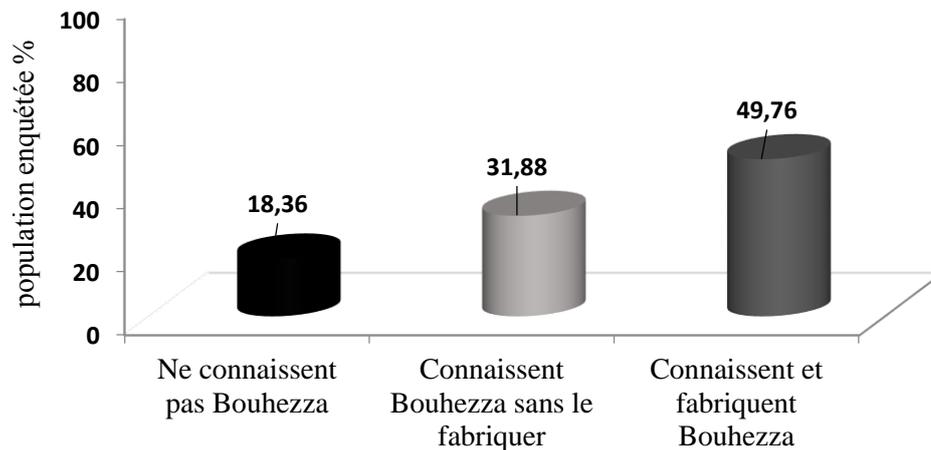


Figure 1. Répartition des enquêtés selon leur connaissance de *Bouhezza*

D'après l'enquête réalisée, nous avons confirmé l'existence de la pratique de *Bouhezza* dénommé aussi « *milhdouaba* » (72,22% des personnes enquêtées connaissent le fromage sous ce nom), « *bouaâza* ou *boumellel* » dans la wilaya de Tébessa, en particulier à Hammamet et Chréa, 16,66% connaissent le fromage sous le nom de *Bouhezza* et 11,11% le connaissent sous les deux noms. Trois familles dans la wilaya d'Oum El-Bouaghi, de douar El-Hassi dont *Bouhezza* est connu sous un autre nom qui est « *fromage arabe* ».

Les résultats de l'enquête nous ont permis de décrire les étapes de fabrication du fromage qui commencent par la préparation de la *Chekoua*. Le lait de fabrication est un lait cru de chèvre, vache ou de Brebis. L'élaboration du fromage se réalise par :

- la préparation du contenant de la pâte : *Chekoua* ;
- la préparation du *Lben* puis l'introduction de ce dernier dans la *Chekoua*,

- l'ajout de *Lben*, dans la *Chekoua* se fait chaque 2,3 ou 4 jours ;
- lavage de la *Chekoua* 1 à 2 fois chaque jour pendant la durée de fabrication jusqu'à la maturation.

En fin de fabrication, quand le fromage est mûr le piment rouge est mélangé à la pâte fromagère ou dans le dernier ajout du lait cru dans la *Chekoua* et est laissé pendant une semaine avant consommation.

1.2.1. Objectifs de la fabrication

Le but de la fabrication varie d'une famille à l'autre selon la disponibilité des animaux (vache, chèvre, brebis) et selon les conditions de vie de la famille.

Toutes les familles enquêtées fabriquent le fromage *Bouhezza* pour différents objectifs dont :

- La majorité (70,69%) le fait dans le but de satisfaire leur besoin de l'autoconsommation de la famille, une partie de fromage est consommée par la famille et l'autre est offerte aux voisins. La quantité fabriquée est soit totalement consommée au sein de la famille, soit offerte à la famille ou aux voisins.
- Pour récupérer le reste et l'excès de lait et/ou de *Lben* produits dans la ferme ou par la famille.
- Pour garder leurs habitudes ou leur civilisation et traditions ;
- des familles fabriquent *Bouhezza* commercial (26,5%), il est vendu aux revendeurs de lait et produits laitiers pour contribuer à améliorer les conditions de vie de la famille, et permet d'acheter l'alimentation pour les animaux d'élevage et racheter d'autres animaux.

1.2.2. Préparation de la peau (*Chekoua* ou *Djeld*)

La fabrication de fromage *Bouhezza* nécessite la préparation d'un contenant (*Chekoua*) à partir de peau de différents animaux (chèvre, brebis et agneau) récupérée après l'abattage, Cette *Chekoua* joue le rôle particulier d'un ultrafiltre. C'est une membrane naturelle utilisée comme contenant et un séparateur de phases. Il s'agit d'un type de contenant perméable, de couleur naturelle, préparé à partir d'animaux d'élevage ;

- **Type et taille de la peau utilisée « *Chekoua* ou *Djeld* »**

La *Chekoua* joue le rôle d'un contenant perméable, membrane ou récipient naturelle et un séparateur de phase (l'égouttage).

Selon l'enquête effectuée, le type de l'animal utilisé pour préparer la *Chekoua* est généralement de chèvre ou de brebis.

Selon le type d'animal utilisé le volume final de la *Chekoua* diffère. Généralement la taille de la *Chekoua* varie entre 10 à plus de 15 litres. Le tableau 1 montre les différents types de peaux utilisées pour la confection du contenant de *Bouhezza*.

Tableau 1. Type de peaux utilisées pour la préparation de la *Chekoua* de *Bouhezza* dans les 5 wilayas enquêtées.

Utilisation courante de peau de :						
wilaya	Chèvre	Brebis	Agneau	Chevreau Ch ou Bre	Chèvre et/ ou Brebis	total
Batna	11	07	00	01	00	19
Khenchela	35	23	13	07	06	84
Oum El-Bouaghi	255	75	57	41	11	439
Tébessa	55	16	03	Chevreau 16	07	97
Souk Ahras	10	08	02	04	-	24
Total	366	129	75	69	24	663
% des réponses	55,2%	16,46%	11,31%	10,41%	3,62%	100%

L'ensemble des familles enquêtées ont des réponses différentes sur le choix de la peau et le type d'animal disponible (Figure 2).

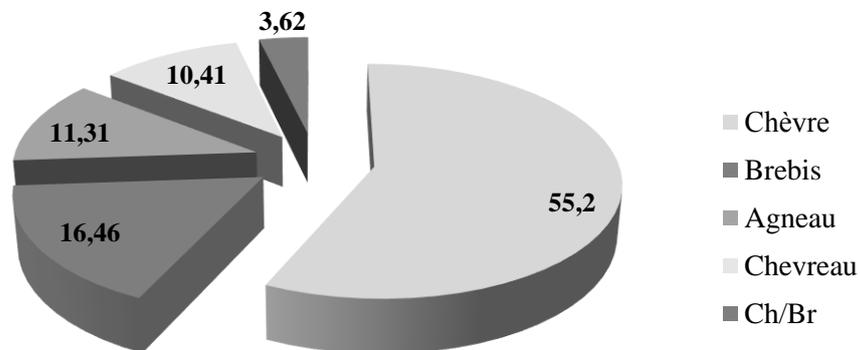


Figure 2. Type de peaux utilisée pour la fabrication de *Bouhezza*

Parmi les familles enquêtées, 55,2% préfèrent l'utilisation de la peau de chèvre, ces familles justifient leur choix par la solidité (se conserve assez longtemps) de ce type de peau, la rapidité d'égouttage (bon égouttage) et la résistance aux chocs (elle est plus épaisse).

Alors que 16.46% des enquêtés utilisent la peau de brebis, la raison est que cette peau possède une grande vitesse d'égouttage. Cependant d'autres familles préfèrent la peau d'agneau ou brebis selon

les disponibilités, 11,31% utilisent celle de l'agneau à cause de leurs disponibilités et parce que cette dernière est caractérisée par les deux avantages la résistance et la vitesse d'égouttage.

Enfin nous trouvons que 3,62% des familles enquêtées utilisent la peau de chèvre ou de brebis selon leurs habitudes et selon la disponibilité de peaux d'animaux. Ces familles font de l'élevage d'une seule espèce (chèvre ou brebis), 10,41% des familles préfèrent l'utilisation de la peau de chevreau justifient leur choix dans les deux cas par la solidité de ce type de peau et la rapidité d'égouttage.

La durée de fabrication varie entre 6 à 25 jours, mais la moyenne de la durée de la fabrication de peau varie de 07 à 15 jours pour la majorité des déclarations.

- **Volume de *Chekoua***

Le volume final de la *Chekoua* utilisée dans la fabrication de *Bouhezza* varie de 5 à plus de 15 litre. Les résultats de l'enquête pour la taille de la *Chekoua* de fabrication de *Bouhezza* sont représentés dans le tableau 2. Il est en relation avec le traitement de la peau. Il varie selon l'espèce et l'âge de l'animal.

Tableau 2. Taille de la peau utilisée pour la fabrication de *Bouhezza*.

	Volume de la <i>Chekoua</i>					
	3 L	5L	6 à 10 L	10 à 15 L	Plus de 15 L	
Batna		08	06	02	03	19
Khenchela	02	06	46	31	19	104
Oum El-	08	40	205	75	39	367
Souk Ahras	02	00	04	8	10	24
Tébessa		05	111	67	33	216
Total	12(1,64%)	59(8,08%)	372 (50,96%)	183 (25,07%)	104(14,25%)	730

Nous observons que 14,25% des personnes enquêtées utilisent une peau d'un volume supérieur à 15 Litre, il varie de 5 à plus de 15 litre ou de 5 à 20 L. Il est d'autant plus grand que la peau utilisée est celle de brebis. La peau la plus utilisée est celle d'un volume de 6 à 10 Litre par 50,96% des enquêtées des différentes wilayas suivi par celui de 10 à 15 litres par 25,07% des enquêtées. Le volume de 5L est utilisé et signalé par 8,08% des familles et enfin celui de 3L est faible avec 1,64% des familles (Figure 3).

L'analyse de ces résultats apparait que les enquêtées, plus de la moitié, utilisent beaucoup plus la *Chekoua* de volume moyen 6-10 L. Les autres (49,04%) enquêtées disent que le volume de *Chekoua* n'est pas essentiel pour le choix alors que le plus important est la disponibilité de la

matière première. Le volume est en relation avec le type d'animal mais l'essentiel est la disponibilité du lait.

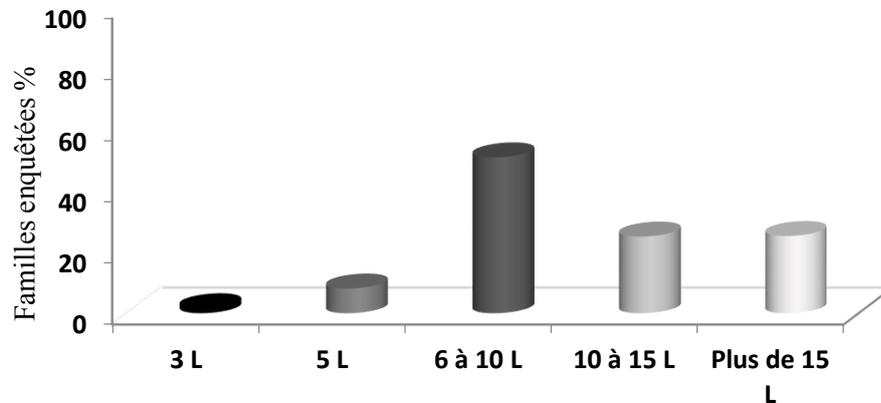


Figure 3. Volume de *Chekoua* utilisée pour la fabrication de *Bouhezza*.

Traitement de la peau

• Putréfaction

La première opération que va subir la peau est la putréfaction. Cette première étape de traitement se fait par trempage de la peau dans de l'eau tiède puis mise dans un sac en plastique et laissée sous les rayons de soleil (pour faciliter le dépilage de la *Chekoua*), jusqu'à putréfaction pendant plusieurs jours ; 3-10 jours jusqu'à 2 semaines (une semaine généralement). Lorsque la température est élevée la durée de putréfaction est courte 2 à 3 jours au chaud et inversement, 10 à 15 jours au froid.

La peau est lavée au savon puis laissée se putréfier à une température ambiante à cause de la facilité d'arrachage des poils soit avec la main ou avec une lame. La méthode de lavage avant putréfaction est préférée chez la plupart des familles (61,11%) parce qu'elle est rapide, l'odeur de putréfaction est moindre, moins coûteuse et n'altère pas la peau.

• Dépilage de la peau

Le dépilage c'est l'opération d'enlèvement des poils qui se trouvent sur le côté extérieur de la peau, chez la plupart des enquêtées cela se fait à l'arraché manuellement.

La peau est débarrassée de la laine ou de ses poils manuellement ou à l'aide d'un couteau ou avec une lame, mais la majorité avec la main. La totalité des enquêtés insistent sur le lavage de la peau avec de l'eau.

• Produits de traitement de la peau

La peau est traitée avec différents produits : Sel, genièvre (*Araâr*), *Lben*...et autres. Le sel et l'*Araâr*, sont les plus utilisés.

Le genièvre nommé « Araâr » est utilisé par agencement sur le sel. Dans le processus de fabrication de « Bouhezza » les différents produits de traitements sont utilisés pour leur rôle dans l'élimination des odeurs putrides grâce à la production de différents arômes.

Le type de matière et la quantité utilisée pour le traitement de la peau sont résumés dans le tableau 3.

Tableau 3.Type et quantités de matières utilisées pour le traitement de la peau.

Matières	Quantité*	Durée de traitement (j)
Sel	1000-500g	6-12 jours
Genièvre(Araâr)	250-500g	5-10 jours
<i>Lben</i>	1-3 litre	2 jours
Semoule	250-500g	3-5 jours
Autre (Pelure de Grenade, Cendre, romarin, orge)	250g+ facultative	5-10 jours

* selon le volume de peau

Après le dépilage, la peau est lavée avec l'eau de robinet et après saupoudrée des deux côtés avec le mélange de « sel+Araâr ». La peau est laissée pendant quelques jours (2 à 4 jours) dans un sac de plastiques.

La quantité utilisée des différents produits de traitements varie d'une famille à une autre, généralement une mesure de genièvre avec une mesure de sel. La durée de traitement est entre 7 à 12 jours.

La quantité du sel utilisée varie entre 500g à 1Kg durant 7 à 15 jours. Le genièvre est ajouté à une quantité qui varie entre 250 g à 1/2 kg pendant la même durée que le sel.

- **Traitement de la peau**

Pour 100% des enquêtés, la peau est traitée avant l'utilisation. Plusieurs produits sont utilisés dans le traitement de l'outre. Parmi ces produits nous avons : sel, genièvre (*Arâar*), *Lben* et semoule. Ceci est montré dans le tableau 4.

Tableau 4. Différents produits utilisés pour le traitement de la peau en fonction des réponses des familles.

	Sel	Genièvre	<i>Lben</i>	Semoule	Tanin	Autres	Total
Batna	15	11	02	02	04	01	35
Khenchela	65	47	04	04	04	02	126
Oum El-Bouaghi	134	96	35	42	10	03	320
Tébessa	122	119	01	34	18	01	295
Souk Ahras	10	05	01	03	-	-	19
Total	346	278	43	85	36	07	795

D'après le tableau 5, nous observons que toutes les personnes enquêtées utilisent le sel et le genièvre comme des ingrédients de base dans le traitement de la peau. Selon l'enquête, la plupart des réponses 78,49% des familles utilisent du sel et du Genièvre (Araâr) en macération pendant 7-15 jours, une seule fois pour l'extraction de l'odeur de la peau, avec une quantité introduite de *Lben* et de la semoule.

La proportion de 4,53% utilisent le tanin (cet usage est fait pour la *Chekoua* utilisée pour le barattage du « Rayeb » et non celle utilisée comme contenant de *Bouhezza*, l'information apportée est traitée par confusion chez certaines enquêtées entre les deux peaux et leur différent usage).

Ensuite la peau est laissée au repos pendant une à deux semaines pour éliminer l'odeur de putréfaction et la rendre plus solide. Après le traitement, toutes les enquêtées lavent et retournent la peau (côté poil à l'intérieur et côté chaire à l'extérieur).

La peau est utilisée immédiatement par 70% des familles et 30% la conserve pour plusieurs raisons (la disponibilité du lait, la volonté de fabrication). La conservation est réalisée en présence de plusieurs conditions (séchage à l'air ou par utilisation du sel). La quantité du sel ajoutée varie entre 0,5 à 1 kilogramme durant 4-8 jours. Le genièvre est ajouté avec une moindre quantité qui varie entre 100 à 300 gramme pendant la même durée que le sel.

Le sel étant l'ingrédient de base utilisé par toutes les familles dans toutes les wilayas. Les enquêtées signalent qu'il absorbe l'eau et le sang prisonnier à l'intérieur des cellules de la peau et donne une solidité à cette dernière. Pour 100% des familles, le sel est incorporé avec une quantité de genièvre qui chasse les odeurs putrides et rendent la peau plus solide.

✓ **Forme et mode de traitement de la peau**

Après le dépilage, la peau est lavée dans l'eau plusieurs fois. Puis elle est traitée avec différentes matières ; principalement avec du sel, du Genièvre (Araâr), également d'autres produits (*Lben*, semoule,...) peuvent être incorporés. Ces produits sont utilisés selon les deux formes (solide ou liquide). Le genièvre est pris sous la forme solide « en poudre » et bien mélangé avec le sel.

La forme liquide de mélange est obtenue après macération du genièvre dans l'eau. Après, le sel est ajouté, le mélange est laissé de 3 à 4 heures pour bien se mélanger.

Les produits utilisés pour le traitement de la peau sont mélangés. Ils sont utilisés sous formes d'une poudre ou après macération dans l'eau pour éliminer les mauvaises odeurs et rendre la peau plus dure. La durée de traitement des peaux avec les produits est variable.

Dans la tradition de *Bouhezza* les extraits d'aromates sont utilisés sous forme solide ou liquide pour éjecter les odeurs putrides. Le genièvre séché et broyé est utilisé en poudre ou en macération dans l'eau selon la déclaration des familles enquêtées.

***En poudre (Solide) :** après un lavage de la peau, elle est saupoudrée des deux côtés de mélange ; sel et genièvre puis pliée et laissée égoutter à l'ombre.

***En macération (liquide) :** mélange de genièvre et de sel dans l'eau bouillante.

Les autres produits qui peuvent accompagner le sel et le genièvre sont : le *Lben*, la semoule, et le tanin, qui sont utilisées en petite quantité.

- **Le tanin** : est une substance de certains végétaux qui rend les peaux inattaquables et il renferme des composés imputrescibles. Localement, il est dénommé « *D'bagha* » utilisé pour la *Chekoua* utilisée pour le barattage du *Lben*.

- **Le genièvre** : libère un arôme et une odeur agréable balsamique (**Richard et Multon, 1992**). Le genièvre est utilisé par agencement sur le sel. Localement, il est dénommé « *Arâar* ».

- **Autres produits**

Le chlorure de sodium, employé comme assaisonnement pour éliminer l'odeur de putréfaction. La forme solide du genièvre se fait après un simple pilage modéré du fruit et écorces et mélange avec du sel. La peau lavée est saupoudrée des deux côtés de ce mélange, puis pilée et laissée égoutter à l'ombre dans un tissu 2 à 4 jour. Elle est ensuite trempée dans l'eau de macération du tanin et de sel pendant une journée.

Les quantités utilisées dans le traitement ne sont pas données avec précision, soit une mesure de genièvre est mélangée avec une mesure de sel. Cependant, la forme liquide se pratique après macération du genièvre dans l'eau bouillante. La solution est refroidie puis salée.

Dans la wilaya d'Oum El Bouaghi des enquêtés utilisent le genièvre et le sel sous forme liquide même que la totalité des enquêtés de la wilaya de Khenchela et Batna, 69,5% des familles utilisent les produits en macération (trempent la peau dans l'eau salée pendant quelques heures à deux jours, 33,07 % les utilisent en poudre.

Tableau 5. Forme d'utilisation du genièvre

Wilaya	Solide (en poudre)	En macération	Non précis	total
Oum El-Bouaghi	86	138	3	227
Souk Ahras	07	05	1	13
Khenchela	25	42	3	70
Batna	10	12	2	24
Tébessa	95	101	2	198
Total	223(41,92%)	298 (56,01%)	11(2,07%)	532

Le *Lben* (4,06%) et semoule (9,05%) sont utilisés à un faible pourcentage et respectivement, *Guetrane* pour éliminer l'odeur désagréable, poivron noire, *Cheb (Alun)* et romarin (iklil).

Après traitement, la peau peut être conservée ou utilisée immédiatement après nouaison. En effet, la peau est d'abord retournée côté poils à l'intérieur et côté chaire à l'extérieur ensuite elle subit un découpage des ouvertures arrières ayant servi à l'abattage. Les ouvertures des membres antérieures sont noués de façon à ne laisser qu'une seule ouverture ; celle du cou pour le remplissage et la vidange de contenu. La peau de *Bouhezza* peut être conservée après séchage dans un endroit sec pendant quelques mois à deux ans.

La totalité des enquêtées laissent la peau dans ces produits pendant au moins 2 à 3 jours. Selon leurs déclarations, plus la durée de traitement de la peau est longue plus elle devient solide et de bonne odeur. Le tableau 6 présente les durées de traitement de l'outre.

Tableau 6. Durée de traitement de la *Chekoua*

Wilaya	Durée de traitement (jours)			Pas de précision
	02-03j	04-07j	15 j	
Oum El-Bouaghi	1	8	5	8
Khenchela	1	0	5	0
Souk Ahras	0	2	1	4
Tébessa	0	0	2	0
Total	2	10	13	12

✓ **Lavage de la peau**

Après le traitement par ces produits, la peau est lavée soigneusement avec l'eau pour l'élimination des débris de genièvre et pour éliminer les odeurs désagréables de l'après putréfaction. Le nettoyage et le lavage sont faits pour éliminer toutes les impuretés et saletés persistantes, qui peuvent contaminer le fromage lors de sa fabrication.

✓ **Retournement de la peau**

Cette action consiste à retourner la peau ; le côté poils à l'intérieur et côté chaire à l'extérieure afin de faciliter l'égouttage. Après le traitement, et pour 75% des personnes enquêtées la peau est retournée comme suit : côté poils à l'intérieur et côté chaire à l'extérieur et le reste (25%) ne la retourne pas. Cette dernière proportion doit utiliser la peau comme contenant du barattage et non ps comme outre destinée à la fabrication de *Bouhezza*.

✓ **Nouaison de la peau**

Avant la nouaison de la peau il faut lui faire subir un découpage de certaines parties de l'animal (les pieds) puis la peau est ficelée et nouée. La *Chekoua* est nouée pour obtenir la forme d'un contenant (sac) du fromage. Après retournement de la peau, les ouvertures arrières ayant servi à

l'abattage sont coupées et les ouvertures des membres antérieurs sont noués de manière à ne laisser qu'une seule ouverture ; celle du cou (col) pour le remplissage et la vidange des matières premières dans la *Chekoua*. Soit des noix de datte soit un morceau de bois et des fils solide sont utilisés pour la nouaison.

✓ **Gonflement de la peau**

Après nouaison du col (le trou), la peau est gonflée d'air pour prendre sa forme, et on peut utiliser la peau pour la fabrication de « *Bouhezza* ».

✓ **Conservation de la peau**

Après traitement, la peau peut être séchée au soleil pendant deux jours et conservée après sa nouaison pour 55,5% des personnes enquêtées. Cette conservation se fait dans un endroit sec loin de l'humidité et en suspension dans l'air, à l'ombre (locaux secs et aérés) jusqu'à quatre ans. Parmi les enquêtées, 44,5% ne conserve pas la peau. Toutes les familles enquêtées ajoutent le sel comme agent de conservation, 65% des familles enquêtées utilisent le genièvre. La période varie selon le besoin d'utilisation. Selon les familles enquêtées, l'outre (*Djeld*) peut être conservée avant ou après la nouaison.

- Si l'outre n'est pas destinée à l'utilisation immédiate (avant ou après nouaison), elle peut être séchée et conservée jusqu'à utilisation. Elle est maintenue dans un endroit sec et à l'ombre durant toute la période de conservation.

- Chez la plupart des familles, l'utilisation du sel et de genièvre est suffisante pour la conservation de la peau le long de la période de fabrication. Après déshydratation complète, l'outre peut être conservée quelques mois à plus d'une année.

- **Traitement du *Djeld* avant utilisation**

Après conservation et avant utilisation de la peau toutes les familles enquêtées (100%) traitent la peau par trempage dans l'eau et / ou *Lben* jusqu'à son ramollissement pendant une journée (12 à 24heures) pour la rendre utilisable. Le tableau 7 présente les produits utilisés pour traiter l'outre conservée. La peau nécessite un traitement avant l'utilisation par 92,91% des familles mais d'autres familles déclarent qu'ils ne font pas de traitement après conservation (7,08%).

Tableau 7. Produits utilisés avant l'utilisation de la *Chekoua* conservée.

	Matière ajoutée			total
	L'eau	<i>Lben</i> ou lait	Pas de réponse	
Batna	09	04	00	13
Khenchela	42	15	01	58
Oum El-Bouaghi	54	19	11	84
Tébessa	23	06	-	29
Total	128	44	12	184

Des familles enquêtées trempent la peau dans l'eau 66,3%. Alors que 20,46% des familles choisissent le trempage dans le lait ou *Lben*, pendant 1 jour avant l'utilisation, selon les résultats des familles enquêtées, 2,7% ne trempent pas la peau après leur conservation et 15% n'ont pas précisé leur réponse.

Le lait ou l'eau, utilisés dans le trempage doit varier entre 5-10 litres (selon le volume final de l'outre), pendant 1 jour, selon les résultats des familles enquêtées, avant l'utilisation.

Le remplissage de la *Chekoua* avec une petite quantité du lait (1 à 2 litres) pendant une nuit pour l'adaptation de la flore du contenant avec ce produit laitier, après, la peau doit être bien lavé à l'eau. D'autres familles imprègnent l'outre pendant une nuit, pour éliminer les mauvaises odeurs, dans un mélange de genièvre préparé dans d'eau bouillante. Après la conservation et avant utilisation, la majorité des familles traitent la peau par trempage dans l'eau environ 2-3 litres durant la nuit, d'autres familles préfèrent traiter par trempage dans le lait ou *Lben*. La préparation de la peau de *Bouhezza* (Djeld) est mentionnée dans les figures 4 et 5.

1.2.3. Fabrication du fromage de terroir

La fabrication de *Bouhezza* s'amorce chez les familles enquêtées avec le *Lben* qui remplit soit tout le volume de la *Chekoua*, soit la moitié. Celui-ci est suivi par plusieurs ajouts constitués de *Lben* et de lait cru. Le salage est réalisé en parallèle. La majorité des familles enquêtées utilisent le *Lben* de chèvre (selon la disponibilité) pour la préparation de ce fromage, mais il y a des familles qui préfèrent le *Lben* de vache ou de brebis parce que l'odeur est plus agréable que le *Lben* de chèvre.

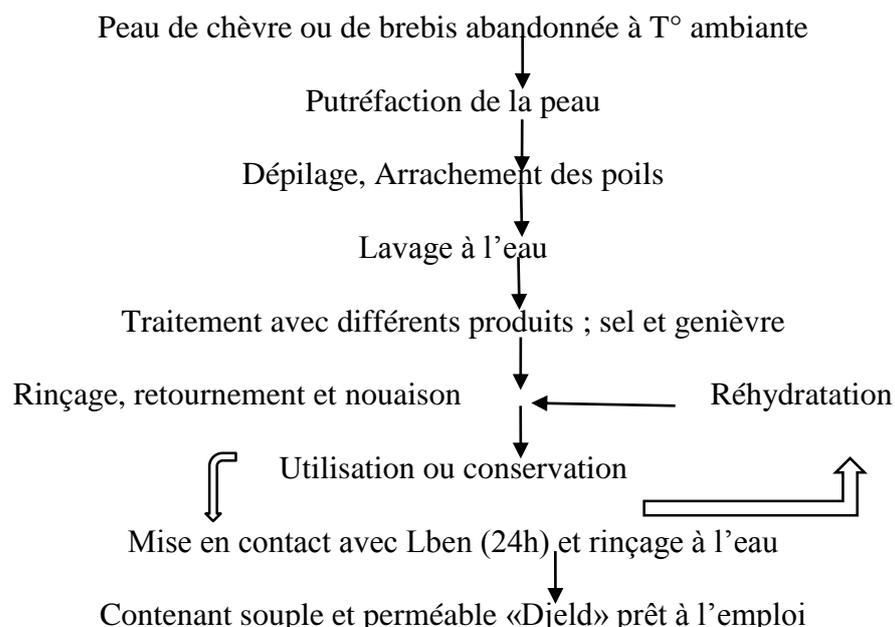


Figure 4. Diagramme et préparation traditionnelle de l'outre « Djeld » destinée à la fabrication de *Bouhezza*

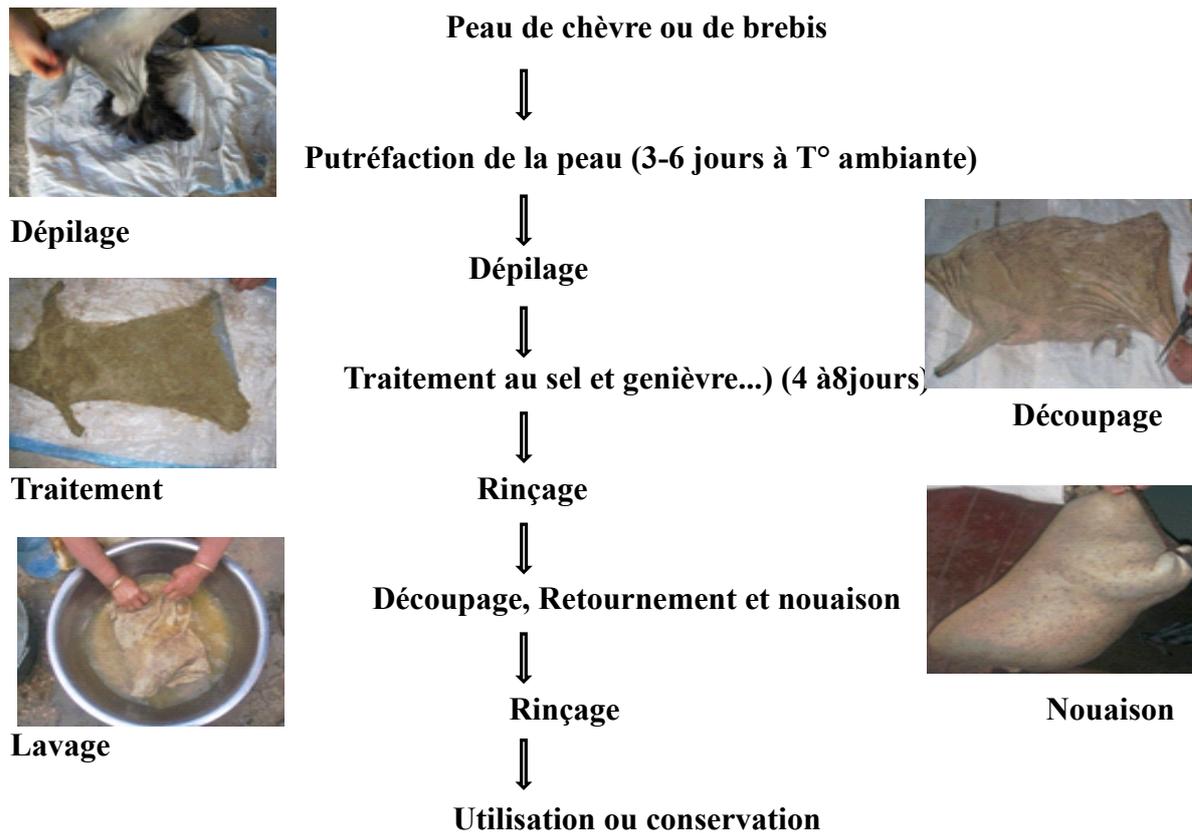


Figure 5. Etapes de préparation du *Djeld (Chekoua)* selon les résultats de l'enquête

- Période de fabrication du fromage *Bouhezza*

La période de fabrication le plus souvent commence en printemps. La fabrication de *Bouhezza* débute chez la plupart des familles enquêtées habituellement au mois de Mars jusqu'au mois de Juin. Donc c'est une fonction périodique. Cette période est liée à l'abondance laitière au printemps où l'herbe est en surplus et surabondance. La période de fabrication est limitée selon la disponibilité du *Lben*, la maturation du fromage et le volume final de *Chekoua de Bouhezza (Djeld)*. La fabrication de *Bouhezza* s'étale de quatre semaines à quatre mois. Les mois de lancement de la fabrication de *Bouhezza* selon l'enquête sont mentionnés dans le tableau 8.

Tableau 8. Période de lancement de fabrication du fromage *Bouhezza*.

	Mars	Avril	Mai	Juin	total
Batna	05	03	03	02	13
Khenchela	35	06	13	04	58
Oum El-Bouaghi	55	08	17	04	84
Tébessa	62	00	00	03	65
Total	157	17	33	13	220

Nous remarquons que le plus souvent, la fabrication du *Bouhezza* commence au mois de Mars (71,36% des familles enquêtées).

- Matière première utilisée

La matière première utilisée dans la fabrication de fromage *Bouhezza* est le lait ou *Lben* de différents animaux (vache, brebis et chèvre) seul ou en mélange (Tableau 9).

La fabrication de *Bouhezza* est lancée le plus souvent avec le *Lben* (95% des familles), et se termine par l'ajout de lait cru qui varie en quantité en fonction de la salinité et l'acidité désiré. Sachant que 5% des familles enquêtées utilisent dès le début un lait fermenté « *Rayeb* » salé pour diminuer au maximum l'acidité du fromage *Bouhezza*. Selon l'enquête, la wilaya de Batna (46,15%), Khenchela (48,39%) et Oum El-Bouaghi (45,49%) utilisent les laits de vache comme matière première. La Wilaya de Tébessa utilise le lait de vache comme matière première d'une proportion de **59,38 %** (sous forme de *Lben*) à cause de sa disponibilité pendant toute l'année et il est moins coûteux, alors que les autres types de lait et de *Lben* sont utilisés selon leur disponibilité (ils sont présent en printemps). Alors que le *Lben* de chèvre n'est utilisé que selon la nature d'élevage et alimentation des animaux.

Tableau 9. Type de matière première utilisée dans la fabrication du fromage.

	Lait de vache	Lait de chèvre	vache et chèvre	Lait de brebis	Les trois laits	
Batna	06	01	04	00	02	12
Khenchela	31	08	06	08	04	57
O.E-B	36	08	02	21	15	82
Tébessa	09	11	00	09	00	29
Lben	296	112		52	168	626
Total						806

Nous avons aussi trouvé que 15% des familles enquêtées lancent la fabrication par les trois laits ou avec le mélange de lait de chèvre plus le lait de vache.

Le lait de chèvre utilisé par 30,92%, de brebis est rarement utilisé par 24,42% et 31,53% dans les wilayas de Khenchela et Oum El-Bouaghi respectivement.

La fabrication peut se faire à partir de lait de chèvre, de vache, de brebis ou le mélange, ceci est lié à la disponibilité du lait, à la nature d'élevage et aussi aux préférences des familles. Cependant des enquêtées (32,94%) déclarent que le fromage *Bouhezza* est obtenu à partir d'un mélange de *Lben*, de deux types de lait (chèvre et brebis).

Il est rare où on utilise le lait comme matière première dans la fabrication traditionnelle du fromage *Bouhezza*.

- Mode de préparation du *Lben*

Le lait utilisé dans la fabrication de *Bouhezza* ne subit aucun traitement thermique (ni pasteurisation ni stérilisation). L'écémage du *Lben* est presque total ; le beurre est écarté après

barattage. Avant l'ajout du *Lben* dans l'outre, le lait subit plusieurs opérations pour le transformer en *Lben*. Chaque famille déclare l'endroit où le lait est abandonné pour coagulation comme présenté dans le tableau 11.

Tableau 10. Endroit ou le lait est abandonné pour la coagulation.

	Le lait est abandonné dans un endroit			
	Frais	Tiède	Chaud	total
Batna	04	02	07	13
Khenchela	10	06	42	58
Oum El-Bouaghi	11	10	59	80
Tébessa	11	04	50	65
Total	36	22	158	216

A partir des réponses, 73,15% des familles enquêtées abandonnent le lait dans un endroit chaud (73,56% d'Oum El-Bouaghi, 53,24% de Batna et 67,15% de Khenchela, 92% de Tébessa) durant 12-24 à 36 heures. Soit de le mettre au soleil, soit il est laissé près d'une source de chaleur durant 24 à 48 jusqu'à 72 heures pour augmenter la vitesse d'acidification jusqu'à l'obtention du *Rayeb*. Des familles 16,67%, laissent le lait dans un endroit frais, mais avec un temps long qui est de 2 à 3 jours selon le climat pour obtenir le *Rayeb*. Des familles déposant le lait dans un endroit tiède pour l'obtention du *Rayeb* (10,18%), mais avec l'augmentation de la durée, de 1-2 à 3 jours voire jusqu'à 4-7 jours.

Pour le mode de préparation du *Lben*, 80% des personnes préparent le *Lben* selon les méthodes traditionnelles. Il subit des opérations de barattage, mouillage puis écrémage. Toutes les familles enquêtées barattent vigoureusement le *Rayeb* obtenu (caillé obtenu ou coagulum), dans une *Chekoua* de peau de chèvre ou de brebis (traitée avec le tanin) durant une demi-heure.

Pendant l'opération du barattage, un certain volume d'eau (environ 1/4 à 1/2 pour 1 litre de matière première) est ajouté pour rassembler les grains de beurre (collecte du beurre), qui facilite sa récupération et aussi pour diminuer l'excès d'acidité de *Lben* due à la transformation du lactose en acide lactique. Les familles déclarent que l'ajout de l'eau tiède ou fraîche se fait 2 à 3 fois lors du barattage et avant l'écémage.

La formation du beurre est jugée par le changement du son qui se produit à l'intérieur de la *Chekoua*. L'écémage est soit entièrement ou partiellement, puisque le beurre peut affecter la qualité organoleptique du fromage pour éviter le rancissement.

Le volume d'eau ajouté au cours du barattage est selon la majorité des familles, au maximum 01 litre, 99 % des personnes enquêtées (260) déclarent que l'ajout de l'eau se fait lors du barattage et avant l'écémage plus de 2 fois. L'eau est ajoutée pour rassembler les grains de beurre, ce qui

facilite sa récupération et aussi pour diminuer l'excès d'acidité de *Lben*. Les volumes d'eau ajoutés les plus utilisés sont de 1/4 L, 1/2 L et 1 L au cours du barattage plus que les autres volumes.

Le *Lben* subit un écrémage, 85,10% des familles enquêtées récupèrent la crème entièrement (58,88% de Khenchela, 84,6% de Batna et 80,68% d'Oum El-Bouaghi, 100% de Tébessa) et 18,20% laissent une partie de la crème dans le *Lben* (écrémage partiel). Des enquêtées ne font pas l'écémage (5,10%).

L'acidité et la matière grasse du *Lben* sont deux principaux facteurs qui influencent la qualité du fromage *Bouhezza*. Le *Lben* obtenu est utilisé directement, son acidité importe peu parce que le *Lben* devient acide dans l'outré.

Le *Lben* ainsi obtenu est utilisé directement dans la fabrication du fromage *Bouhezza*, 100% des familles enquêtées le confirment. Mais pour cette matière première il y a une différence de déclaration des familles sur son acidité. Le *Lben* utilisé dans la fabrication doit être peu acide. Un taux élevé de l'acidité (acidité exagérée) pourrait affecte la qualité organoleptique finale du fromage. Les résultats concernant l'acidité du *Lben* utilisé dans la fabrication du *Bouhezza* sont présentés dans le tableau 11.

La majorité, des familles enquêtées utilisent un *Lben* acide (42,79%) pour obtenir un fromage de bonne qualité parce que l'acidité exagérée affecte la qualité organoleptique finale du fromage, 40,05% déclarent que l'acidité du *Lben* n'est pas importante, le reste (17,16%) des enquêtées utilisent un *Lben* très acide. D'après notre enquête, le *Lben* est écémé après le barattage ; soit totalement ou partiellement pour éviter le rancissement. D'un autre coté, les enquêtées dans les 5 wilayas déclarent que le *Lben* de *Bouhezza* doit être peu acide pour protéger la qualité organoleptique du fromage.

Tableau 11. Acidité du *Lben* utilisé dans la fabrication du *Bouhezza*.

	Acide	Très acide	Peu importe	total
Batna	10	00	09	19
Khenchela	34	08	42	84
Oum El Bouaghi	102	38	72	212
Tébessa	35	29	34	98
Souk Ahras	06	00	18	24
Total	187 (42,79%)	75 (17,16%)	175 (40,05%)	437

- **Facteurs qui dirigent les ajouts successifs de la matière première**

Au cours de la fabrication et après la mise d'une quantité initiale du *Lben* dans la *Chekoua* de *Bouhezza* (*Djeld*), différents ajouts soit de *Lben* ou de lait cru sont programmés en fonction de différents facteurs. La totalité des familles enquêtées (100%) déclarent que les ajouts successifs

sont influencés par la vitesse d'égouttage, la disponibilité du lait ou du *Lben* et la durée d'égouttage.



Figure 6. Ajout des matières premières

La fabrication du *Bouhezza*, doit être amorcée par une quantité précise du *Lben*. La plus grande proportion des enquêtés remplissent jusqu'au 3/4 de volume totale de l'outre suivi par ceux des familles qui préfèrent le remplissage de la moitié de la *Chekoua de Bouhezza*. Cependant, d'autres familles déclarent que le volume est lié au volume du *Djeld* lui-même.

Mais l'ajout de la matière première est programmé en fonction de différents facteurs. Ces principaux facteurs qui dirigent l'ajout de la matière première sont :

- la vitesse de l'égouttage, la disponibilité de la matière première (lait cru, *Lben*) et la durée de l'égouttage de même pourcentage pour presque toutes les familles enquêtées. En fonction de la vitesse d'égouttage 40,07% des personnes enquêtées ajoutent de la matière première, 38,85% des enquêtées ajoutent selon la disponibilité de lait et 21,08% selon la durée d'égouttage et la disponibilité de la matière première. Des ajouts successifs de matière première sont programmés en fonction de la disponibilité du lait ou selon la vitesse d'égouttage (tableau 12).

Tableau 12. Facteurs influençant les fréquences d'ajouts du *Lben* ou lait au cours de la fabrication.

	Vitesse d'égouttage	Disponibilité du lait	Les deux	total
Batna	06	07	06	19
Khenchela	11	41	10	62
O.E-B	188	136	08+ Lben 84	416
Souk Ahras	06	03	03	12
Tébessa	19	36	10	65
Nombre des personnes	108(90%)	100(83%)	Lben 108(90%)	316
Total	230(40,07%)	223 (38,85%)	Lben 121 (21,08%) (21,08%)	574

45% des enquêtées (38,5% de Batna, 42% de Khenchela et 50% d'Oum El-Bouaghi) font les ajouts du *Lben* ou lait selon la disponibilité du lait. 28,75% des familles (31% de Batna, 29% de Khenchela et 27,77% d'Oum El-Bouaghi) en fonction de la vitesse d'égouttage. Pour le reste des

familles (21 familles), les ajouts sont programmés en fonction de la disponibilité du lait et de la vitesse d'égouttage.

Nous remarquons que 36,25% des familles enquêtées (soit 53,85% de Batna, 35,5% de Khenchela et 30,5% de Oum El-Bouaghi) remplissent totalement l'outre, le reste des familles ne la remplissent pas totalement. Les réponses sur les volumes de premier ajout de la matière première dans la *Chekoua* de *Bouhezza* (*Djeld*) sont mentionnées dans le tableau 13 suivant.

Tableau 13. Volume de premier ajout de la matière première mis dans l'outre.

	1/4 volume de l'outre	1/3 volume de l'outre	1/2 volume de l'outre	3/4 volume de l'outre	total
Batna	01	02	06	07	16
Khenchela	24	01	26	15	66
Oum El-Bouaghi	23	32	113	181	349
Tébessa	00	00	08	27	35
Souk Ahras	01	07	03	05	16
Total	49(10,16%)	35 (7,26%)	156 (32,36%)	235(48,75%)	482

Il est remarquable que 100% des familles enquêtées ne remplissent pas totalement l'outre.

Selon les familles enquêtées ; 48,75% remplissent les 3/4 du volume de l'outre, 32,36% remplissent la moitié de l'outre, 10,16 % et 7,26% remplissent 1/4 et 1/3 du volume de l'outre respectivement. La forme de *Lben* utilisé dans la fabrication de fromage dépend de deux facteurs : l'acidité et la température. Le *Lben* se prend en gel selon ces deux facteurs. Le caillé se condense progressivement à l'intérieur de l'outre et on obtient la pâte fromagère de *Bouhezza*.

Le diagramme de préparation du *Lben* est présenté dans la figure suivante :

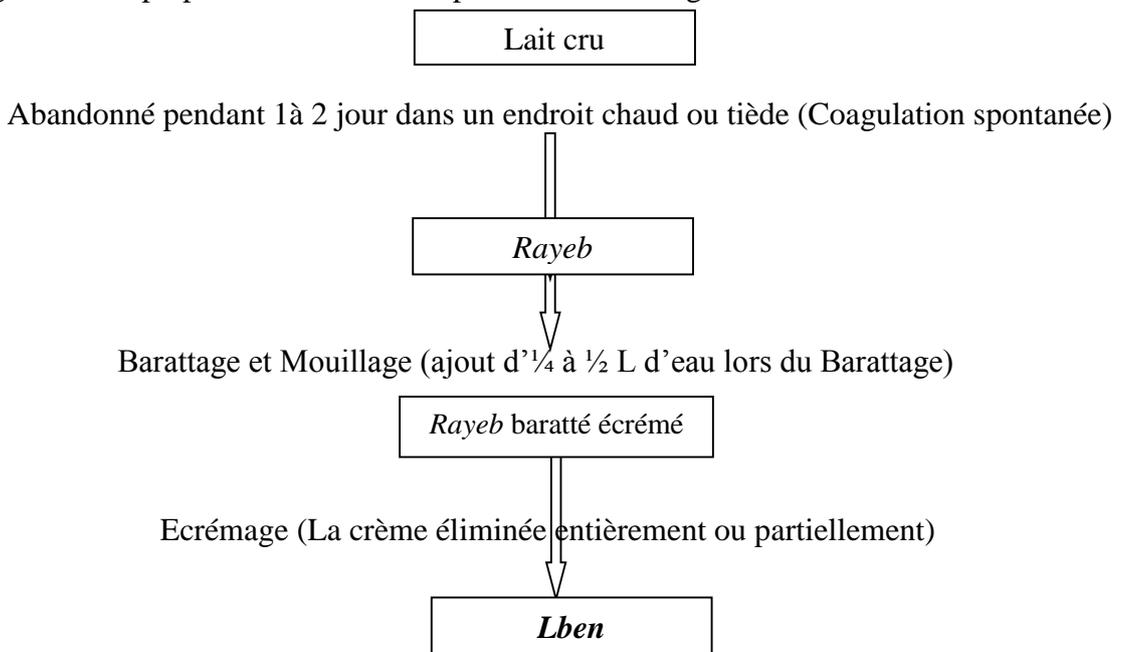


Figure 7. Diagramme du mode de préparation du *Lben* (selon enquête).

- **Salage du fromage**

Le salage est une étape principale dans la fabrication du fromage *Bouhezza*, il est défini par l'ajout de sel de cuisine dans le lait et/ou le *Lben* et dans certains cas dans l'outre (*Djeld*). Le *Lben* de départ est salé avec le sel de cuisine. Il est connu par ses propriétés antiseptiques, son goût et il augmente la vitesse d'égouttage ainsi il constitue un agent de régulation de la fabrication.

Les familles enquêtées effectuent le salage par mise de sel dans l'outre, *Lben* ou lait. La quantité du sel ajoutée est variable d'une famille à une autre. Le tableau 14 présente cette opération.

Tableau 14. Mode de salage utilisé

	Outre (<i>Djeld</i>)	<i>Lben</i>	Lait	total
Tébessa	47	46	14	107
Khenchela	30	82	03	115
Oum El Bouaghi	85	189	44	318
Batna	04	12	03	19
Souk ahras	06	16	02	24
Total	183(31,39%)	324(55,57%)	76(13,04%)	583

- **Préparation du fromage**

Nous rappelons que la fabrication du *Bouhezza* est lancée par une quantité initiale de *Lben* salé suivie par différents ajouts de *Lben* et se termine avec l'addition du lait cru de quantité variable selon la salinité et l'acidité désirées. Les ajouts sont programmés selon les familles en fonction de la disponibilité de lait ou la vitesse d'égouttage. Sachant qu'il y a une famille qui utilise dès le début de fabrication le lait cru ou lait fermenté (*Rayeb*) salé pour la diminution de l'acidité de produit fini. La figure 7 illustre les différentes étapes de la préparation du fromage *Bouhezza*.

La plupart, 55,57% des familles enquêtées utilisent le sel dans le *Lben* qui est ajouté dans l'outre, 31,39% des familles enquêtées utilisent le sel dans le *Djeld* (contenant de *Bouhezza*). Le reste des familles (13,04%) effectuent le salage dans le lait.

La totalité des personnes enquêtées déclarent que la quantité du sel ajoutée lors de la fabrication se fait par rapport à la quantité de la matière première (1 à 2 cuillères à soupe pour un litre de matière première).

La quantité du sel ajoutée lors de la fabrication est de 1 à 2 cuillères à soupe (une poignée) ce qui est équivalent à 20 et 25 g/L pour un litre de matière première introduite dans l'outre. Le salage peut être régulé par dégustation, selon l'appréciation gustative de la pâte.

Le salage constitue une phase importante de la fabrication de beaucoup de fromages, il joue un rôle essentiel pour développer la flaveur du fromage et aussi d'abaisser l'activité de l'eau du produit et protection contre les microorganismes pathogènes. Selon les personnes enquêtées le sel joue plusieurs rôles :

- Il est connu par ses propriétés antiseptiques,

- Améliore la qualité organoleptique par son goût et,
- Augmente la vitesse d'égouttage.

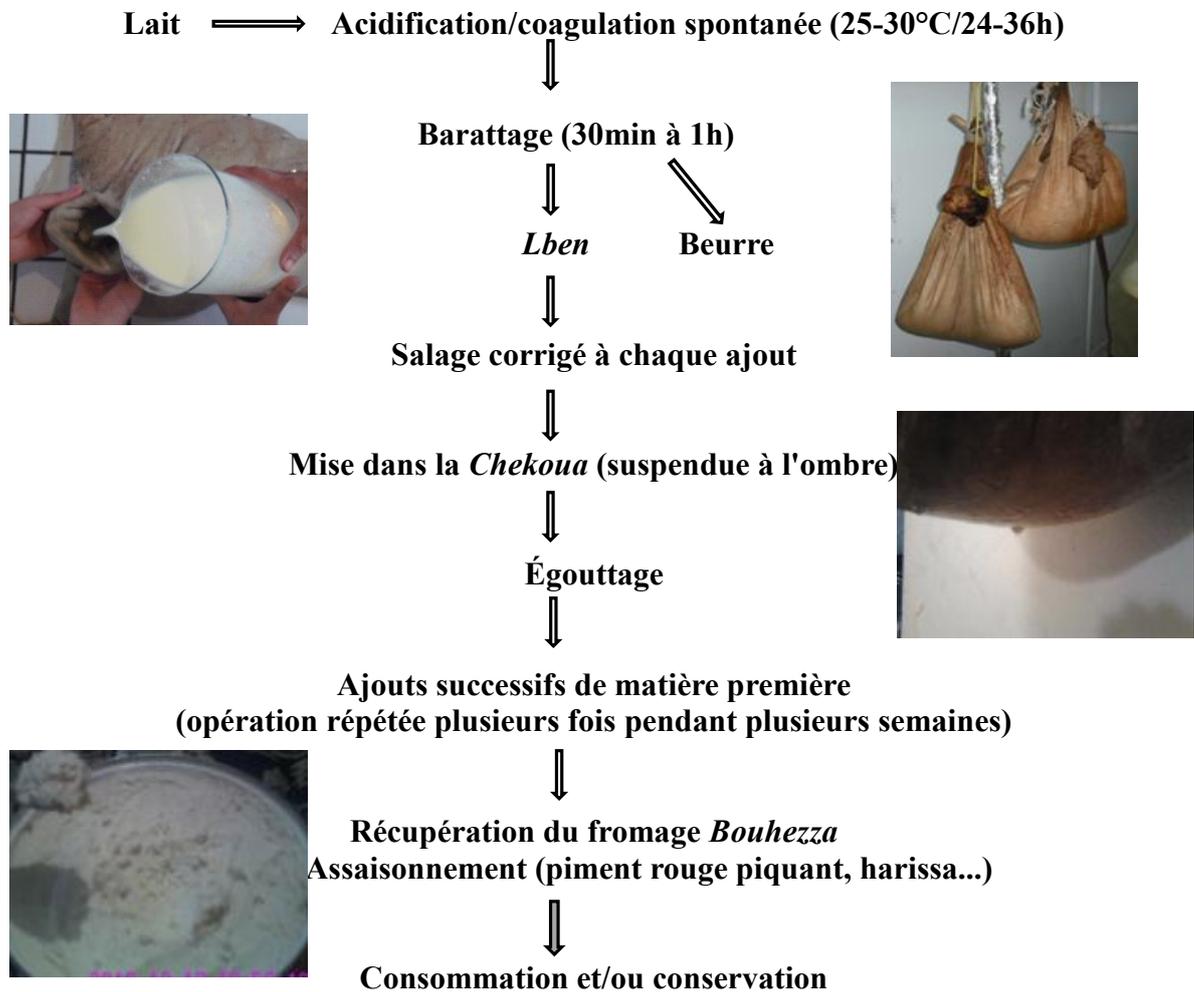


Figure 8. Diagramme de fabrication du fromage traditionnel *Bouhezza* selon les cinq Wilayas enquêtées



Figure 9. Salage du *Lben*

NB. La quantité du sel ajoutée est généralement aléatoire. Toutes les familles, utilisent la même méthode pour la préparation du fromage.

• Ajout de lait cru au cours de fabrication

Au cours de la fabrication, 35,88% des familles enquêtées (de Batna, de Khenchela et d'Oum El-Bouaghi) n'ajoutent pas le lait au cours de la fabrication. Pour 64,16% des enquêtés l'ajout de lait se fait à la fin de la fabrication du fromage, deux semaines au moins avant la récolte ou la vidange du fromage.

Toutes les familles enquêtées dans les régions des différentes wilayas déclarent que l'ajout de lait existe dans les derniers jours de la fabrication pour les avantages suivants :

- correction et neutralisation de l'acidité et la salinité du fromage,
- obtention d'un goût spécifique ou améliorer le goût,
- augmenter le volume final du fromage,

La quantité du lait ajouté varie selon la disponibilité et selon la quantité de phase aqueuse éliminée lors de la fabrication par l'égouttage.

• Entretien de la *Chekoua* pendant la fabrication

Toutes les familles enquêtées confirment que la *Chekoua* de *Bouhezza* doit être suspendue à l'ombre dans un endroit frais et bien aéré, et elle reste toujours au même endroit dans les mêmes conditions pendant la durée de fabrication.

Pour assurer une bonne propreté de la peau et pour empêcher le développement des micro-organismes et des odeurs indésirables les enquêtées utilisent le nettoyage et le rinçage à l'eau. Le côté extérieur de l'outre subit un nettoyage chaque jour par un raclage avec un couteau ou cuillère à soupe puis rinçage à l'eau. L'outre est nettoyée périodiquement une fois chaque jour et après chaque ajout de *Lben* chez la majorité des enquêtées ou chaque 02 jours. L'opération de nettoyage du côté externe de la peau se fait chez la majorité des enquêtées, la surface externe est en contact de l'air donc il y a une accumulation de matière et possibilité de l'arrêt de l'égouttage et putréfaction de la peau (odeur indésirable).

Le raclage de sa surface externe est nécessaire durant toute la durée de fabrication pour éliminer la couche accumulée à l'extérieur des peaux. Certains utilisent le lavage à l'aide d'un tissu mouillé. Si l'entretien de la *Chekoua* est insuffisant au cours de la fabrication par manque d'hygiène, les conséquences sont qu'il y'a un risque de détérioration par putréfaction du contenant, développement des larves et aussi l'apparition de mauvaises odeurs, Ces risques peuvent induire à la perforation de la peau donc le fromage sera altéré.

• Assaisonnement de la pâte fromagère

La majorité des familles (94,56%) enquêtées assaisonnent leur fromage. Le piment rouge piquant est le plus utilisé, pour améliorer le goût et aussi prolonger la durée de conservation du fromage.

✓ Produits d'assaisonnement

Le piment rouge piquant est le produit principal utilisé par ces régions avec quelque fois l'*harissa*. Presque toutes les familles enquêtées assaisonnent leur fromage, les produits utilisés sont : piment rouge piquant, poivre noir et harissa et quelques familles utilisent aussi l'ail, paprika et d'autres produits sont utilisés selon le goût. L'utilisation de ces produits dans le but d'améliorer la qualité organoleptique, le goût et pour augmenter la durée la conservation du fromage et donnent au fromage un cachet propre à la région.

✓ Mode d'assaisonnement

A partir de l'enquête, chez la majorité des familles, la poudre de piment rouge piquant est mélangée avec une quantité de lait cru lors du dernier ajout, avec une bonne homogénéisation du fromage dans la *Chekoua* de *Bouhezza*. Chez quelques familles, avant la consommation, la pâte est mélangée avec des épices pour améliorer la qualité organoleptique. La quantité de piment rouge est ajoutée selon les préférences gustatives.

• Maturation du fromage

La majorité des enquêtées dans les trois wilayas (Batna, Khenchela et Oum El-Bouaghi) préfèrent la consommation du fromage *Bouhezza* juste à la fin de la fabrication, sauf quelques familles qui disent que la consommation du fromage est possible, à partir d'un mois du lancement de la fabrication. Le reste des familles ne préfèrent pas la consommation de *Bouhezza* au cours de sa fabrication à cause de son goût très salé et aussi parce que le fromage n'a pas terminé toutes les étapes de fabrication, il n'est pas encore mature (le goût très acide et la pâte un peu mouillée). La période de fabrication de *Bouhezza* est limitée selon la disponibilité du *Lben* ou lait et la maturation de fromage chez toutes les familles enquêtées.

Des enquêtés fabriquent ce fromage pendant 2 mois, il atteint son point de maturation entre la huitième et la dixième semaine et son affinage (après deux mois ou plus). Ces familles peuvent consommer le fromage lors de leur fabrication après la septième à huitième semaine. Plus le temps de fabrication est long plus les caractéristiques organoleptiques sont améliorées.

• Durée totale de fabrication du fromage *Bouhezza*

La durée la plus courte est de trois mois. La plupart des familles déclarent que la durée de la fabrication est en fonction de la maturation du fromage et de la disponibilité et l'abondance du lait, et même la taille de l'outre et la qualité des ajouts, elle peut aller de 3 à 5 mois. Le tableau 15 donne les durées totales de fabrication de *Bouhezza*.

Tableau 15. Durée totale de la fabrication de *Bouhezza*.

	1 mois	2 mois	3 mois	4 mois	5 mois	pas de réponse	
Batna		01	08	01	01	02	13
Khanchela		01	30	10	14	03	58
Oum El-Bouaghi		04	16	13	49	02	84
Tébessa		07	29	05	24	00	65
Nbre des enquêtés	32	88	75			42	237
Total	32	101	158	29	88	49	457

Parmi les réponses des familles enquêtées, 56,67% préfèrent la fabrication de *Bouhezza* pendant deux à trois mois, elles précisent que plus la durée est longue plus les caractéristiques sensorielles sont présentes et permet la réussite d'un affinage complet, le fromage est ferme et possède un goût spécifique.

Le reste des familles précisent que la durée de fabrication de quatre et cinq mois, et pas de précision pour 10,72% des familles. La période favorable de la maturation du *Bouhezza* en cinq mois est rapportée par 19,25% des enquêtés.

- **Méthodes de conservation et d'entreposage**

Le fromage *Bouhezza* est consommé immédiatement ou conservé dans l'outre. La *Chekoua* de *Bouhezza* est donc un outil de fabrication de *Bouhezza* et de conservation de la pâte fromagère.

- ✓ **Durée et mode de conservation**

La durée de conservation peut aller d'un mois jusqu'à un an. *Bouhezza* peut être conservé par déshydratation. Il sera utilisé pour assaisonner les sauces des plats traditionnels.

La plupart des familles (70%) déclare que la durée de conservation du fromage *Bouhezza* est de plus de 6 mois. Cette durée est due au développement du matériel de conservation, par contre d'autres familles (30%), précisent que la durée de conservation est entre 4 à 6 mois ou jusqu'à la fin de consommation. Selon les familles enquêtées d'un mois jusqu'à six mois, 60% conservent leur fromage jusqu'à deux mois, 37,5% des familles conservent leur fromage entre 3 à 4 mois. Selon 97% des personnes, la durée de conservation est de presque 6 à 7 mois.

Après la fabrication, le fromage soit il est consommé directement ou bien conservé dans différents récipients de conservation. Les familles enquêtées conservent leur fromage fini dans différents récipients de verre, céramique ou plastique, même dans la *Chekoua* (le récipient disponible). La conservation dans ce dernier est limitée entre 2 à 3 semaines (2,77%) si elle se fait sans le froid par contre dans les cas précédents le froid est utilisé. La durée varie de quelques jours à quelques mois selon la consommation.

Après la maturation du fromage, la plupart des familles ne conserve pas le fromage, ils le consomment directement si c'est une petite quantité ou bien il est soumis à la conservation si la

quantité est importante, dans différents récipients. Le tableau 16 mentionne les différents récipients utilisés dans la conservation du fromage.

Tableau 16. Conservation du fromage *Bouhezza* après fabrication.

Récipient	plastique	verre	céramique	<i>Djeld</i>	Autre (bois)	total
Batna	02	06	05	05	01	19
Khenchela	15	37	24	52	00	128
O.E-B.	27	56	37	85	01	206
Tébessa	28	16	22	76	01	143
Total	72(14,52	115(23,19%	88(17,74%	218(43,95%	03(0,61%)	496(100%)

Le fromage *Bouhezza* est conservé dans la peau (*Djeld*). La peau est un outil de fabrication et de conservation selon 43,95% des enquêtées.

La conservation des fromages se fait par le froid chez toutes les familles enquêtées ; dans des récipients en plastiques 14,52% et 17,74% de céramique. Trois familles, une à Oum El-Bouaghi et l'autre à Batna et Tébessa conservent leur fromage dans des récipients en bois (0,61%). D'autres familles, 23,19% utilisent un récipient de verre ou un récipient en terre cuite (jarres en poterie).

- **Défauts de fabrication de fromage**

Les signes d'altération du fromage *Bouhezza* apparaissent sur ses propriétés organoleptiques. D'après les déclarations, les anomalies influent et peuvent affecter la texture, l'aspect, le goût et l'odeur.

- ✓ **Altérations du fromage**

Selon les résultats de l'enquête les défauts de fabrication affectent :

Aspect et texture : D'après les déclarations des enquêtées les défauts qui affectent la texture et l'aspect de *Bouhezza* sont montrés dans le tableau 17 suivant.

Tableau 17. Altération de texture et d'aspect affectant le fromage *Bouhezza*.

	Couleur	Onctuosité	Aspect granulé	Aspect fondu	Croûte	
Tébessa	48	09	23	09	08	97
Khenchela	40	04	16	20	26	106
Oum El-Bouaghi	98	23	37	27	56	241
Batna	02	00	06	10	04	22
Total	188	36	82	66	94	466

A partir de ce tableau nous remarquons que les défauts de couleur, (apparition de couleur rose, bleu ou jaune) et la croûte sont les altérations principales. D'autres familles enquêtées observent l'aspect granulé et même fondu et défaut d'onctuosité.

-- les défauts de couleur et la surface moisie sont les altérations principales. Les effets sur la couleur par apparition des tâches de couleur rose, bleu, rouge orangé ou jaune. La couleur est un indicateur d'altération selon 40,34% des familles ;

-- la texture globale de la pâte fromagère de *Bouhezza* subi des altérations avec la formation d'une croûte selon 20,17% des familles.

-- Des familles enquêtées, 17,6% déclarent que le défaut d'aspect granulé est l'altération principale.

-- Alors que l'aspect fondu est observé par 14,16% des personnes enquêtées.

Les altérations du goût et d'odeur sont : odeur de putréfaction et goût et/ou odeur de rance. D'après les déclarations des enquêtées les dommages qui affectent le goût et l'odeur sont montrés dans les tableaux 18 et 19.

Tableau 18. Altérations du goût affectant le fromage *Bouhezza*.

	Acide	Levure	Rance	Amertume	Total
Tébessa	31	13	08	48	100
Khenchela	43	13	12	40	108
Oum El-Bouaghi	83	23	15	85	206
Batna	10	04	05	03	22
Total	167	53	40	176	436

Goût : les défauts qui affectent le goût sont principalement ; le goût acide avec 38,30%, le goût d'amertume (40,37%). Le goût de rance et de levure sont également observés dont 9,17% des familles enquêtées déclarent que le goût de rance affecte le fromage et 12,16% des familles déclarent le goût de levure (Tableau 19).

Odeur : l'odeur perçue est de rance, de levure et putréfaction sont, pour la majorité des familles, les défauts qui affectent le goût et l'odeur.

Tableau 19. Altérations d'odeur affectant le fromage *Bouhezza*.

	Levure	Rance	Putréfaction	Total
Khenchela	11	07	67	85
Oum El-Bouaghi	13	14	105	132
Batna	04	07	11	22
Tébessa	10	04	86	100
Total	38	32	269	339

D'après les déclarations des enquêtées les défauts qui affectent l'odeur, la presque totalité des personnes enquêtées sentent l'odeur de la putréfaction 79,35% des réponses. Des enquêtées sentent l'odeur de levure 11,21% de réponses et 9,44% l'odeur de rance. Le fromage préparé ne s'altère pas selon 50% des déclarations des enquêtées.

✓ **Cause des altérations du fromage *Bouhezza***

Le fromage *Bouhezza* peut subir différentes altérations ce qui influe sur ses qualités organoleptiques. Des enquêtés, 70% déclarent que la cause de cette altération est le manque d'hygiène, le reste ne connaît pas la cause.

La qualité de la matière première et le manque d'hygiène est la source principale de la détérioration du fromage au cours de sa fabrication. D'après les déclarations des enquêtées les dommages qui affectent le goût et l'odeur, sont principalement ; odeur de putréfaction ($\approx 80\%$ des réponses).

Toutes les familles enquêtées déclarent que les altérations résultant par l'effet de ces facteurs sont :

- l'insuffisance du sel,
- la putréfaction de la peau qui peut être causée par la mauvaise préparation de cette dernière ;
- la présence des mouches
- le manque d'hygiène
- l'absence de l'aération.

Les familles enquêtées déclarent que le manque d'hygiène chez 100% des familles enquêtées, induit à la putréfaction de la peau et parfois la présence des mouches et aussi la température et la carence en sel sont les facteurs de détérioration.

1.2.4. Mode de consommation

Le fromage *Bouhezza* est consommé pour la plupart des familles sous forme de pâte tartinable sur pain ou galette, en poudre déshydratée, additionnés aux plats traditionnels, il assaisonne les sauces de ces derniers tels que *couscous*, *aïche*, *m'kartfa* et *mahjouba*. L'exception de certaines familles qui déclarent l'utilisation du fromage avec les salades, d'autres familles ont déclarés consommer *Bouhezza* avec le miel ou la datte.

Conclusion de l'enquête

Bouhezza est un fromage de fabrication traditionnelle, préparé dans la zone de Chaouia depuis longtemps. Les familles enquêtées sont de la wilaya de kenchela, Batna, Tébessa, Souk Ahras et d'Oum El Bouaghi. La finalité de fabrication de Bouhezza dépend de deux facteurs importants ; la disponibilité du Lben ou du lait et la maturation du fromage. La fabrication du fromage « Bouhezza » nécessite une longue période au cours de laquelle on débute avec la préparation de la peau et puis on finit par sa conservation.

*Comme résultat final de cette enquête, nous avons obtenu un diagramme qui regroupe toutes les étapes de fabrication qui est presque le même chez la plupart des familles. Le fromage Bouhezza parmi les fabrications traditionnelles, continue à être très important, en dépit de l'évolution de l'industrie alimentaire, surtout dans la région Est et plus particulièrement en raison de l'héritage de cette pratique chez les Chaouias. Dans différentes régions de la wilaya de Tébessa surtout la Daira de Chréa et à Hammamet, la production du fromage de dénomination «**Bouhezza**» ou « **milh douaba** » existe réellement à l'Est Algérien.*

La fabrication de Bouhezza est confirmée dans 10 dairates de Tébessa et 14 communes), 12 dairates d'Oum El-Bouaghi avec 39 communes, 08 Dairates de Khenchela et 18 communes, 03 dairates de Batna dont 05 Communes et 03 dairates de Souk Ahras et dans 4 communes.

La fabrication du Bouhezza est caractérisée par l'utilisation d'une peau d'animaux, comme contenant de cette matière et séparateur de lactosérum, appelée « Djeld ou Chekoua de Bouhezza». La peau permet la séparation entre deux phases différentes (lactosérum et le contenant du Lben (protéines, matières grasses, etc.). Cette dernière est un sac souple et perméable, fabriqué à partir de peau de chèvre, brebis, agneau, chevreau, entière non fendue, surtout de chèvre ou de brebis. L'outre est considérée comme un contenant de la masse fromagère, moyen d'égouttage et de conservation de fromage. La Chekoua subit plusieurs traitements pour sa transformation : putréfaction de la peau, dépilage et lavage, traitement avec différents produits (le sel + Araâr' genièvre et semoule), rinçage, retournements et nouaison. Après conservation et avant utilisation, et selon la plupart des réponses de l'enquête, la peau subit le trempage dans l'eau pour éviter l'odeur indésirable.

Concernant la préparation de Bouhezza et selon la majorité des réponses la préparation du fromage est réalisée par l'introduction d'une quantité de Lben comme matière première qui est préféré écrémé et acide ou peu acide. Le salage, chez la majorité des familles enquêtées, se fait directement dans le Lben (55,6 %) ou dans la pâte fromagère (31,4 %). L'ajustement des ajouts se réalise en fonction de la vitesse de l'égouttage et la disponibilité de la matière première. La Chekoua (ou Djeld) est suspendue dans un endroit frais et aéré, elle subit un nettoyage périodique pour éviter les altérations du fromage. Sa propreté est assurée par grattage et un lavage régulier de la face externe quotidien ou chaque 2 ou 3 jours de l'extérieur. La Chekoua est lavée après chaque ajout de matière première (Lben et lait cru), afin d'éviter les altérations possibles. L'assaisonnement de la pâte fromagère est effectué avec le piment rouge ou l'hriassa qui améliore la qualité organoleptique du fromage et augmente la durée de sa conservation.

Bouhezza est consommé directement tel qu'il est chez la majorité des familles, il y'a des familles qui le conservent pendant 5 à 12 semaines ; il est additionné à plusieurs plats traditionnels, il peut être consommé en tartine. Bouhezza peut être consommé après un mois de fabrication, le conserver soit dans la Chekoua (Djeld) ou dans des jarres en poterie durant 06 mois après la fabrication.

2. Caractéristiques physico-chimiques

Les résultats de cette partie sont regroupés dans des tableaux (certains sont dans l'annexe 3) et illustrés par des graphes montrant l'évolution des différents paramètres au cours de la fabrication–affinage. Les fabrications étudiées de *Bouhezza* de chèvre sont groupées en fabrications expérimentales réalisées au niveau du laboratoire, celles des fermes des wilayas de Tébessa et celles d'Oum El-Bouaghi.

2.1. Physico-chimie de la matière première de *Bouhezza*

Les résultats des paramètres physico-chimiques et biochimiques de la matière première utilisée dans la fabrication du fromage *Bouhezza* sont groupés dans le tableau 20 ci-dessous. Il est observé que le pH du lait cru de chèvre utilisé dans les fabrications expérimentales est légèrement plus acide que de celui utilisé dans celles des fermes, mais les valeurs restent proches de ce qui est rapporté par la littérature (pH 6,45-6,60) (Croguennec, 2008).

L'acidité titrable du lait expérimentale est dans un intervalle acceptable entre 14 et 18°D (0.14-0.18 g/100mL) 0,185 g/100mL contrairement à celle des fermes où l'acidité a évolué atteignant 47°D (0,47 g/100mL). Les mauvaises conditions de transport pour l'acheminement au laboratoire ont fait que, cette dernière valeur serait d'un produit fermenté. L'EST le lait destiné aux fabrications expérimentales est 13,05±0,75%. Dans celui des fermes est de 16,28±9,43%. Le lait destiné aux fabrications de ferme de F10, 11 et 12 (2013) était arrivé au laboratoire pour analyses une fois le processus de fermentation est enclenché (EST a atteint 32,4%) ce qui a donné cette valeur moyenne élevée. Pour les autres les valeurs sont comprises entre 9,3 et 13,33%.

Tableau 20. Résultat du pH et des caractéristiques physico-chimiques de la matière première de *Bouhezza* ; Lait, *Lben* et *Lben* salé de chèvre, exprimés en %.

Matière 1 ^{ère} Paramètres	L.Ch.Exp. (n=1)	L.Ch. Fer. (n=4)	Lb.Ch.Exp. (n=1)	Lb.Ch. Fer. (n=5)	Lb. Ch.Salé Fer. (n=5)
pH	6,3±0,19	6,48±0,29	3,8±0,70	4,42±0,55	4,76±0,40
Acidité titrable	0,185±0,02	0,47±0,29	0,87±0,06	1,29±0,71	0,57±0,26
EST	13,05±0,75	16,28±9,43	8,94±1,50	10,21±3,17	14,78±4,08
Cendres	0,42±0,06	2,54±0,67	2,94±0,14	2,41±0,80	2,86±1,46
Protéines	3,87±0,63	4,63±0,45	4,25±0,70	5,28±1,17	4,94±1,25
MG	4,03±0,00	2,53±0,58	2,1±0,00	0,74±0,71	0,45±0,46
Chlorures*	0,24±0,04	nd.	0,2±0,02	0,21±0,01	nd.

n : nombre d'échantillon analysé, L. : Lait, Ch. : Chèvre, Exp. : Expérimental, Lb. : *Lben*, Fer. : Ferme, nd. : non déterminé, *2 échantillons analysés dans l'expérimental et 2 dans ceux des fermes.

Le taux de cendre est variable entre les deux types de laits celui expérimentale est de $0,42 \pm 0,06\%$, et celui destiné aux fabrications de ferme est plus élevé, certainement que la déminéralisation lors de la fermentation et coagulation commençantes, a dû donner ces valeurs élevés de $2,54 \pm 0,67\%$. Les protéines totales sont de $3,87 \pm 0,63$ et $4,63 \pm 0,45$ % respectivement pour les deux laits (celui expérimental et de ferme). Quant à la matière grasse est plus élevée dans le lait de fabrication expérimentale que celui des fabrications de ferme avec des valeurs respectives de $4,03 \pm 0,00$ et $2,53 \pm 0,58\%$.

Une fois transformé en *Lben*, les valeurs du produit changent, le pH diminue jusqu'à une valeur de $3,8 \pm 0,70$ et $4,42 \pm 0,55$ chez le *Lben* de fabrications expérimentales et celui de fermes respectivement. Ces valeurs atteintes par le pH sont probablement dues à la précipitation des protéines de chèvre au pH 4,4. L'acidité titrable évoluerait en sens inverse du pH où les valeurs atteintes pour les deux *Lben* sont de $0,87 \pm 0,06$ et $1,29 \pm 0,71\%$ respectivement. L'EST a diminué lors de la préparation du *Lben* où l'étape d'écémage nécessite l'ajout de l'eau tiède et donc la matière sèche serait diluée et les valeurs d'EST se sont abaissées à $8,94 \pm 1,50$ et $10,21 \pm 3,17\%$ dans les deux *Lben*. Les protéines sont de $4,25 \pm 0,70$ et $5,28 \pm 1,17\%$ dans les deux *Lben*. Quant à la matière grasse a diminué dans les deux *Lben*, étant donné qu'une des opérations importante de la préparation du *Lben* est l'écémage. Dans le *Lben* destiné à la fabrication expérimentale, l'écémage a été partiel ce qui a donné une valeur de $2,1 \pm 0,00\%$ alors que dans celui destiné aux fabrications de ferme, il a été parfois presque total où le dosage de la matière grasse avait donné en moyenne $0,74 \pm 0,71\%$ et de $0,45 \pm 0,46\%$ dans le *Lben* non salé et celui salé ($n=4$ pour la MG). L'acidité du *Lben* diminue après salage où le pH s'est élevé à $4,76 \pm 0,40$ et l'acidité titrable a diminué à $0,57 \pm 0,26\%$. Cependant le taux d'extrait sec et celui du taux de cendre avaient augmenté à $14,78 \pm 4,08\%$ pour l'EST et à $2,86 \pm 1,46\%$ pour les cendres, par apport du sel.

2.2. Physico-chimie de la pâte fromagère de *Bouhezza*

L'ensemble des résultats des paramètres physico-chimiques déterminés sont groupés dans le tableau 21 (annexe 3).

2.2.1. pH et acidité titrable

La Figure 1 montre des fluctuations des valeurs du pH au cours de la fabrication-affinage du *Bouhezza* des deux groupes étudiés ($p < 0,05$). Les fabrications d'expérimentation affichaient un pH de $4,18 \pm 0,02$ au départ de la fabrication, avec une augmentation à $4,40 \pm 0,34$ qui est observée à 8jour. Puis une chute du pH (une augmentation dans l'acidité) jusqu'à $3,02 \pm 0,01$ et maintien d'une sorte de plateau jusqu'au 34^{ème} jour de fabrication avec $3,01 \pm 0,12$, où il y'a une remontée après ajout du lait cru après cette date à $3,84 \pm 0,28$ au-delà de 42jour et stabilisation de la valeur

du pH en fin de fabrication-affinage à $3,87 \pm 0,05$. Cette remontée du pH est probablement due à l'ajout du lait cru entier qui corrigerait l'acidité. Pour les fabrications de ferme l'attitude est légèrement différente où la variation du pH du début était de $4,66 \pm 0,04$ avec diminution jusqu'à $4,05 \pm 0,23$ à 30 jour où l'on a observé un plateau de la valeur du pH jusqu'au 45^{ème} jour à $4,06 \pm 0,06$ puis une légère diminution en deçà de 4 atteignant la même valeur que celle de F1 et F2, $3,88 \pm 0,10$. **Aissaoui Zitoun (2014)** a rapporté les valeurs autour de 4 pour tous les échantillons des fabrications de *Bouhezza* de vache de ferme et expérimentales du 28^{ème} et 30^{ème} au 70^{ème} et 90^{ème} jour d'affinage.

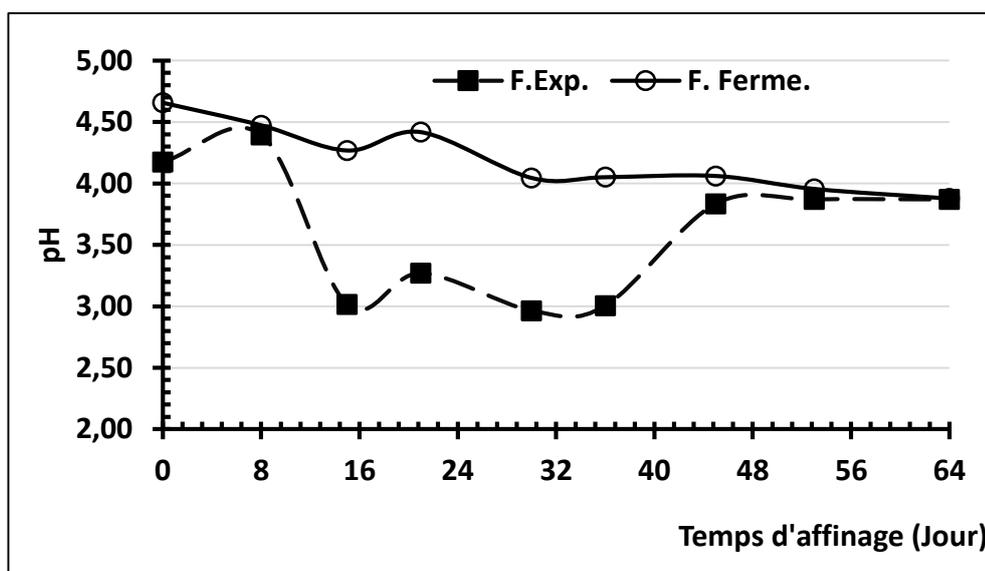


Figure 10. Evolution du pH au cours de l'affinage du *Bouhezza* de chèvre dans différentes fabrications.

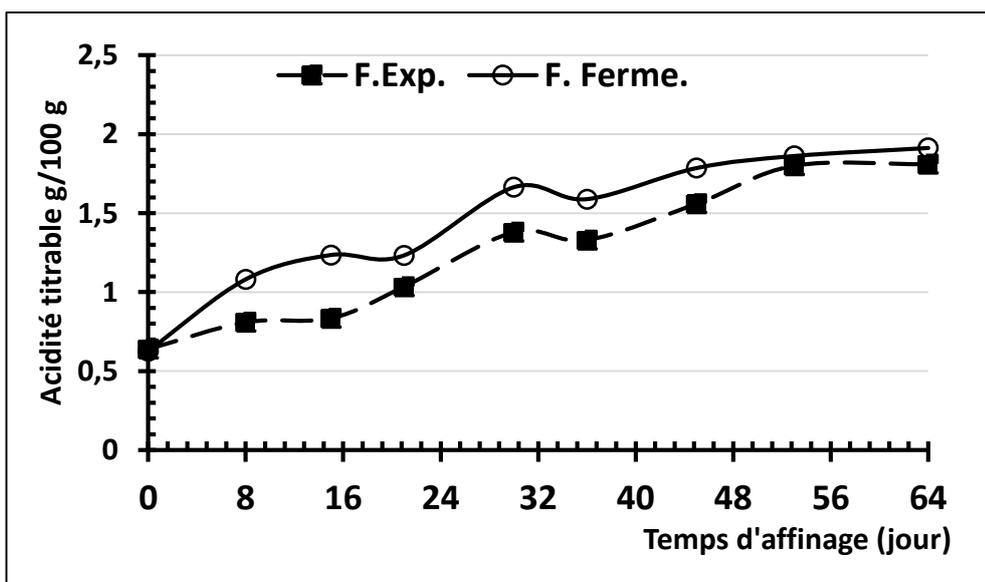


Figure 11. Evolution de l'acidité titrable au cours de l'affinage de *Bouhezza* de chèvre dans différentes fabrications.

L'acidité titrable exprimée en g d'acide lactique par 100 g de fromage et en % de la matière sèche (EST) évolue de façon proportionnellement inversée au pH, donc elle augmente au fur et à mesure en fonction du temps de fabrication-affinage, où l'acide lactique est libéré suite à la dégradation et la fermentation du lactose. Pour les deux groupes de fabrication de *Bouhezza*, l'acidité évolue en augmentant dans le temps au cours de l'affinage (Figure 2) de $0,64 \pm 0,01$ et $0,63 \pm 0,01$ g/100g (5,81 et 4,84 g/100g de EST) atteignant les valeurs finales de $1,81 \pm 0,11$ et $1,91 \pm 0,75$ g/100g (5,76 et 4,49 g/100g de EST) respectivement pour les fabrications expérimentales et de ferme ($p < 0,05$). Ces valeurs montrent le caractère acide de *Bouhezza* de chèvre mais elles restent inférieures à celles obtenues par **Aissaoui Zitoun (2014)** pour *Bouhezza* de vache.

2.2.2. Extrait sec total (EST)

L'extrait sec total dans *Bouhezza* de chèvre augmente de façon régulière au cours du temps du début de fabrication jusqu'à la fin de maturation de $11,01 \pm 0,49$ à $31,45 \pm 1,25\%$ pour les fabrications expérimentales et de $12,93 \pm 0,65$ à $42,63 \pm 4,34\%$ pour les fabrications de ferme. La même allure est observée pour les deux courbes (Figure 12), mais les valeurs des fabrications de ferme sont plus élevées que celles des expérimentales ($p < 0,05$). Ceci peut être dû au taux de matière sèche du lait et du fromage provenant des régions de Tébessa et d'Oum El-Bouaghi ($p > 0,05$) qui sont plus élevés que ceux du laboratoire (wilaya de Constantine). L'égouttage dans les fabrications de ferme serait également plus important et plus rapide que celui des peaux utilisées en laboratoire. Nos résultats sont proches de ceux du fromage *Bouhezza* de vache expérimentale, entre 29,51 et 35,15% du 49 au 70^{ème} jour de fabrication rapportés par **Aissaoui Zitoun (2014)**.

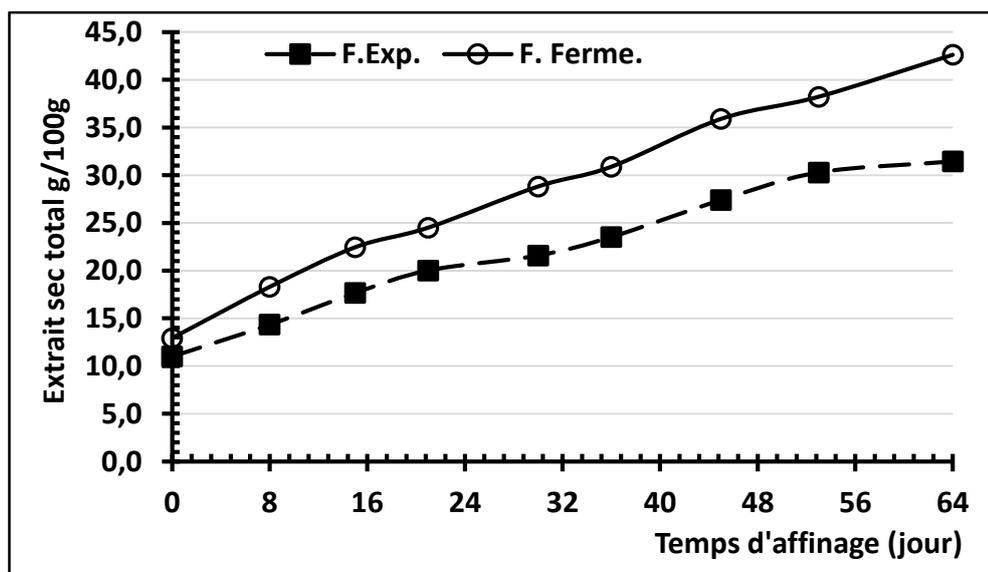


Figure 12. Evolution de l'extrait sec total (EST) au cours de l'affinage du fromage *Bouhezza* de chèvre dans différentes fabrications.

Contrairement, avec ceux du fromage de ferme où l'EST est plus faible que les nôtres, de 29,18 à 31,31% au 60 et 75^{ème} jour d'affinage. En comparaison avec des fromage affinés dans des peaux de chèvre tel que ; Tulum, l'EST est 50,72 et 46,01% (Hayaloglu *et al.*, 2007b) ; Darfiyeh en tant que fromage de chèvre ; aurait des teneurs en EST plus élevées que *Bouhezza* de chèvre, comprises entre 46 et 50% (Serhan *et al.*, 2010).

2.2.3. Cendres

L'évolution du taux de cendres (Figure 13) au cours des fabrications expérimentales est plus ou moins stable durant la période du début de fabrication $3,07 \pm 0,13\%$ avec une légère augmentation jusqu'au 28^{ème} jour à $3,5 \pm 0,03\%$. Après, il y'a diminution et régression jusqu'à une valeur de $1,31 \pm 0,02\%$ à la fin de fabrication. Le comportement au cours des fabrications de ferme est le même durant la phase avant un mois d'affinage où les valeurs fluctuent de $2,39 \pm 1,34\%$ diminuent puis s'élèvent à $2,48 \pm 0,90\%$ à 28 jour d'affinage. Contrairement à F1 et F2, les cendres évoluent dans le sens de l'augmentation atteignant $3,96 \pm 1,72\%$ en fin de fabrication. En première phase les valeurs de F1 et F2 sont plus élevées, mais en 2^{ème} phase le niveau des taux de cendres des fabrications de ferme qui est le plus élevé. Les deux groupes de fabrications ne présentent aucune différence significative entre les valeurs du taux de cendre des fabrications expérimentales et de ferme avec $p = 95,79\% >$ au seuil $\alpha = 0,05$ ($p > 0,05$). Les valeurs du fromage *Bouhezza* de chèvre sont dans la plage de celle des principaux fromages rapportés par Fox *et al.* (2007) où dans leur majorité le taux de cendre est compris entre 3 et 6%.

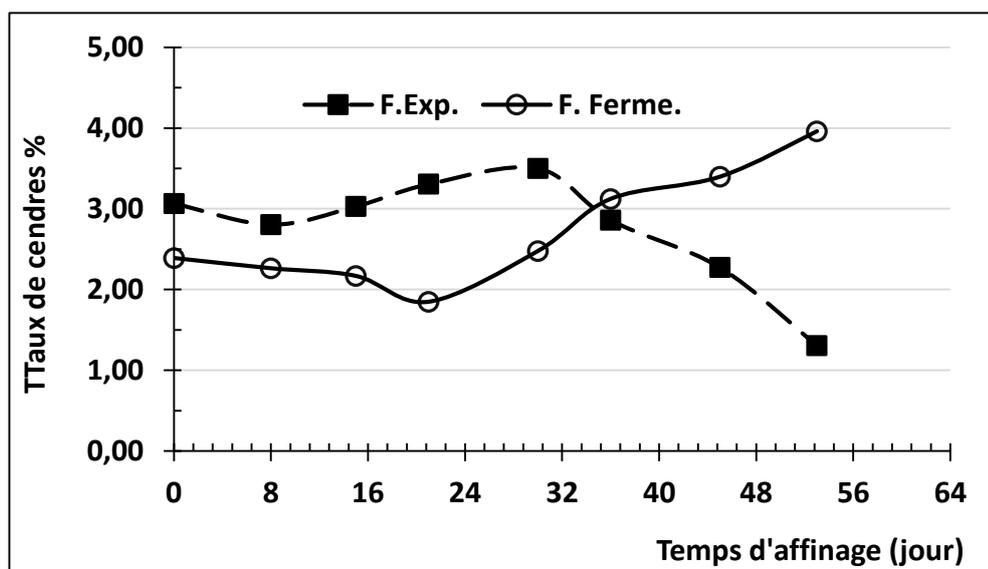


Figure 13. Evolution du taux de cendre au cours de l'affinage de *Bouhezza* de chèvre de différentes fabrications.

2.2.4. Matière grasse

Une différence est significative $P < 0,05$ ($p = 2,38\%$) pour les résultats de MG/EST des deux fabrications de *Bouhezza* expérimentales et de ferme, apparente surtout à partir de la 2^{ème} semaine d'âge du fromage. Ceci serait dû à l'opération d'écémage où nous avons délibérément exécuté un écémage partiel dans les fabrications expérimentales, alors que chez les ménagères qui nous ont fabriqué *Bouhezza* de ferme l'écémage du *Lben* était total dans certaines fabrications. Ce qui a donné cette différence où les valeurs expérimentales sont plus élevées que celles des fermes. A partir de la 2^{ème} semaine l'accumulation de la matière grasse dans *Bouhezza* expérimentale était plus importante en augmentation, que celle des fermes. Débutant avec $22,4 \pm 0,38$ et $13,08 \pm 1,99\%$ respectivement, les teneurs augmentant à $31,70 \pm 0,59$ et $33,23 \pm 17,47\%$ à 16 jours où celle du laboratoire a continué à s'élever jusqu'à $53,37 \pm 6,02\%$ au 36^{ème} jour après le 1^{er} ajout du lait cru, et descend à la fin à $47,67 \pm 0,65\%$. Tandis que celle des fermes régresse à $26,72 \pm 8,64\%$ au 36^{ème} jour et remonte au pic de $38,25 \pm 12,06\%$ au jour 45 après ajout de lait cru pour atteindre finalement $38,3 \pm 12,29\%$ en fin d'affinage (Figure 14).

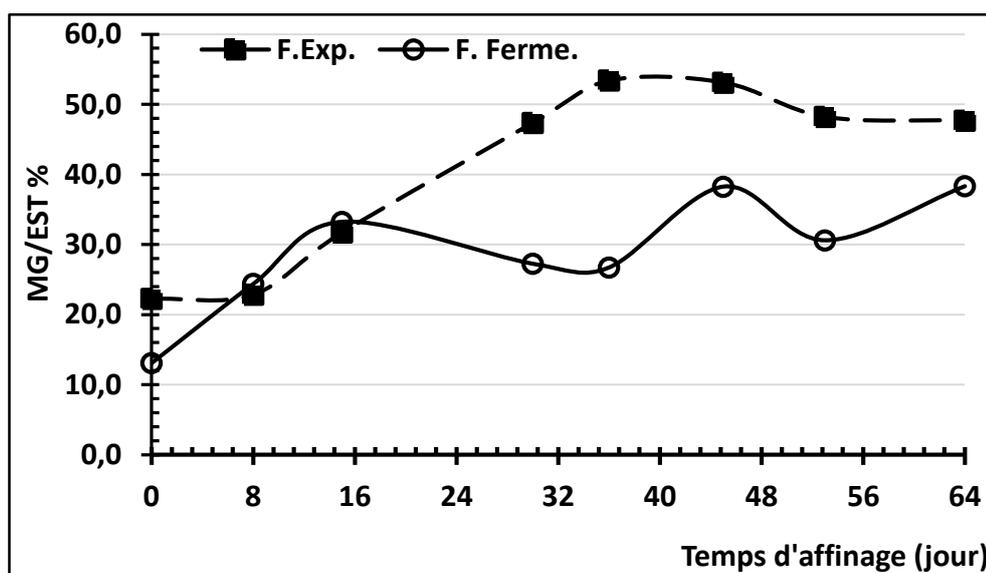


Figure 14. Evolution de la matière grasse dans l'extrait sec total (MG/EST) au cours de l'affinage de *Bouhezza* de chèvre dans différentes fabrications.

2.2.5. Chlorures totaux

Les chlorures selon la Figure 15 évoluent en augmentant du 1^{er} jour à la fin de la première semaine atteignant la valeur de $19,2 \pm 0,90\%$ dans l'EST et ce niveau est maintenu durant les cinq semaines suivantes jusqu'au 36^{ème} jour où il est observé une nette chute des valeurs à $7 \pm 0,50\%$ dans EST pour les deux groupes de fabrications et atteindre en fin de fabrication les valeurs de

3,88±0,12 et 3,2±0,00% dans EST pour F1, F2, et F4, F5. Cette diminution serait due à l'ajout de la matière première et de celle du lait cru qui diluerait les contenus en sel dans le fromage. Aucune différence significative n'est observée entre les valeurs de *Bouhezza* expérimentale et celles de *Bouhezza* de ferme d'Oum El-Bouaghi, la p-value calculée est supérieure au seuil alpha (p=28,89%) (p> 0,05).

Les teneurs finales des chlorures de la masse humide dans *Bouhezza* de chèvre sont 1,22±0,01g/100 g de fromage expérimentale et 1,29±0,01 g / 100 g de fromage de ferme. Ces valeurs sont inférieures à celles rapportées par **Aissaoui Zitoun (2014)** qui sont de 3,66 et 1,77 g/100g dans le fromage *Bouhezza* expérimentale et celui de ferme respectivement. **Hayaloglu et al. (2007)** ont rapporté les valeurs de sel 3,14 et 5,47% dans Tulum à 60jour d'affinage. **Serhan et al. (2010)** a rapporté des valeurs plus élevées des chlorures dans trois préparations de fromage Darfyeh affiné dans des peaux de chèvre, comprises entre 3 et plus de 9% à 60 jours d'affinage. Les valeurs obtenues dans *Bouhezza* de chèvre restent dans l'intervalle appartenant aux autres fromages entre 1,0 et 5% dans la plupart des fromages selon **Fox et al. (2000)** ; 1 à 2% selon **Hardy (1987)** ; 2 à 2,5% selon **St-Gelais et Tirard-Collet (2002)**.

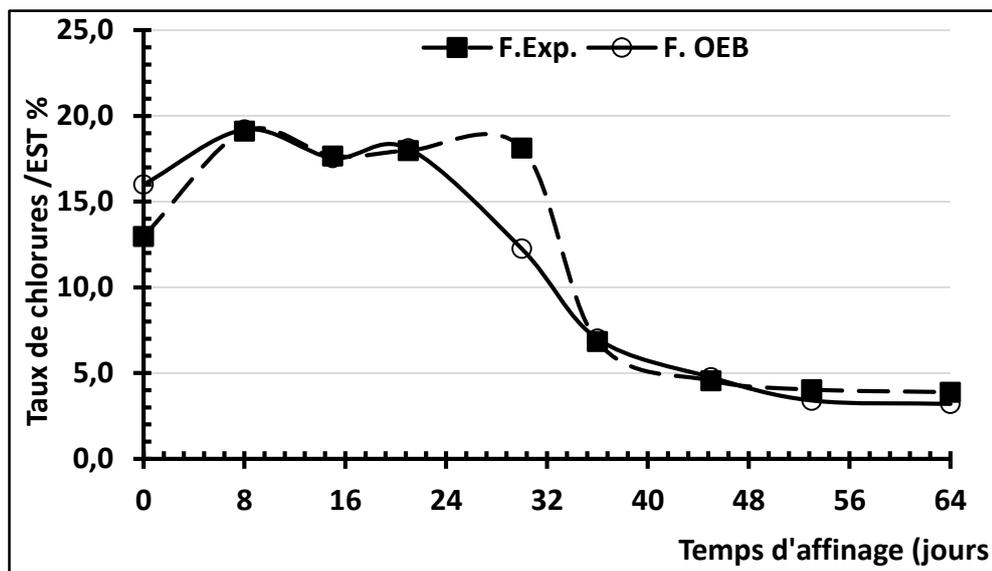


Figure 15. Evolution du taux de chlorures dans l'EST au cours de l'affinage de *Bouhezza* de chèvre de 4 fabrications F1, F2 et F4, F5.

Ces valeurs sont plus élevés que ceux des F1 et F2 (p< 0,05) p=1,76%. Cette différence doit

2.3. Physico-chimie du lactosérum

Le volume total de lactosérum égoutté et récolté des productions expérimentales et de ferme a été respectivement de 6,42±0,41 et 14,20±1,13 litres (Tableau 22, annexe 3). Le volume des productions de ferme étant plus élevé à cause de l'importance de l'égouttage à travers les pores

des *Chekouates* ou *Djeld* de *Bouhezza*, plus ouvertes et plus perméables probablement pour leur premier usage dans la fabrication du fromage. Les contenants des fabrications expérimentales ont été utilisés pour la 2^{ème} fois ainsi que la durée de fabrication qui était plus courte, de 50 jours contrairement aux autres qui était de 64 jours et plus. Le volume du contenant aurait joué un rôle dans cette différence. Les quantités respectives des cinq fabrications utilisées sont présentées dans le tableau 22 (annexe 3). Le taux de chlorures moyen de F1 et F2 étant de $0,48 \pm 0,13$ g/100 mL, serait proche de celui dans le fromage.

Au cours de la récupération du lactosérum, des mesures de volume ont été faites dans les 14, 28 et 49 jours dans les fabrications expérimentales (Tableau 23, annexe 3). Le volume récupéré dans la 1^{ère} phase des deux premières semaines a montré que le débit d'exsudat était 3,68 L, plus important et plus élevé que dans la 2^{ème} phase 2,14 L et la 3^{ème} étape avait le débit le plus faible avec 0,61 L étant donné que la masse fromagère était formée et avec une matière sèche plus élevée ainsi l'égouttage diminuait dans cette période même après ajout du lait cru entier dans les deux dernières semaines. Le tableau 24 ci-dessous présente les caractéristiques physico-chimiques de deux prélèvements de lactosérum pour les trois fabrications du fromage *Bouhezza*.

Tableau 24. Caractéristiques du lactosérum au cours de la fabrication du fromage *Bouhezza* F1, F2 et F9, F10 et F11.

Paramètres	F. Expérimentales (n*=3)	F. Ferme (n*=2)
pH	3,29±0,01	3,59±0,08
Acidité (g/100mL)	0,86±0,03	0,87±0,04
EST (g/100g)	7,08±0,32	6,84±0,34

*n = répétition des analyses

Les valeurs moyenne du pH du lactosérum de trois fabrications de ferme était de 3,59 et celui des deux fabrications expérimentales de 3,29, celui-ci est plus acide et a le même comportement que dans le fromage ou il était plus acide que celui des fermes.

La moyenne de l'acidité titrable du lactosérum des deux groupes de fabrications est la même avec 0,86 et 0,87 g/100mL. Elle est assez élevée, et elle serait proche du *Lben*. Ces valeurs paraissent normales pour un lactosérum acide dont le pH doit être inférieur à 4,60 et le degré d'acidité est supérieur à 18°D (Lavoisier, 1990).

Durant la fabrication de *Bouhezza*, la quantité de l'extrait sec total du lactosérum de trois fabrications varie de 6,45 à 7,28 g/100 mL avec une moyenne de $6,84 \pm 0,34$ g/100 mL, et de 6,76 et 7,4 g/100 mL avec la moyenne des fabrications expérimentales de $7,08 \pm 0,32$ g/100 mL. Ces résultats sont liés à la porosité des *Chekouates* (*Djeld* de *Bouhezza*) donc une perte de l'extrait sec

composé de substances solubles qui passent à travers les pores lors de l'égouttage de lactosérum. Le rinçage avec raclage quotidien des peaux entraîne l'élimination de la plupart de la matière grasse des peaux.

Le taux moyen des chlorures titré pour le lactosérum 1 de la F1 est de 0,35% et de 0,60 % pour le lactosérum 2 de la F2, donc le lactosérum contiendrait du sel qui échapperait au cours de l'égouttage à travers les pores accompagnant les sels solubles et minéraux exsudés du caillé et perdus par exérèse.

2.4. Rendement fromager de *Bouhezza*

Le suivi et collecte de l'exsudat dégagé par l'égouttage au cours de la fabrication a été réalisé sur les fabrications expérimentales F1 et F2, et de ferme d'Oum El-Bouaghi F9, F10 et F11.

Le tableau 25 comprend les résultats obtenus pour calculer les rendements fromagers secs et frais des fabrications de *Bouhezza*.

Tableau 25. Rendements fromagers de *Bouhezza* des fabrications F1 et F2 et F9, F10 et F11.

	F Exp. (F1,F2)	F. Ferme (F9, F10, F11) Moy±Et*
Masse humide de fromage récupérée (g)(Caillé frais)	3,61±0,14	3,63±0,18
Masse sèche de fromage récupérée (g) (MS)	1,05±0,19	1,39±0,20
Quantité de <i>Lben</i> exprimée en matière sèche entrant dans la fabrication (g) (EST MP Lait)	1,49±0,0	2,26±0,84
L de <i>Lben</i> (Qté MP)	20±0,0	21,3±1,9
Quantité de lait exprimée en matière sèche entrant dans la fabrication (g) (EST MP Lait)	0,61±0,0	0,91±0,16
L de lait (Qté MP)	4,5±0,0	5,2±1,2
Rendement sec (%)	40,65±0,03	40,74±1,92
Rendement frais (%)	14,5±0,6	13,7%

Moy. : Moyenne ; Et : Ecartype

Le rendement fromager est basé sur la récupération des ingrédients laitiers ; il dépend de la quantité d'eau extraite durant l'égouttage (lactosérum évacué) et, de la richesse du lait en matières grasses et en protéines (**Amiot et al., 2002**).

D'après les résultats obtenus, le fromage issu des deux fabrications est une pâte semi ferme car les rendements frais trouvés sont compris entre 15% et 12% selon **St-Gelais et Tirard-Collet (2002)**. Cependant nos résultats de rendement frais sont proches de ceux obtenus par **Sanchez-Macias et al. (2010)** pour des fromages de chèvre à matière grasse réduite (13,9 %) et basse (12,4 %).

Selon la classification du *codex alimentaire* :

Bouhezza de chèvre possède un TEFD égale à 68,6% pour F1 et F2, donc notre fromage est classé entre la catégorie des **pâtes demi-molles et pâtes molles**, c'est le cas pour *Bouhezza* de vache rapporté par **Aissaoui Zitoun et Zidoune (2006)**. Pour la teneur en **matière grasse** dans l'extrait sec le fromage montre un taux en MGES égale à **49,7 %** donc notre produit est classé dans la catégorie des fromages **tout-gras, affiné** principalement **dans la masse**. Pour ce qui est des fabrications de ferme, le *Bouhezza* de chèvre a été classé selon le TEFD 82,4% et un MGES de 35,7% à la catégorie des fromages à **pâte molle mi-gras affiné** dans la masse.

3. Caractéristiques microbiologiques

3.1. Matière première (Lait cru, *Lben* et *Lben* salé)

Le lait cru de chèvre possède une charge totale microbienne (FTAM) (Tableau 26, annexe 3) de l'ordre de 9,81 et 7,40 log ufc/mL respectivement dans le lait utilisé pour les fabrications expérimentales et en moyenne celui utilisé en ferme à Tébessa et Oum El-Bouaghi. La charge des bactéries lactique est proche entre les deux types de fabrications 8,4 et 8,17 log ufc/ mL pour les Streptocoques lactiques et, 6,51 et 7,89 log ufc/mL pour les lactobacilles respectivement dans le lait des fabrications expérimentales et celle de ferme. La différence n'est pas significative au seuil de 5% avec $p=35,77\%$ ($p>0,05$). La flore fongique dans le lait cru est d'un niveau légèrement supérieur à 6,5 log ufc/mL. Les halotolérants avec 5,17 log ufc/mL. La charge des Coliformes totaux est assez faible avec 1,4 log ufc/mL avec absence des coliformes fécaux ainsi que les autres microorganismes de contamination et pathogènes ; Streptocoques fécaux, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* et Clostridium sulfite-réducteurs.

La charge microbienne évolue au cours de la transformation du lait avec augmentation du nombre des bactéries dénombrées dans le *Lben*, avec un niveau compris entre 8,6 et presque 10 log ufc / mL. La FTAM avec 9,92 et 9,6 log ufc/mL, les streptocoques lactiques et les lactobacilles avec respectivement dans le *Lben* de fabrications expérimentales et de fermes, 9,99 et 9,68 log ufc/mL et 9,23 et 8,9 log ufc/mL. Aucune différence significative n'est observée au seuil de 5% dans les chiffres obtenus avec pour ces microorganismes entre celui des fabrications expérimentales et de fermes avec $p=63,33\%$ ($p > 0,05$). La charge obtenue des cocci est plus élevée que celle des bacilles. La flore fongique dans le *Lben* des fabrications de ferme est plus élevée 7,46 log ufc/mL que celle des expérimentales avec 3,98 log ufc/mL. La flore halotolérante est presque au même niveau entre les deux groupes de fabrications avec 2,27 et 2,56 log ufc /mL respectivement. Lors de la préparation du *Lben*, il y'a eu une contamination qui s'est manifestée par la présence de coliformes totaux avec 3,15 et 2,21 log ufc/mL et fécaux avec 1,54 et 1,67 log ufc/mL dans les

Lben respectifs, celui expérimentale et de fermes. Les streptocoques fécaux ont été signalé dans le *Lben* destiné aux fabrications expérimentales et les présumés *Staphylococcus aureus* ont été trouvés et dénombrés dans les *Lben* de l'expérimentales et de fermes respectivement avec 2,39 et 2,30 log ufc/mL. Mais ces chiffres restent dans un seuil acceptable qui disparaîtront ensuite au cours du temps dans les échantillons de *Bouhezza*. Cependant la *Salmonella* et les CSR sont absents de l'ensemble des échantillons de *Lben* analysés.

3.2. Flore Totale Aérobie Mésophile (FTAM), Levures et Moisissures (LM)

Selon la Figure 16 et les résultats du tableau des valeurs de la FTAM, dans l'échantillon de 8^{ème} jour la charge est assez élevée avec 10,41 et de 8,83 log ufc/g dans les fabrications expérimentales et de ferme respectivement, montrant une différence au niveau de signification du seuil alpha de 5% ($p < 0,05$) des valeurs obtenues au cours de la fabrication-affinage. Ces nombres ont diminué au cours du temps jusqu'à une charge de 8,40 et 7,79 log ufc/g respectivement, à 64 jour d'affinage. Cette diminution pourrait être due à la présence de microorganismes qui n'ont pas supporté l'acidité développée dans le fromage ni le degré de salinité qui a été assez élevé en début de fabrication et la diminution de la teneur en eau au cours de la fabrication de *Bouhezza*.

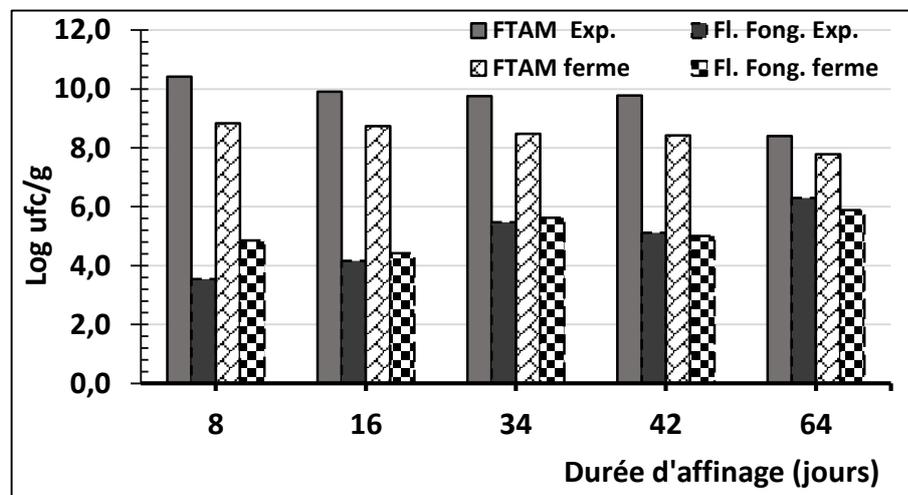


Figure 16. Evolution de la FTAM et de la flore fongique au cours de l'affinage du *Bouhezza* de chèvre dans des fabrications expérimentales et de ferme

La FTAM trouvée par **Aissaoui Zitoun (2014)** a été de l'ordre de 8 log ufc/g dans des fabrications expérimentales de *Bouhezza* de vache, proche de notre résultat, ainsi que la diminution de la charge au cours de l'affinage a été signalé.

Cependant, l'évolution de la flore fongique est une augmentation du début jusqu'à la fin de maturation du fromage en débutant au 8^{ème} jour par des valeurs respectives des fabrications

expérimentales et celles des fermes de 3,55 et 4,86 log ufc/g à 6,30 et 5,89 log ufc/g au 64^{ème} jour, avec une légère diminution du 34 au 42^{ème} jour (Tableau 27, annexe3).

Cette augmentation de la charge des levures et moisissures serait probablement due au bas pH et à l'acidité élevée due à la quantité d'acide lactique libéré suite à la fermentation des bactéries lactiques. On remarque que le nombre de la FTAM des fabrications expérimentales est plus élevé que chez celui des fabrications de ferme ($p < 0,05$), contrairement celui de la flore fongique les comptes sont proches et il n'y a pas de différence significative au seuil de 5% ($p > 0,05$), sauf de légères différences en début et à la fin de maturation. Nos résultats de la flore fongique sont proches de ceux rapportés par **Aissaoui Zitoun (2014)** pour *Bouhezza* de vache.

3.3. Bactéries lactiques (Streptocoques lactiques (Lactocoques) et Lactobacilles)

La caractérisation microbiologique du *Bouhezza* de chèvre nous a permis de connaître l'évolution de la charge totale et de la flore lactique constituée essentiellement des streptocoques et des lactobacilles (Figure 17).

Les variations qu'a subi le taux de micro-organismes du fromage est du probablement aux ajouts du *Lben* et du lait cru durant les huit semaines de fabrication.

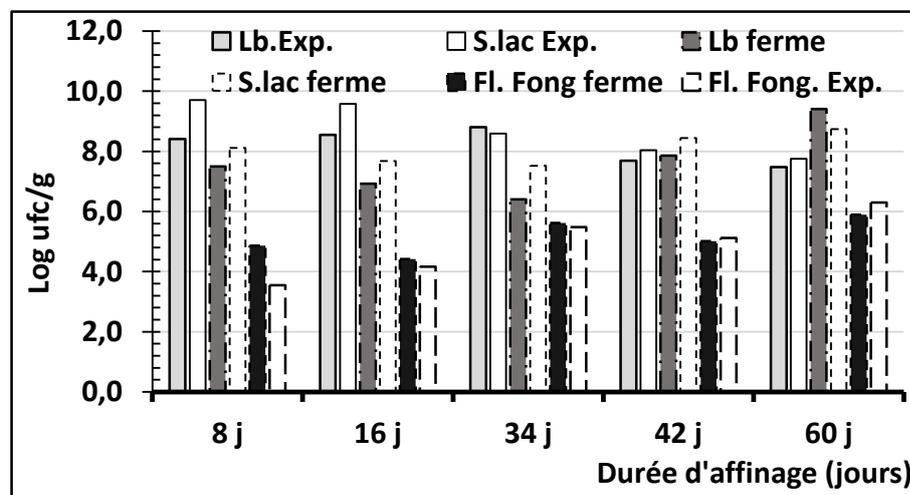


Figure 17. Evolution des Streptocoques lactiques et Lactobacilles au cours de l'affinage de *Bouhezza* de chèvre dans des fabrications expérimentales et de fermes.

La charge des Streptocoques lactiques à 8jour d'affinage est assez importante avec 9,70 et 8,12 log ufc/g et diminuent tout au long de la fabrication jusqu'à atteindre 7,75 log ufc/g au dernier jour de fabrication, et 7,51 log ufc/g au 34^{ème} jour pour remonter en fin de fabrication à 8,73 log ufc/g dans le fromage préparé dans les fermes ($p > 0,05$).

Celle des Lactobacilles de F1 et F2 diminuent du début jusqu'à la fin de l'affinage de 8 jours avec 8,41 log ufc/g à 7,48 log ufc/g. Les chiffres de celle des fermes au contraire diminuent au cours de la préparation de *Bouhezza* du 8^{ème} au 34^{ème} jour de 7,50 à 6,41 log ufc/g puis remontent à 9,41 log ufc/g au 64^{ème} jour ($p > 0,05$). Cette diminution serait due probablement à l'épuisement à un certain moment des molécules utilisées comme facteurs de croissance par les bactéries entre les différents ajouts de matière première et au contraire l'augmentation peut être due à l'apport des LAB par le *Lben* et le lait au cours de la fabrication.

Bien évidemment, les fabrications de ferme sont plus riches en LAB dans le produit final probablement ceci est dû à leur résistance et acidiphilie qui leur permet de se développer. Le nombre de Streptocoques lactiques paraît plus élevé que celui de lactobacilles dans les deux groupes de fabrications tout au long de la fabrication excepté pour l'échantillon de ferme du produit final où les lactobacilles affichent un nombre plus élevé que celui des Streptocoques lactiques.

3.4. Flore halotolérante

Cette flore a été recherchée dans le but de déterminer le nombre de microorganismes halophiles qui peuvent survivre dans un milieu riche en sel tel que le fromage *Bouhezza*. Selon le tableau 28 des résultats il apparaît que la charge de cette flore dans les fabrications expérimentales est plutôt faible en début de fabrication qui augmente à partir de deux semaines d'âge jusqu'à atteindre un niveau de 5,59 log ufc/g au 36^{ème} jour où il chute jusqu'à 2,95 log ufc/g en fin de fabrication. Dans les fabrications de ferme, le phénomène est inverse, l'évolution va dans le sens de la diminution de la charge à partir de la deuxième semaine, de 2,62 log ufc/g au 1^{er} jour à 2,57 log ufc/g au 16^{ème} jour, qui descend progressivement jusqu'à un niveau inférieur au 1,0 log ufc/g à partir de 49 jours jusqu'à la fin de fabrication. Cette différence est exprimée par le test de Student (test de comparaison de deux moyennes) qui montre qu'il y a une différence significative entre les résultats des deux groupes de fabrications au seuil de 5% où $p_{calculé} = 0,10\%$ est inférieur au seuil de signification ($p < 0,05$). **Aissaoui Zitoun (2014)** a déclaré trouver un niveau de flore halotolérante de 4 log ufc/g durant 10 semaines d'affinage de *Bouhezza* de vache.

Tableau 28. Evolution de la flore halotolérante dans *Bouhezza* expérimentale et de ferme.

	1	8	16	22	29	36	42	49 n.épicié	50/60 épicié
Exp.	2,39±0,09	2,76±0,14	4,16±0,06	4,38±0,05	3,65±0,05	5,59±0,06	5,11±0,01	3,09±0,79	2,95±0,63
OEB	2,62±0,01	2,68±0,09	2,57±0,05	1,55±0,56	1,73±0,72	1,76±0,75	1,7±0,70	<1	<1

3.5. Flore de contamination

3.5.1. Coliformes

3.5.1.1. Coliformes totaux

Cette flore de contamination est présente dans les deux fabrications expérimentales du 1^{er} jour jusqu'à la fin de fabrication-affinage avec des niveaux assez faible de l'ordre de 2,47 log ufc/g avec de légères fluctuations de diminution et remontée de la charge jusqu'au dernier jour d'affinage avec une charge de 1,8 log ufc/g de fromage. Cette charge au vu des normes Algériennes des critères microbiologique classe le produit comme étant de qualité satisfaisante. Les coliformes totaux, étaient présents dans le lait et ont légèrement augmenté dans le *Lben*, de 25 ufc/mL et $7,3.10^2$ ufc/mL puis diminuent de moitié au 49^{ème} jour à $3,05.10^2$ ufc/g et atteignent une valeur moyenne de $5,5.10^1$ ufc/g en fin de production.

La présence des CT a été signalée par **Aissaoui zitoun (2014)** dans *Bouhezza* de vache avec un niveau de 2 log ufc/g dans les fabrications de ferme et de l'ordre de 4 à 5 log ufc/g dans celles expérimentales. Dans Tulum, le compte avoisine 5 log ufc/g à 30 jours d'affinage et les coliformes étaient présents dans tous les échantillons étudiés par **Hayaloglu et al. (2007b)**.

3.5.1.2. Coliformes fécaux

Ces germes confirment la présence d'E coli et éventuellement celle des pathogènes. Mais selon les résultats obtenus, leur présence est apparue au 1^{er} jour de fabrication dans les deux fabrications F1 et F2, ensuite uniquement dans la F1 au 8^{ème} jour. Depuis aucune présence n'a été mise en évidence jusqu'au dernier jour de fabrication-affinage de ces fabrications. Pour ce qui est des fabrications de fait maison, le niveau des CF est de 1,09 log ufc/g à 8 jour qui augmente au cours de la fabrication jusqu'à la 3^{ème} semaine puis régresse et remonte pour finalement atteindre 1,7 log ufc/g dans le produit fini des fabrications de Tébessa. Les fabrications d'Oum El-Bouaghi présentent une charge de 2,2 log ufc/g au début de la fabrication-affinage pour diminuer dans tous les prélèvements suivants jusqu'au produit fini avec des valeurs < 1 log ufc/g de fromage. La moyenne des fabrications de ferme donne des valeurs inférieures à celles sus-citées (Tableau 27, annexe 3). Ceci fait de ces fabrications un fromage de qualité microbiologique satisfaisante et peuvent être consommé sans danger. Le compte de 1 à 3 log cfu/ g des CF est signalé par **Aissaoui Zitoun et al. (2012)** dans *Bouhezza* de vache. Des chiffres plus importants ont été signalés dans des fromages fabriqués au lait cru et affinés dans des peaux de chèvre tel que Tulum avec un niveau de 5 log ufc/g à 30 jours d'affinage (**Hayaloglu et al., 2007b**).

La présence en nombre assez important des bactéries lactiques indigènes et les moisissures dans le fromage limite la croissance des coliformes, qui sont inhibés également par le pH acide < 4. **Hayaloglu et al. (2007b)** ont rapporté que le nombre de coliformes faible et de bactéries

mésophiles totales dans les fromages mûris en peau de chèvre (Tulum) peuvent être attribués à l'humidité faible et à une teneur en sel dans l'humidité plus élevée des fromages.

3.5.2. Streptocoques fécaux

Ce groupe de microorganisme considéré comme indicateur de contamination fécale, n'est apparu que dans l'échantillon du premier jour des fabrications expérimentales avec une charge faible de l'ordre de 2,92 log ufc/g et dans celui de la 1^{ère} semaine avec une moindre charge, 2,26 log ufc/g de fromage. La contamination viendrait probablement de la matière première à partir éventuellement de l'eau ajoutée lors du barattage du *Lben*. Cependant, dans les échantillons suivants, ce nombre a dû disparaître et aucun germe n'a été trouvé jusqu'à la fin de l'affinage du fromage. Ce serait probablement dû aux conditions internes du fromage telles que salinité, acidité et bactériocines libérées par les LAB au cours de l'affinage qui ont éliminés le nombre trouvés en début de fabrication. Concernant les autres fabrications de ferme aucun résultat positif n'est obtenu pour l'ensemble des échantillons et donc absence de contamination fécale par ce groupe de bactéries.

3.5.3. Clostridium sulfito-réducteur (C.S.R.)

Ces microorganismes anaérobies utilisés en microbiologie alimentaire comme étant des contaminants fécaux n'ont été trouvés dans aucun de nos échantillons analysés soit des fabrications expérimentales ou de ferme.

3.6. Germes pathogènes

3.6.1. *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Brucella*

Les résultats de la recherche de la flore pathogène dans la matière première de *Bouhezza*, ont montré la présence d'un nombre réduit de présumé *Staphylococcus aureus* dans le *Lben* $2,45 \cdot 10^2$ (2,39 log ufc/mL) qui se sont retrouvés avec une légère augmentation dans les échantillons de 1^{er} jour dans les deux fabrications expérimentales étant donné que les deux autres reçoivent la même matière première, avec une valeur moyenne de 2,64 log ufc/g de fromage. Cette charge a disparu dans les prochains échantillons, ce qui peut être dû à l'acidité développée au cours de la fabrication qui a inhibé le développement ou détruit ces cellules. Selon le **Journal officiel de la RADP N°35** (du 27 Mai 1998) relatif aux critères microbiologiques de certaines denrées alimentaires, la présence de cellules présumées de *Staphylococcus aureus* est tolérée dans les laits acidifiés et les fromages à pâte molle entre $3 \cdot 10^2$ ufc/g et $9 \cdot 10^2$ ufc/g, par conséquent la charge qui était présente dans ces échantillons ne considère pas le produit comme de mauvaise qualité, mais plutôt de qualité microbiologique satisfaisante. De même que dans la fabrication F6 de Chréa (Tébessa) un

nombre limité de *Staphylococcus aureus* a été trouvé $1,9.10^2$ (2,28 log ufc/mL) dans le *Lben* non salé et $2,0.10^2$ (2,30 log ufc/mL) dans le *Lben* salé. Cette charge a disparu dans les échantillons de fromage jusqu'à la fin de fabrication. Cependant, *Salmonella* a été absente dans tous les échantillons de lait et de *Lben* utilisé dans toutes les fabrications. Tous les germes pathogènes recherchés ; *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* et *Brucella* ont été absents dans *Bouhezza* de toutes les fabrications, expérimentales et de ferme. La *Brucella* a été recherchée uniquement dans les deux dernières fabrications (F12 et F13) d'Oum El-Bouaghi ou elle a été absente de ces échantillons.

Selon **Gouedranche et al. (2007)** plusieurs facteurs peuvent influencer la charge microbienne des fromages, tel que le pH qui est considéré comme un élément régulateur de la croissance des microorganismes (en dessous de pH 5 seuls les bactéries lactiques, les levures et les moisissures se multiplient) ; la température a également une très forte influence sur la croissance bactérienne et les échanges qui ont lieu entre l'atmosphère et le fromage (O_2) (*Bouhezza* a un $pH \leq 4$).

3.7. Caractéristiques de souches ayant une activité protéolytique par Electrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence SDS (SDS-PAGE)

La flore totale dans la fabrication de *Bouhezza* F4, est comprise entre 10^5 et 10^7 UFC/g de fromage, les Lactobacilles et les Lactocoques (streptocoques) sont au nombre de 10^5 et 10^6 UFC/g de fromage.

Dans la fabrication F5, la flore totale est de l'ordre de 10^6 UFC/g de fromage, le nombre des Lactobacilles est compris entre 10^6 et 10^7 UFC/g de fromage et celui des Lactocoques (streptocoques) est entre 10^5 et 10^6 UFC/g de fromage et 10^5 UFC/mL de *Lben*.

Dans la F6, la FTAM est de l'ordre de 10^6 UFC/g de fromage et 10^5 à UFC/mL de *Lben*. Le nombre des Lactobacilles est compris entre 10^5 et 10^7 UFC/g de fromage et enfin celui des Lactocoques (streptocoques) est compris entre 10^5 et 10^8 UFC/g de fromage.

Les résultats de SDS PAGE ont montré une activité de protéolyse par six (6) isolats (Figure 18). Les échantillons n°9 (2 isolats) sur les gels 1 de 24 et 48h, au niveau des puits 7 et 8, le n°18 sur les gels 2 de 24 et 48h ; en position du puits 3 ; n°24 en position du puits 4 et n°26 en position du puits 6 chez les cocci et une seule souche de bacille au n° 9, sur les gels 3 de 48h au niveau du puits 6 (de gauche à droite).

Après 48h, le même protocole opératoire pour tester l'activité protéolytique chez les 35 souches. Les résultats sont plus parlant, des zone d'hydrolyse des caséines sur des Gels de 48h (Figure 18) apparaissent chez les mêmes 06 isolats de 24h. Le séquençage de l'ADN a été réalisé

par le département de séquençage MilleGen (Labège, France). L'identification des isolats par PCR issus de Fromage traditionnel Algérien *Bouhezza*, préparé de lait de chèvre est comme suit :

H1_ Non identifié (F1 50j)/ H2_ Non identifié (F1 50j) / H3_ *Enterococcus faecalis* (F2 50j)

H4_ *Enterococcus faecium* (F3 54j) / H5_ *Lactobacillus paracasei* subsp. *Paracasei* (F3 72j)

H6_ *Enterococcus faecalis* (F2 50j)

La confirmation de ces résultats de protéolyse, des six souches présumées protéolytiques a été faite par ensemencement et inoculation sur du lait de vache UHT et du lait de chèvre UHT, à raison de 50 µL de suspension bactérienne à partir des milieux spécifiques dans 950 µL de lait. Ensuite des aliquotes de 50 µL ont été récupérées dans des tubes eppendorf et incubés à 37°C pendant 24 ; 48 et 72h.

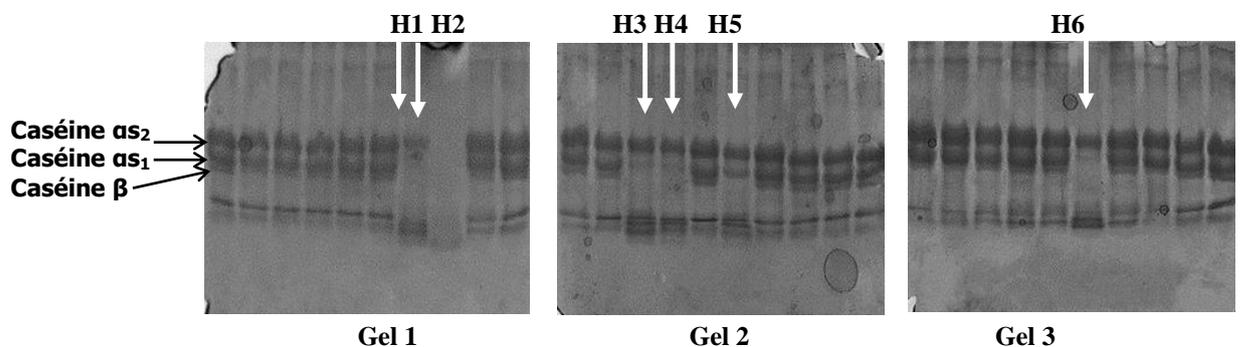


Figure 18. SDS-PAGE dans 12% des six isolats identifiés comme des bactéries lactiques présentant des zones de protéolyse dérivées du fromage *Bouhezza* fabriqué avec du lait de chèvre à l'âge de 50 jours (d) et plus encore. H1_non-identifié (P9 de F1 50 d); H2_non-identifié (P9 de F2 50 d); H3_ *Enterococcus faecalis* (P9 de F2 50 d); H4_ *Enterococcus faecium* (P7 de F3 56 d); H5_ *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* (P9 de F3 72 d) ; H6_ *Enterococcus faecalis* (P9 de F2 50 d). Le dernier puits des gels est le lait de vache.

Les aliquotes, après les différents temps d'incubation de 24 ; 48 et 72h, sont préparés à raison de 50µL dans 500 µL de tampon échantillon d'électrophorèse, et conservés au réfrigérateur jusqu'à utilisation. L'électrophorèse est réalisée en plaçant chaque échantillon des 3 durée d'incubations les uns à côté des autres.

Les gels d'électrophorèse obtenus montrent qu'il y'a une activité protéolytique effective chez les 6 souches de bactéries lactiques (Figure 19).

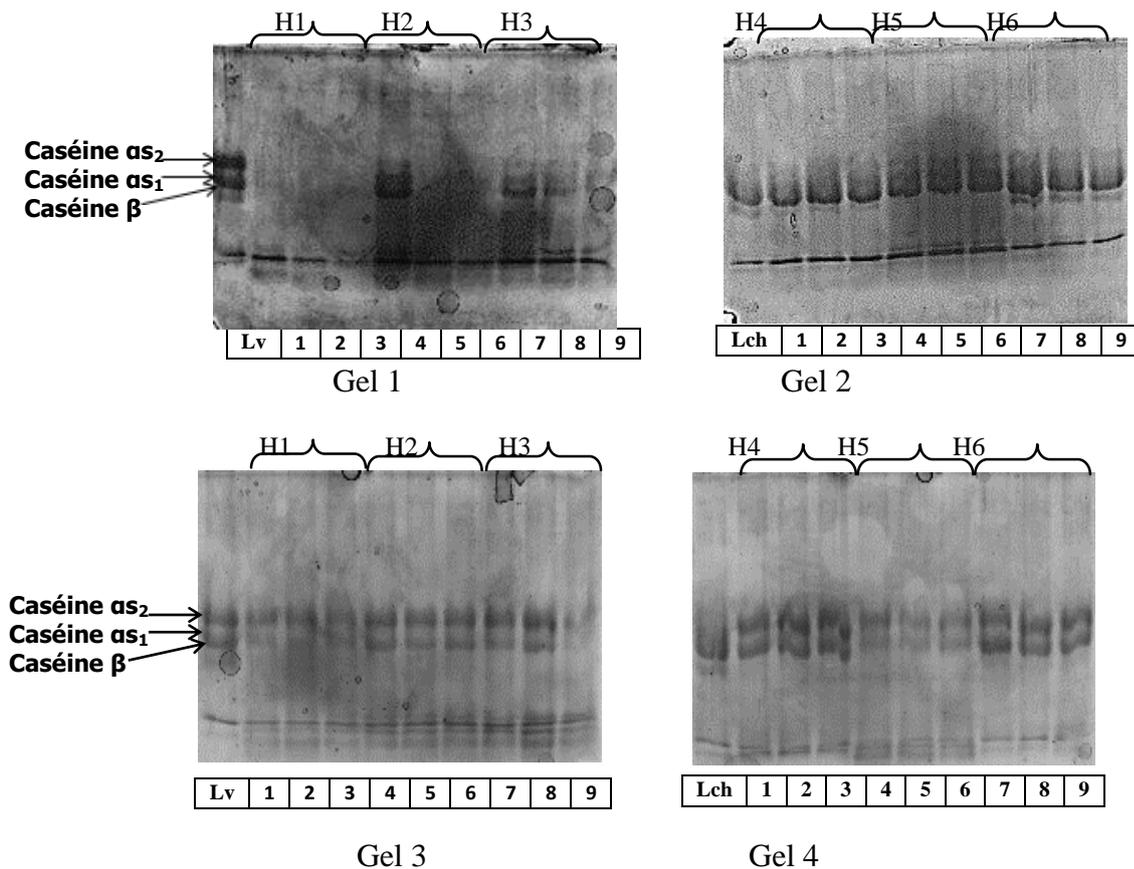


Figure 19. Gels de confirmation de l'activité protéolytique sur du lait de vache et de chèvre à 24,48 et 72 heure d'incubation des souches présumées protéolytiques et identifiées comme bactéries lactiques. 1, 2,3...numéro du puits, Lv : lait de vache, Lch : lait de chèvre, H1, H2, H3, H4, H5, H6 : les souches lactique protéolytiques identifiées.

Ce résultat satisfaisant obtenu à travers la découverte d'une activité protéolytique sur du lait de vache et de chèvre stériles, chez six des souches isolées du fromage traditionnel *Bouhezza* (cinq cocci et une souche de bacille) confirme les résultats physicochimiques et ceux des électrophorèses (SDS PAGE, Urée-PAGE et ceux de RP-HPLC).

3.8. Ecosystème et Identification génétique des LAB par PCR-TTGE (*Temporal Temperature Gel Electrophoresis*)

Le profil électrophorétique TTGE (Figure 20) a montré huit bandes correspondant à des espèces de bactéries lactiques, trouvées dans des échantillons de fromage *Bouhezza* fabriqué à l'aide de lait cru de chèvre. Ces espèces ont été identifiées, selon **Parayre et al. (2007)**, à *Lb. plantarum* / *Lb. johnsonni* / *Lb. Gasseri* (bande a), *Lb. fermentum* (bande b), *Lb. helveticus* / *Lb. acidophilus* / *Lb. cripatus* (bande j) ; apparaissent de 28 à 50 jours pour FH1 et à 14 j pour FH2. *S. gallolyticus subsp. macedonicus* (bande n) et *Lc. lactis subsp. cremoris* (bande p) étaient présents dans *Lben* (1j) et dans tous les échantillons de fromage, y compris l'échantillon de fromage témoin fabriqué

avec du lait de vache, d'Ain Fakroun (Figure 20). D'autre part, *S. xylosus* (bande h) n'était présent que dans FH3 après 64 et 72 jours de maturation. *Lb. buchneri* (bande r) et la bande v correspondent à *B. breve* / *Hafnia alvei* sont présents dans l'échantillon de fromage témoin (d'Ain Fakroun).

La variété du lait de chèvre utilisé dans la fabrication du fromage, la différence dans l'alimentation animale et éventuellement le climat de la région ont donné cette différence dans la composition bactérienne entre les expérimentaux (FH1, FH2) et la ferme (FH3). Aucune bande n'a été montrée dans les échantillons 9 et 12. La détection de trois (éventuellement cinq) bandes inconnues avec un pourcentage inférieur de G + C dans les échantillons FH1 et FH2 a été notée.

Parmi les bactéries lactiques trouvées dans les échantillons de fromage provenant du lait de chèvre, le genre *Lactobacillus* était prédominant, en raison de leur résistance à l'acidité et du sel dans le fromage. Les mêmes espèces ont été trouvées dans le fromage Libanais Darfiyeh fabriqué avec du lait cru de chèvre ; comme *Lb. plantarum* et *Lc. lactis subsp. cremoris* (Serhan *et al.*, 2009). Aissaoui Zitoun *et al.* (2012) ont rapporté que les principales espèces trouvées dans le fromage *Bouhezza* fabriqué avec du lait de vache, *Lc. lactis*, *Lb. plantarum*, *Leuconostoc cremoris* / *Leu. mesenteroides*. *Lc. lactis* était la principale espèce identifiée par la TTGE et est l'une des espèces les plus répandues dans les écosystèmes de fromage (Ogier *et al.*, 2004).

Le système enzymatique des LAB joue un rôle essentiel lors de la fabrication du fromage, car les acides aminés résultant de la protéolyse de la caséine sont les précurseurs majeurs de composés gustatifs spécifiques tels que divers alcools, aldéhydes, acides, esters et composés soufrés (Smit *et al.*, 2005).

La diversité microbienne a une grande influence sur la qualité hygiénique et sanitaire et donc sur les aspects nutritionnels, organoleptiques et sensoriels. Les produits laitiers fermentés contiennent généralement des microbiotes complexes, en particulier lorsqu'ils sont fabriqués à partir de lait cru (Parayre *et al.*, 2007), tel que *Bouhezza*. La fabrication du fromage à partir de lait cru a montré son effet bénéfique sur plusieurs niveaux. L'acidité s'est développée pendant la fermentation lactique avec la quantité d'acide lactique libérée dans la masse du fromage, qui a un effet antiseptique ainsi que ses avantages dans l'absorption intestinale du calcium. Ensuite, le lactose résiduel qui est dégradé pour donner aux molécules de la saveur et du goût du fromage.

La protéolyse et la lipolyse qui se produisent pendant le processus de maturation sont également des avantages, sur la texture du fromage, des produits d'hydrolyse libérés, qui sont des peptides et des acides gras essentiels. Ces dernières seront ensuite hydrolysées par les enzymes telles que les peptidases et les lipases des bactéries originales (LAB), ce qui entraîne une variété de molécules aromatisantes donnant des profils sensoriels et aromatiques diversifiés plus intenses et plus

prononcés au fromage. Les événements biochimiques où le système enzymatique microbien impliqué pendant la maturation sont très importants pour le développement des divers produits aromatiques volatils jusqu'à la fin de la fabrication. Certains des composants aromatisants ont des effets antiseptiques et antimicrobiens.

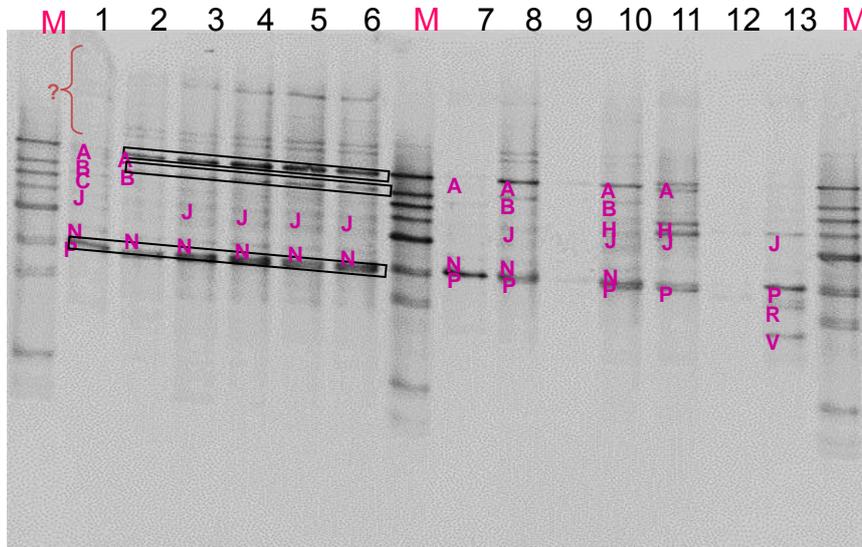


Figure 20. TTGE (Temporal Temperature Gradient Electrophoresis) électrophorèse à gradient de température temporaire de fromage *Bouhezza* fabriqué à partir de lait de chèvre après extraction d'ADN d'échantillons issus de deux fromages de fabrication expérimentale (FH1); 1. Fromage à 1 j de maturation, 2. 14 j de maturation, 3. Fromage de 28j maturation, 4. 42 j de maturation, 5. 50 jrs de maturation sans épice et 6. 50 jrs d'affinage avec piment rouge. FH2 ; 7. 1 j d'affinage ; 8. 14 j de maturation et 9. 50j de maturation non épicé. Les deux fromages sont comparés au fromage de ferme : FH3 ; 10. 64 j de maturation non épicé et 11. 72j d'affinage épicé au piment rouge piquant, et deux échantillons de fabrication de ferme de Tébessa ; 12. age > 30j d'affinage épicé au piment rouge ; Ain Fakroun: 13.> 30j d'affinage épicé au piment rouge. M: marqueur d'ADN génomique.

Bande : Espèce de la base de données ; **a.** *Lb. plantarum/Lb. johnsonni/Lb. gasseri* ; **b.** *Lb. fermentum* ; **c.** *Leuconostoc cremoris/Ln. mesenteroides* ; **h** *S. xylosus* ; **j.** *Lb. helveticus/Lb. acidophilus/Lb. crispatus* ; **n.** *S. gallolyticus subsp. mMacedonicus* ; **p.** *Lc. lactis subsp. cremoris* ; **r.** *Lb. buchneri* ; **v.** *B. breve/Hafnia alvei*

La sécrétion des bactériocines par les LAB dans la matrice du fromage complètera la désinfection ou la protection du fromage en ce qui concerne les germes de contamination et les germes pathogènes.

Conclusion partielle

La présence de coliformes et coliformes fécaux indiquent qu'il y a eu éventuellement une contamination fécale, soit à partir de manipulateurs ou de l'eau ajoutée lors du barattage du Lben qui serait contaminée. Ceci est confirmé par la présence, en début de fabrication, des Streptocoques fécaux qui sont aussi des indicateurs de contaminations fécale récente accompagnant les CT et CF. Aussi la présence de présumé cellules de Staphylococcus aureus dans les matières premières des fabrications expérimentales et au cours des deux premières semaines de fabrication. Bouhezza étant un fromage fabriqué à partir de lait cru (matière première d'origine) ne subissant aucun traitement thermique aux fins d'épurer la matière première utilisée, n'a que seules les défenses naturelles, pour se préserver des altérations de ses qualités hygiéniques, texturales ou organoleptiques, qui ont dû éliminer les contaminants se trouvant en son sein. Parmi les facteurs qui défavorisent la multiplication et développement de bactéries indésirables, en plus du système de défense naturel du lait cru (lysozyme, système lactoperoxydase,..) l'acidité développée au cours de l'affinage avec abaissement du pH en deçà de 4 comme action des bactéries lactiques. Les bactériocines éventuellement libérées dans la masse fromagères, le taux de sel qui contribue à inhiber un nombre important de bactéries pathogènes et de contaminations, ainsi que la diminution du taux d'humidité exprimé par un taux d'EST qui augmente au fur et à mesure de l'affinage diminuant les chances de certaines bactéries ou microorganismes de s'y développer. A la fin de l'affinage, l'assaisonnement au piment rouge piquant serait un plus qui apporterait le goût, l'arôme ainsi qu'une action antimicrobienne ajoutée dans la préservation du fromage (il serait intéressant d'étudier cette dernière étape de la fabrication de Bouhezza avec plus de détails et développement scientifique pour mettre en évidence la réalité de ses bienfaits).

4. Niveau de l'affinage

4.1. Evolution des Matières azotées

4.1.1. Protéines

Le taux de protéine obtenu dans toutes les fabrications montre une évolution croissante du taux de protéines au cours de la fabrication-affinage de *Bouhezza* (Figure 21). La cinétique est presque la même pour les deux groupes de fabrication jusqu'à un mois de fabrication-affinage, ensuite l'évolution est différente où celle des ferme est plus importante que celle des expérimentales avec $p\text{ value}=2,38\%$ ($p < 0,05$). Le résultat des fabrications F1 et F2 montre une augmentation sensible dès la première semaine qui est probablement due à un égouttage qui est assez important en début de fabrication, suivi d'une augmentation jusqu'au 45^{ème} jour. A partir de ce jour une légère diminution est observée jusqu'à la fin de fabrication qui serait probablement due à l'ajout de lait cru entier qui dilue et hydrate la pâte fromagère. Quant au résultat des fabrications de ferme le comportement est le même, il y'a augmentation régulière des niveaux des protéines du début avec des taux protéiques de 25,72% à 36 jours et à la fin de fabrication 28,04% avec un pic de 29,66% à 53 jours suite à l'ajout du lait cru qui contribuerait à augmenter ces substrats.

La différence significative observée ($p < 0,05$) doit résider dans l'alimentation des chèvres, le lieu et l'origine de la matière première utilisée dans les diverses fabrications. La Figure 21 montre l'évolution du taux de protéine dans les fabrications caractérisées. Les protéines /EST de *Bouhezza* de vache rapporté par **Aissaoui Zitoun (2014)** sont supérieures à 50%, largement plus élevées que celle de *Bouhezza* de chèvre.

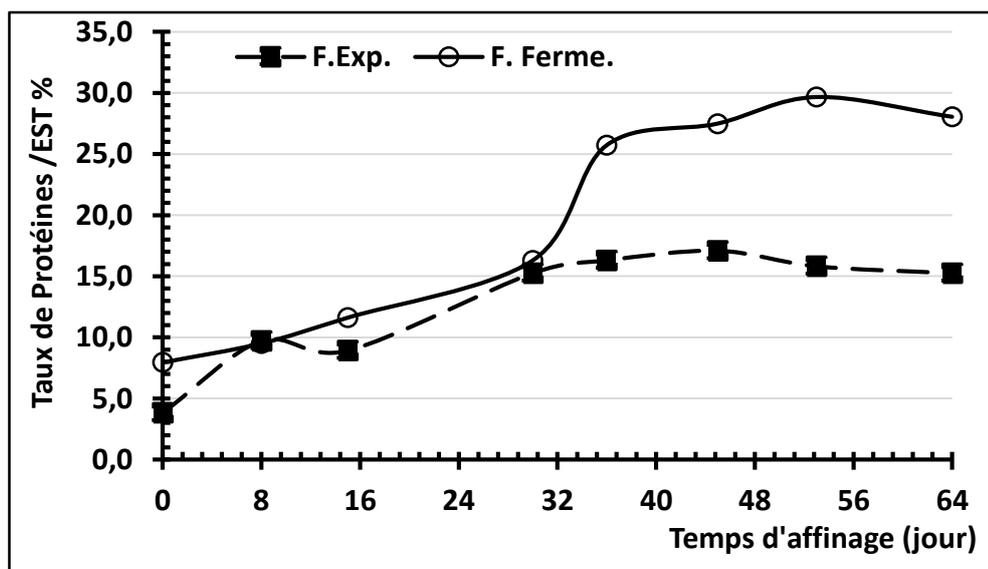


Figure 21. Evolution du taux de protéines sur EST au cours de l'affinage de *Bouhezza* de chèvre dans différentes fabrications.

Cependant, **Aissaoui Zitoun et al. (2012)** a rapporté en fin de fabrication une teneur de 16,8% équivalente en Protéines/EST de 46,7% et à 42jour une valeur de 12,4% (Protéines/EST de 60,8%). Même nos résultats (**Medjoudj et al., 2017**) obtenus dans des fabrications de ferme ont atteints un pic de 42% à 30jour, mais le maximum affiché dans le produit fini était de 33,75% à 72jour. Selon **Amiot et al. (2002)** la teneur en protéine du lait de chèvre serait plus élevée (3,6%) que celle de la vache (3,3%). Il y'aurait probablement des pertes en protéines solubles à travers les pores des peaux utilisées comme contenant de fabrication affinage de *Bouhezza*. Dans le Tulum à 30jour la valeur était de 36,6% et de 32,6 % à 60jour (**Hayaloglu et al., 2007b**). Le contenu protéique du *Bouhezza* de chèvre est légèrement inférieur aux valeurs rapportées par **Serhan et al. (2010)** dans Darfiyeh qui est de 32,1-36,01% à 40jour et entre 31,21 et 40,91% à 60 jours d'affinage.

4.1.2. Fractions azotées

La figure 22 montre les résultats de la quantification des protéines dans le fromage traditionnel algérien *Bouhezza* à base de lait cru de chèvre. Le niveau de l'azote total évolue entre 0,85 (15j), 1,15 (30j) et 1,93 g/100g à 50j dans les fabrications expérimentales et se situe entre 1,25 et 2,75 g / 100 g de fromage dans le produit final des trois fabrications de fermes (F4, F5 et F6) (Tableau 29, annexe 3) . Son évolution va en augmentant au cours de la fabrication affinage et qui évolue en progressant en fonction de l'augmentation de la matière sèche. Le taux de protéolyse qui reflète le taux de maturité ou d'affinage du fromage est exprimé par l'azote soluble total (NS dans l'eau ou NS à pH 4,4) dans l'azote total libéré dans la matrice fromagère commence par des valeurs assez élevées au cours des deux premières semaines avec 20,28% dans les fabrications expérimentales et entre 8,97 et 9,18% à 8 et 15 j d'affinage dans celles de ferme. Puis diminution à un niveau de 12,63% dans F1 et F2 à 30j et à 5,38% entre 30 et 45j. Après cela, il y'a une augmentation de l'activité protéolytique dans *Bouhezza* au-delà de 45j, atteignant 15,49% à 50j dans *Bouhezza* expérimental et 11,29 à 64j et 12,44% à 72j d'affinage dans *Bouhezza* de ferme. Cette remontée du taux de protéolyse serait due à l'ajout du lait cru entier à partir de 34^{ème} jour dans la préparation expérimentale et 56^{ème} jour dans celle de ferme qui apporterait les enzymes protéolytiques endogènes et de nouvelles bactéries lactiques. Ces dernières agissant par leurs enzymes exogènes et probablement à partir de la 6^{ème} semaine d'affinage il y aurait la lyse des cellules bactériennes libérant des enzymes protéolytiques telles que les protéases et peptidases. Les mêmes allégations ont été rapportées par **Aissaoui Zitoun et al. (2011)**.

Le taux de protéolyse trouvé dans *Bouhezza* de chèvre est inférieur à, celui obtenu par **Aissaoui Zitoun et al. (2011)** de *Bouhezza* à base de lait de vache, légèrement inférieur ceux de Darfiyeh

affiné dans un sac de peau de chèvre (Serhan *et al.*, 2010) et ceux du fromage Tulum mûri dans un sac de peau de chèvre (Hayaloglu *et al.*, 2007a). Cependant, nos résultats sont proches de ceux rapportés par Aissaoui Zitoun *et al.* (2012) néanmoins en fin de fabrication, et supérieur aux résultats de la protéolyse dans le fromage Xinotyri provenant du lait de chèvre obtenu à 45, 60 et 90 jours de maturation (Bontinis, 2012). Le taux de protéolyse du *Bouhezza* au lait de chèvre est à un niveau moyen, avec une moyenne de cinq productions de 13,07%.

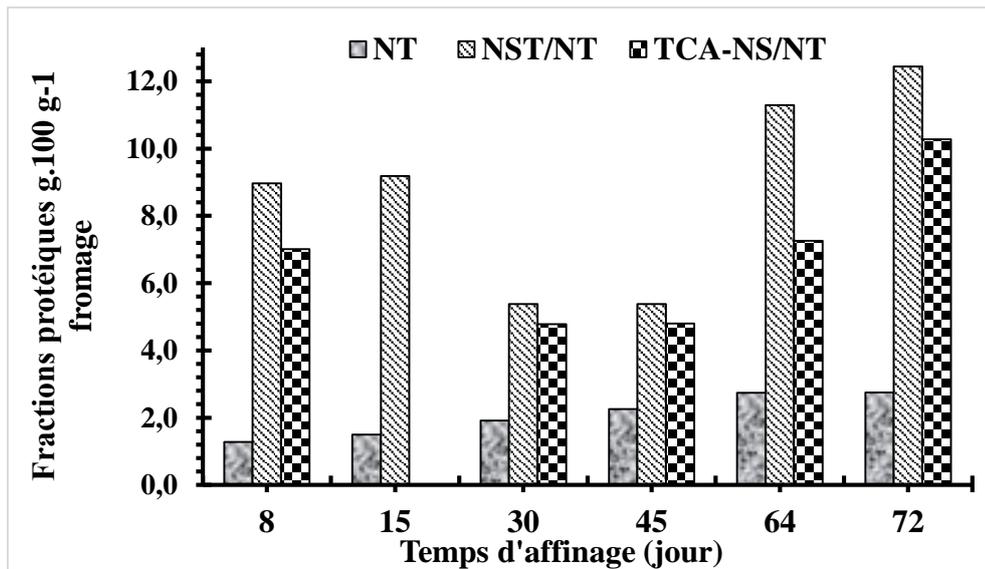


Figure 22. Fractions protéiques et taux de protéolyse dans *Bouhezza* de chèvre de ferme.

Le taux d'azote non protéique exprimé par l'azote soluble par le TCA à 12% (NS-TCA/NT) dans l'azote total évolue de la même manière que l'azote soluble à pH 4,4 mais avec un niveau inférieur. Au début de l'affinage un niveau de 7,01% à 8j qui diminue à 30j au niveau de 4,78% et reste stable avec le taux de 4,8% jusqu'au 45^{ème} jour où il y'a remontée en fin de fabrication au taux de 7,26 et 10,27% à 64 et 72j respectivement.

Cette remontée et élévation du taux de protéolyse de l'azote soluble protéique et celui non protéique accompagnant les ajouts de lait cru, semble stimuler la maturation du fromage par intensification de l'activité enzymatique dans la matrice fromagère.

4.1.3. Suivi de la protéolyse et produits de la dégradation par Electrophorèse sur gel SDS-PAGE et Urée-PAGE et RP-HPLC

4.1.3.1. Suivi par Electrophorèse sur gel SDS-PAGE

Les résultats des échantillons analysés par électrophorèse SDS PAGE des fabrications expérimentales F1 et F2 (N° des puits de 2 à 19) et de ferme de Tébéssa F3 (N° des puits de 20 à 26) montrent la présence d'une activité protéolytique. Sur les quatre (04) gels (1,2 3 et 4) de la Figure 23, il y a apparition des petites fractions chez les échantillons prélevés à partir d'un mois

(4semaines) d'âge du fromage jusqu'en fin de production. La séparation est montrée sur les gels à travers les différentes fractions des caséines natives, qui apparaissent selon l'ordre croissant du poids moléculaire des caséines du lait de chèvre (de haut en bas), à savoir la caséine α_2 , caséines α_1 et la caséine β . Les petites fractions apparentes sont surtout celles de caséines γ qui sont obtenues à partir de la dégradation de la caséine β certainement par les enzymes natives du lait tel que la plasmine, et la cathepsine qui agit à pH acide. Elles sont plus apparentes dans les puits 9 pour la F2, les puits 16-19 pour la F1 et enfin sur les puits 25 et 26 de la F3. Cette technique montre qu'il y'a une production de fractions caséiques ou de grands peptides issus de la dégradation des protéines du lait, mais elle reste moins précise que l'Urée-PAGE sur la fraction insoluble issue des caséines, qui a plus de résolution et montrera plus de détails sur les produits de protéolyse. Les résultats obtenus des profils de SDS PAGE sont présentés sur les gels ci-dessous de la Figure 12. Le lait témoin utilisé est du lait de chèvre (C) et de vache (V) stériles sur lesquels n'apparaît aucune bande signalant une protéolyse.

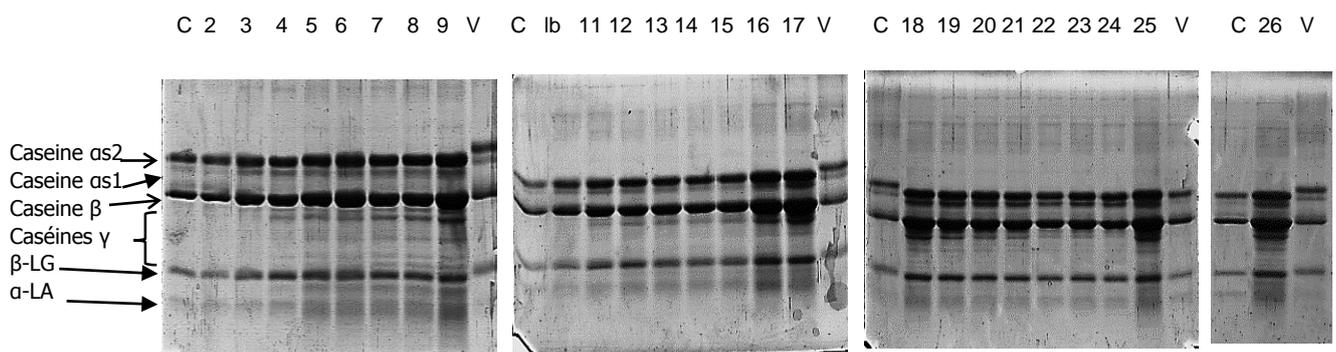


Figure 23. Électrophorèse SDS-PAGE (à 12%) des échantillons de fromage *Bouhezza*, fabriqué à partir de lait cru de chèvre, montrant l'apparition de nouvelles petites fractions (γ -caséine) en raison de la protéolyse d'un mois de maturation jusqu'à la fin de la production, dans trois fromages. C : lait de chèvre. Lb: *Lben*. V: lait de vache. Numéros de 2 à 9: échantillons de fabrications expérimentales F2; de 11 à 19: échantillons de F1 et de 20 à 26: échantillons de fabrication de ferme F3.

D'autres électrophorèses sur SDS-PAGE réalisés sur des fabrications de F4, F5 et F6 qui n'ont pas été réussis mais celles sur les fabrications de F7 et F8 sont aussi claires que celles de F1, F2 et F3 et montrent une activité protéolytique au cours de l'affinage (Figure 24, annexe 3).

Il est apparent qu'au cours de la fabrication de *Bouhezza*, il y'a une évolution de la protéolyse due à l'affinage auquel les bactéries lactiques contribuent et probablement certaines levures.

4.1.3.2. Suivi du profil peptidique par RP-HPLC

Les résultats de l'analyse RP-HPLC sur les fractions des protéines de phase soluble à pH 4.4 ont montré une émergence de pics très importants aux temps de rétention entre 15 et 35 min et

au-delà. Cela démontre une activité de protéolyse et production de peptides qui pourraient subir une hydrolyse enzymatique et une libération d'acides aminés disponibles et digestibles pour le consommateur.

La quantité de la fraction azotée soluble à pH 4,4 (ou dans l'eau) est largement utilisée comme indice de protéolyse. Ces extraits contiennent de nombreux petits et moyens peptides, acides aminés et leurs produits de dégradation (acides organiques et leurs sels, NaCl). L'extraction avec de l'eau sépare efficacement les petits peptides du fromage des protéines et des grands peptides (Fox *et al.*, 2000).

Selon certains auteurs (De Llano *et al.*, 1995; Laborda et Rubiolo, 1999; Hayaloglu *et al.*, 2004; Fallico *et al.*, 2005), les chromatogrammes RP-HPLC de fractions solubles à pH 4,4 peuvent être divisés en trois zones ; la plupart des acides aminés libres sont élués de 0 à 10 min, des peptides hydrophiles dans la plage de 10 min à 35 min et la fraction de peptides hydrophobes est éluee entre 35 et 65 min à 70 min.

Les résultats obtenus de l'analyse par RP-HPLC sur la phase protéique soluble à pH 4,4 à travers les chromatographes, ont montrés une apparition des pics à des durées de fabrication et d'âge du fromage au cours de son affinage au-delà d'un mois. Ceci nous amène à dire qu'il y'a protéolyse et production de certains peptides qui restent à leur tour peuvent être hydrolysés en d'autres produits rentrant dans les composants de la saveur du fromage.

Ceci est évident dans les chromatogrammes de la Figure 25 des fabrications expérimentales F1 et F2, et de ferme F3. Ainsi, les peptides de la zone hydrophile sont plus importants en quantité et en temps de rétention. Les images ou les zones pour ces peptides sont plus élevées en unité arbitraire (entre 0,6 et 0,8) pour F1 et F2 alors que pour F3 sont inférieures à 0,6 AU. Ce résultat est probablement dû au mode de préparation du fromage où le salage au début de la production était plus important en F3 et a ensuite une influence négative sur le niveau de protéolyse.

L'analyse statistique a montré qu'il n'y a pas de différence significative entre la première et la deuxième fabrication, mais il existe une différence significative entre F1 et F2 avec F3 (de ferme) au niveau 5%.

Il est rapporté par Fox *et al.* (2000), qu'il existe une protéolyse secondaire caractérisée dans une certaine mesure dans quelques variétés, mais la protéolyse est si complexe et variable entre et à l'intérieur des variétés qu'il n'est probablement pas possible de la caractériser en détail.

La Figure 25 indique les profils peptidiques des fractions d'azote soluble dans l'eau des fromages. Les acides aminés libres (AAL) sont élués entre 0 et 10 min, les peptides hydrophiles (HI) élués entre 10 et 35 min, alors que les peptides hydrophobes (HO) sont élués entre 35 à 80 minutes. Cet ordre d'apparition des produits d'hydrolyse des protéines sur les chromatogrammes

RP HPLC de fractions solubles à pH 4,4 comme rapporté qu'ils peuvent être divisés en trois zones ; les AAL, les peptides hydrophiles et hydrophobes sont ensuite élués dans l'ordre précédent.

Les 15 premières minutes ont été pourvues avec les acides aminés libres pour toutes les fabrications (F4, F5 et F6). Les pics des molécules libérées étaient plus importants en F6 dépassant les 1000000 UA plus que ceux de la F4 et F5. La 2^{ème} zone entre 15 et 35 min, l'apparition de peptides hydrophiles. C'était une abondance et une diversité de pics représentant les différents peptides libérés par la protéolyse et la dégradation des caséines. Ces pics de peptides qui sont libérés dans la phase hydrosoluble apparaissent sur les Figures de l'urée PAGE qui révèlent la présence de certaines fractions obtenues suite à la protéolyse des caséines β -et α .

Le plus intéressant est que l'intensité des pics, qui représente la concentration, augmente pendant le temps de maturation, à partir de 30j de fabrication-affinage, il y a une augmentation du nombre de pics, ce qui signifie que de nouveaux peptides apparaissent. Dans le jour 45, il y a une profusion de peptides hydrophiles (surtout sur le chromatographe de la Figure 26 a), qui semblaient encore enrichir les *Bouhezza*. Les fractions peptidiques après protéolyse peuvent, à leur tour, être métabolisées en acides aminés, ce qui contribue à fournir les propriétés sensorielles spécifiques au fromage.

Enfin, les chromatogrammes montrent la troisième zone qui se situe entre 35 à 80 min où émergent des peptides hydrophobes qui sont tout aussi importants que les hydrophiles (Figure 26 a, b et c). Les nouveaux pics, émergents, représentent de nouveaux peptides, ce qui signifie que la protéolyse continue d'avoir lieu avec enrichissement du fromage par de nouvelles molécules. Ainsi, le processus a continué jusqu'à 60 et 64 j (Figure 26 a, c). Le fromage *Bouhezza* est très riche en peptides et en acides aminés libres, qui gagne pour avoir des caractéristiques organoleptiques particulières. En outre, il sera très riche en substances aromatiques, qui peuvent dériver de la protéolyse.

4.1.3.3. Suivi de la fraction insoluble des caséines par Electrophorèse sur gel Urée-PAGE

Les profils d'Urée PAGE (Figure 27) ont montré deux bandes principales à différentes mobilités électrophorétiques, correspondant aux caséines natives. Le groupe de la caséine à faible mobilité correspond à la caséine β , tandis que celui avec une mobilité supérieure était la caséine α_s (Sousa et Malcata, 1998). Trois peptides à faible mobilité électrophorétique ont été détectés, compte tenu du profil général des caséines. Ceux-ci ont été identifiés dans le fromage *Bouhezza* de vache (Aissaoui Zitoun *et al.*, 2012) et le fromage *Bouhezza* de chèvre (Medjoudj *et al.*, 2017) et par de nombreux auteurs avec β -CN f29-209 (γ_1 CN), β -CN f106-209 (γ_2 CN), β -CN f108-209 (γ_3 CN), en raison de l'action précoce d'enzyme endogènes du lait telle que la plasmine sur la

caséine β . Il est possible que l'intensité décroissante des bandes γ -CN durant l'affinage soit due à leur aptitude à l'hydrolyse (peptidolyse) par des enzymes microbiennes.

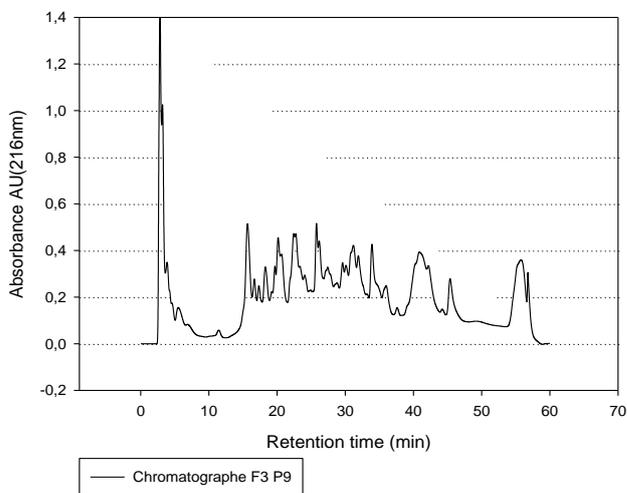
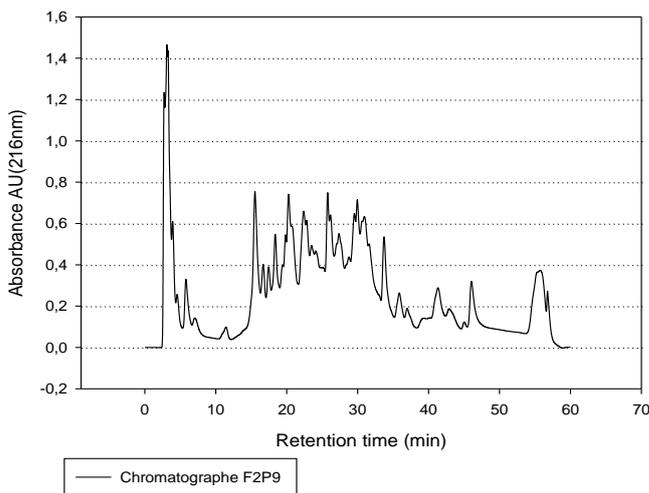
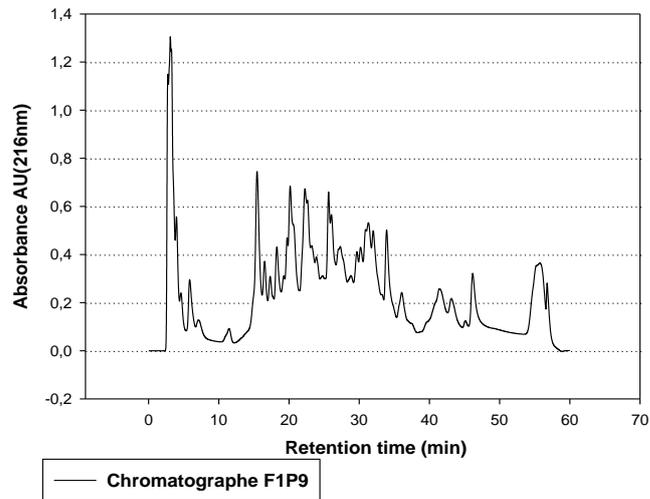
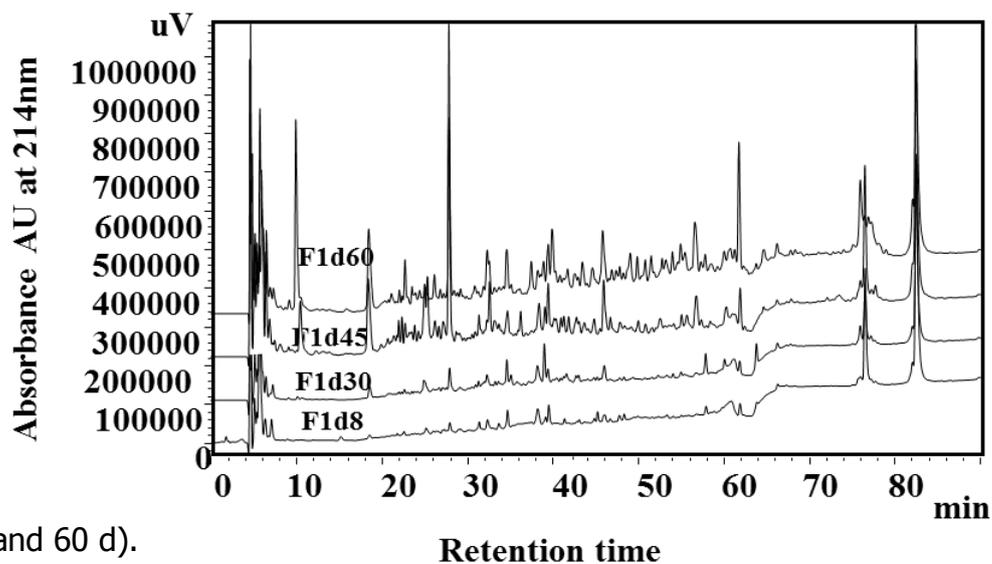
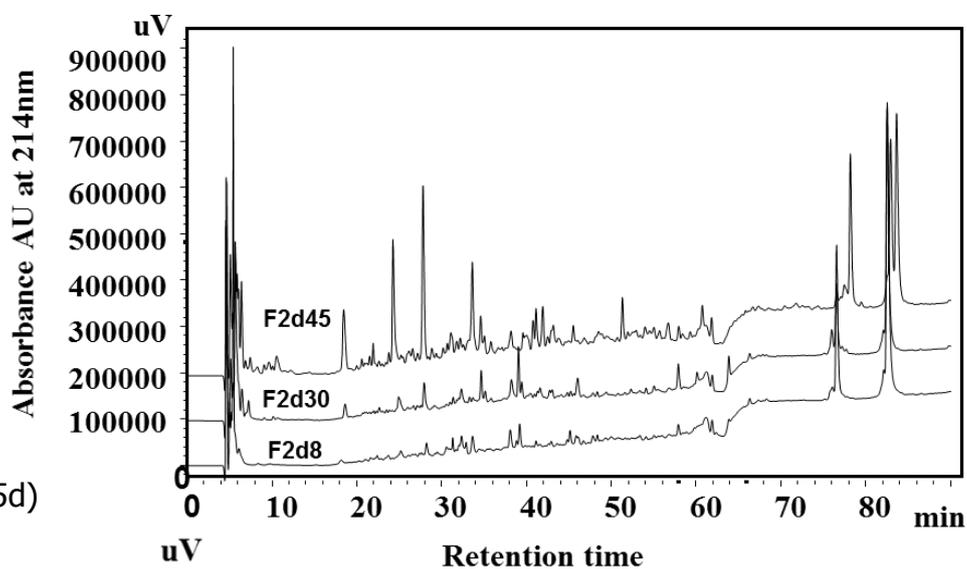


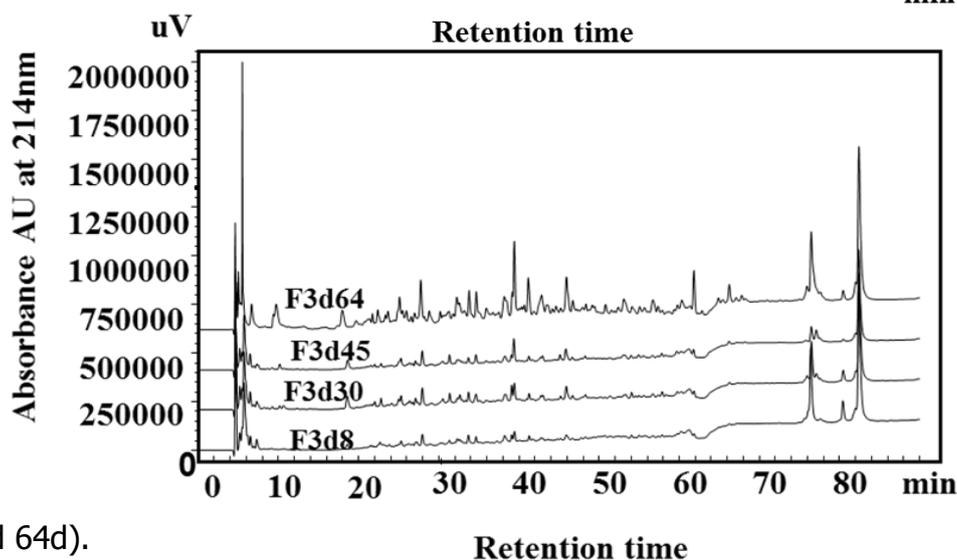
Figure 25. RP-HPLC d'échantillons de fromage *Bouhezza* épicé. De haut en bas: Fabrications 1 et 2 (F1 et F2) du laboratoire pendant 50 jours et fabrication 3 (F3) de la ferme à 72 jours de maturation, montrant le temps de rétention des fractions solubles à pH 4,4 en fonction de l'unité d'absorption à 216 nm.



a. F4 (8, 30, 45 and 60 d).



b. F5 (8, 30 and 45d)



c. F6 (8, 30, 45 and 64d).

Figure 26. Profil RP-HPLC de la fraction d'azote soluble dans l'eau dans fromage Bouhezza au lait cru de chèvre lors de la maturation de F4 (a), F5 (b) et F6 (c). Temps exprimé en min. Signal exprimé en UV 214 nm (unités arbitraires).

Certains peptides qui se sont déplacés plus lentement que γ CN (β f^{**}) ont été détectés à chaque niveau de maturation. **Fallico et al. (2004)** ont rapporté que ces fragments ont probablement été produits à partir du β -CN par l'action de la plasmine ou des protéinases microbiennes avec une activité de type trypsine. Un fragment entre les bandes caséine α_s et caséine β a également été détecté. Ce fragment a été identifié par de nombreux auteurs à α_1 (α_s 80-199)(α_s -PL1) a peut-être été obtenu à partir d'une autre action de la Plasmine sur la caséine (**Addeo et al., 1995**). Cette fraction est apparue dans le fromage *Bouhezza* de chèvre probablement à partir de l'action supplémentaire de la plasmine sur la caséine α_s .

En ce qui concerne les bandes trouvées juste au-dessus de la caséine α_s , elles avaient la même position de la caséine α_s -I (f24-199) et caséine α_s -(f102-199), des fragments produits par l'action de l'activité chymosine sur la caséine α_s (**Mulvihill et Fox, 1979**). La production de α_s -I (f24-199) et α_s -(f102-199) a été positivement liée à l'augmentation de la teneur en sel du fromage, comme l'ont déjà observé d'autres auteurs (**McSweeney et al., 1993 ; Kelly et al., 1996**). Ces fragments sont probablement produits dans notre *Bouhezza* par la cathepsine D qui présente une similitude avec la chymosine. La cathepsine D est la protéinase acide la plus active dans le fromage sur la caséine α_s , stimulée par l'augmentation de la teneur en sel dans le fromage (**Fox et McSweeney, 1997**). Le pH moyen de 3,6 au cours de l'affinage de *Bouhezza* serait favorable à l'action de l'enzyme et les taux de chlorures étaient assez élevés entre 16,6 et 17,2% du début jusqu'à 30 j d'affinage dans les différentes fabrications.

Bien que la fabrication du fromage *Bouhezza* ne renferme pas l'addition de la présure, la détection de ces peptides suggère peut-être l'activité des enzymes de type chymosine qui pourrait être due à une activité enzymatique de la cathepsine D sur les caséines, en particulier la caséine α_1 , qui est très similaire à celle de la chymosine (**McSweeney et al., 1995**).

En comparant tous les profils de fromage dans l'ensemble des fabrications, peu de différences ont été détectées, mais dans la région de la caséine α_s (f^{*-*}), il y a eu plus de bandes dans les échantillons expérimentaux (FH1-FH2) que dans les profils d'échantillons de ferme ni de ceux de vache. En outre, les bandes de caséine du profil de fromage à 30 jours de FH3 ont entraîné une légère différence par rapport aux autres. C'est peut-être dû à l'ajout de *Lben* à ce moment de maturation avec augmentation de la concentration de sel. L'addition du lait cru a permis une activité enzymatique supplémentaire entraînant une augmentation de l'hydrolyse démontrée comme en témoigne par la disparition du peptide positionné juste sous la bande β -CN f106-209 (γ_2 CN).

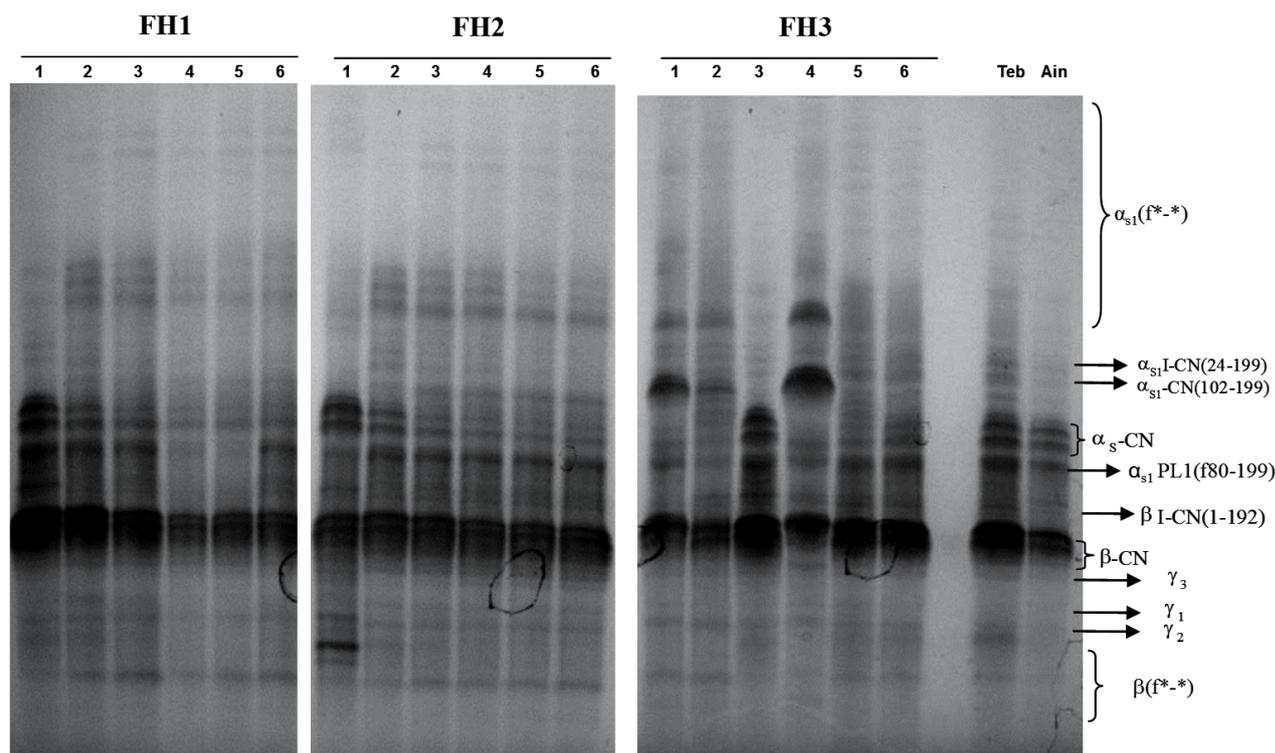


Figure 27. Urée-PAGE de l'azote (N) insoluble à pH 4,4 dans les échantillons de fromage *Bouhezza* fabriqués avec du lait de chèvre issu de deux fromages expérimentaux différents (FH1- FH2) : 1. fromage du 1^{er} jour de maturation, 2. 14j, 3. 28j, 4. 42j, 5. 50j sans piment et 6. 50 j épicé au piment rouge piquant. Les fromages expérimentaux ont été comparés aux échantillons de fromage *Bouhezza* fabriqués avec du lait de chèvre issu de fromage de ferme (fromage FH3 : 1. 1 jour de maturation, 2. 15j, 3. 30j, 4. 45j, 5. 64j non épicé et 6. 72j épicé au piment rouge piquant) et avec deux échantillons de fromage *Bouhezza* > 30j fabriqués avec du lait de vache (Tébessa et Ain-Fakroun, OEB).

La Figure 28 (annexe 3) montre le profil de l'urée-PAGE des fractions insolubles dans l'eau du fromage *Bouhezza* provenant du lait de chèvre. Il a été établi, du poids moléculaire le plus élevé au plus bas ; caséines γ (γ -CN), caséines β (β -CN), caséines α (α -CN) et Pré-caséines α (Pre- α -CN) (Tejada *et al.*, 2008 ; Pino *et al.*, 2009). Ces quatre zones de bandes électrophorétiques ont montré qu'il existe une protéolyse dans la fraction insoluble dans l'eau du fromage. Certaines fractions de peptides de caséines β apparaissent avec une intensité élevée en 8 et 30 jours, et ont diminué aux 45, 64 et 72 jours. Il est probablement dû au clivage de ces peptides avec les enzymes libérées des cellules des bactéries lactiques. Hayaloglu *et al.* (2005) ont également constaté que le fromage sans démarreur avait une concentration légèrement plus élevée de caséines γ en raison de l'activité de la plasmine.

La protéolyse impliquée dans le fromage de chèvre *Bouhezza* comporte deux sources. Les protéinases indigènes du lait ; la plasmine et la cathepsine, avec des enzymes protéinases de la microflore native du lait et des bactéries lactiques non-initiales contribuent à la production de peptides courts et d'acides aminés libres (McSweeney et Fox, 1997 ; Sousa *et al.*, 2001). Aissaoui Zitoun *et al.* (2011) ont signalé les mêmes allégations, où les enzymes indigènes du lait et les

protéinases endogènes apportées par les bactéries indigènes qui sont la source de protéolyse de *Bouhezza* fabriqué avec du lait de vache.

4.1.3.4. Acides aminés libres dans le fromage *Bouhezza*

La Figure 29 représente l'évolution des AAL au cours de l'affinage. Elle montre qu'il y a une augmentation de la teneur en acides aminés libres au cours de la maturation, de 0,24 à 1,10 mg de Leu / g de *Bouhezza* (dans les 8 et 45 jours) et atteint en moyenne 1,04 mg Leu / g de fromage, à 64j d'affinage.

La présence d'AAL dans les échantillons de fromage *Bouhezza* au lait de chèvre est un signe de présence d'une protéolyse poussée au point d'atteindre ces unités moléculaires des protéines qui seraient issus d'une activité enzymatique de peptidase de la flore indigène de LAB qui libérerait ces molécules.

Il est montré que leur concentration augmente avec le temps d'affinage, qui après lyse cellulaire les enzymes sont libérés dans la matrice fromagère pour jouer leur rôle catalytique et donner les AAL qui seraient à leur tour dégradés pour aboutir à des molécules de l'arôme et de la saveur du fromage.

Après les 45 jours, l'ajout de u lait cru à 54^{ème} pour la F4 et F5 et 56^{ème} jour pour la F6, aurait agi sur la libération de ces molécules, il est observé une légère diminution dans cette période dans les trois fabrications. Il est probable que ces molécules seraient transformées à leur tour par le métabolisme des AA en molécules aromatiques, de la flaveur et du gout du fromage.

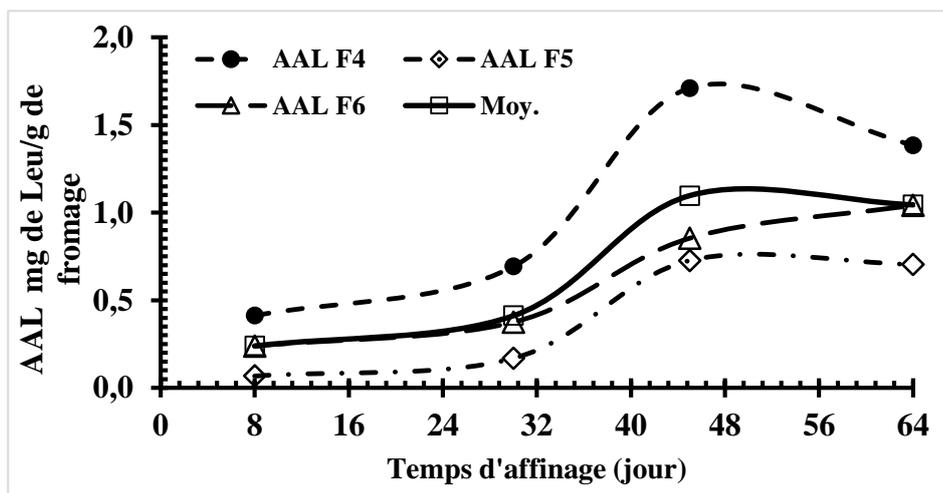


Figure 29. Evolution de la libération des AAL dans *Bouhezza* des fabrications de ferme F4, F5 et F6.

4.3. Suivi de l'évolution de la lipolyse

Les résultats du dosage et de l'extraction de la matière grasse des différentes fabrications sont représentés dans la figure 30. Le taux moyen de la matière grasse des fabrications F7, F8, F9, F10,

F11, F12 et F13 évolue de 4 (8j) à 17, 40 g/100g de fromage à 64j. Il est observé des fluctuations des taux de MG au cours de la fabrication-affinage jusqu'après ajout du lait cru entier ou il y'a augmentation au 45^{ème} jour à 9,77% et atteignant la valeur finale à la huitième semaine (Tableau 29, annexe 3).

La lipolyse dans le fromage est due à l'activité indigène de la lipoprotéine lipase du lait (LPL), aux lipases ou aux estérases des bactéries initiales ou à la microflore native (**Deeth et Fitz -Gerald, 1983, Gripon, 1993**).

Les résultats du taux de lipolyse dans le fromage *Bouhezza* de chèvre commence avec une valeur moyenne faible à 8j avec 2,74%, ensuite il y'a augmentation à 15j à la valeur de 8,29% et continue à augmenter atteignant son maximum après la 3^{ème} semaine à 12,24%. A un mois d'affinage la lipolyse diminue légèrement à 9,11% et continue à régresser jusqu'à la valeur de 5,81% à 56j et enfin une remontée à 8,63% en fin de fabrication dans le fromage épicé à 64j.

Le niveau de lipolyse et son impact sur la qualité du fromage dépendent de la variété du fromage. Il est limité dans les fromages suisses et semi-durs, où un niveau supérieur à 0,25-1,5% (cheddar, selon la qualité commerciale), 1,5% (Gouda), 1% (Emmental) ou 2% (Comté), est considéré comme induisant des défauts d'arôme tels que rancidité (**Choisy et al., 1997**).

En revanche, la lipolyse est beaucoup plus étendue dans certains fromages italiens, mûris (5-20%), bleu-veiné (18-25%) et chèvre, où la lipolyse est essentielle pour la formation typique des arômes. Les résultats de *Bouhezza* de chèvre sont proches de ceux rapportés pour les fromages italiens affinés.

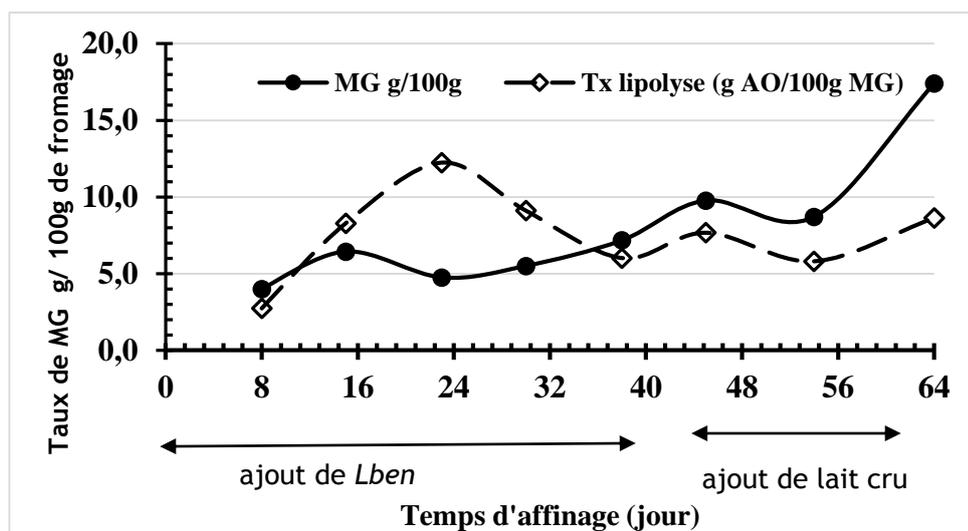


Figure 30. Evolution du taux de MG et de lipolyse dans différentes fabrications de ferme de *Bouhezza* de chèvre au cours de l'affinage

Les différents résultats concernant l'indice d'acidité (IA) dans le fromage *Bouhezza* au lait de chèvre des deux fabrications F12 et F13 sont respectivement compris entre 0,36 ; 0,47 ; 0,20 et 0,15 à 15, 30, 45 et 64j. Pour l'autre fabrication entre 0,27 ; 0,41 ; 0,19 et 0,20. Selon ces résultats l'acidité de la matière grasse dans *Bouhezza* de chèvre augmente au début de fabrication atteignant le maximum à 30 jours d'affinage dans les deux *Bouhezza* et diminuent à 45j pour se stabiliser à des indices d'acide entre 0,15 à 0,20. Ce comportement correspondrait au taux de lipolyse qui s'est élevé à partir de la 3^{ème} semaine libérant probablement les acides carboxyliques qui seraient responsable de cette acidité s'accompagnant d'une légère diminution du taux de matière grasse.

Selon **Molimard et Spinnler (1996)**, les acides gras libres à chaîne longue (plus de 12 atomes de carbone) ont un rôle minime dans la flaveur étant donné leur seuil de perception élevé. Ceux à chaîne courte ou moyenne (4 à 12 atomes de carbone) et à nombre paire d'atomes de carbone ont des seuils de perception beaucoup plus faibles et chacun possède une note caractéristique.

Une analyse des AGL au cours de l'affinage du fromage espagnole *Torta del Casar*, selon **Delgado et al. (2009)**, la plupart AGL ont considérablement augmenté au cours de l'affinage, à l'exception des acides valérique et margarinique. De même pour l'acide acétique qui a augmenté au cours de la maturation et était le plus abondant à la fin. Les acides gras à chaîne courte ont montré une augmentation importante tout au long de la maturation, en particulier l'acide butyrique, acides isovalérique et isobutyrique.

D'après **Mallatou et al. (2003)**, la concentration de l'acide acétique dans des types de fromages *Teleme* augmente rapidement durant la première période de la maturation et de stockage, atteignant ses valeurs maximales à environ 60 jours de maturation.

Un autre fromage d'Espagne à base de lait de chèvre a été analysé, la lipolyse fut traduite par l'augmentation d'une plus grande teneur en acides gras libres à chaîne courte, en particulier butanoïque ; un composant important de la saveur, ce qui donne un goût piquant, goût souhaitable de fromage *Majorero* (**Castillo et al., 2007**).

Les résultats de cette caractérisation restent insuffisants et ne répondent pas aux attentes de nos objectifs. Néanmoins ils orientent sur la présence de certains acides gras libres dont on dispose de leurs témoins. Cependant la technique de la CPG est beaucoup plus adaptée à cette caractérisation et montre avec plus de détails et de précision la présence de tous les AGL se trouvant dans les échantillons de *Bouhezza* de chèvre.

4.3. Dosage des Acides Gras Libres (AGL) par CPG dans *Bouhezza* de chèvre

Le résultat de l'analyse par CPG, sur des échantillons d'âge entre 29 et 42 jours, avant ajout du lait cru et d'autres du produit final après ajouts de lait cru entier (une expérimentale de 50j, une 2^{ème} de ferme de Tébéssa 72j et la 3^{ème} de ferme d'Oum El-Bouaghi 60j). Ces résultats sont présentés dans le tableau 30 (annexe 3) sous forme de moyenne de deux essais \pm standard déviation (écartype) et sous forme d'histogramme exprimant la teneur de chacun des 22 composés identifiés par CPG dans *Bouhezza* de chèvre (Figure 31).

L'analyse de la MG par CPG a permis d'obtenir un profil lipidique des AGL du fromage *Bouhezza* au lait de chèvre, le tableau 30 (annexe 3) montre 22 composés identifiés comme étant des AGL des trois fabrications.

Le nombre des AGS obtenu est de 15 dans toutes les fabrications, dont 10 à nombre pair de carbone et 5 à nombre impair (Tableau 30, annexe 3), avec la somme des proportions comprises entre 68,78 et 76,77%. Celui des AGI est de 7 avec des teneurs totales comprises entre 23,18 et 34,24% dont 5 à nombre pair et 2 à nombre impair de carbone. Ces AGI diminuent entre 42 et 50j de la F1 et de 29 à 60J dans la F7, c'est probablement dû à la lipolyse qui a lieu en continue au cours de l'affinage. Cependant, ils restent inchangés de 38 à 72j dans la F4.

La présence d'acides gras spéciaux à nombre impair de carbones est à signaler, tels que le C11 et C13 avec des proportions inférieures à 0,3%, le C15 et C17 avec des proportions comprises entre 1,03 à 1,40% et 0,84 à 1,32 % respectivement dans les échantillons avant ajout de lait cru et ceux du produit fini. Le C15 :1 et C17 :1 ont des teneurs moindres, de 0,14 à 0,36% pour les deux AGI. Le C21 est présent avec des proportions comprises entre 0,49 à 0,61%.

Parmi l'ensemble des AGL dans les 3 fabrications se trouve 4 AGL à courte chaîne ; C4, C6, C8 et C10 qui sont respectivement les acides ; butyrique, caproïque, caprylique et caprique. Le 2^{ème} groupe est celui de 7 AGL à chaîne moyenne de carbone, de C11 à C15' composé des acides undecyclique (C11), laurique (C12), tridecyclique (C13), myristique (C14) et myristénique (ou myristoléique) (C14)', pentadecyclique (C15) et (C15)' et enfin 11 AGL à longue chaîne de carbone de C16 à C22 qui sont l'acide palmitique (C16), palmitoléique (C16)', margarique (C17) et (C17)', stéarique (C18), oléique (C18)', linoléique (C18)'', linoléinique (C18)''', arachidonique (C20), hénécicosanoïque C21 et béhénique (C22).

Les niveaux élevés des principaux AGL trouvés dans nos échantillons de fromage *Bouhezza* de chèvre sont respectivement le C16 (acide palmitique) avec la plus forte concentration 31,77% suivi par C18 : 1 (acide oléique) et le C 18 (acide stéarique) durant les fabrications, expérimentales et de ferme (F1, F4 et F7).

Ensuite, arrivent le C14 (acide myristique) et le C10 (acide caprique) avec 6,5 à 9,13% suivis de C18 : 2 (acide linoléique) avec une valeur maximale de 5,45% dans l'échantillon de 50j et minimale 2,05% dans celui de 60j de la F7. Puis le laurique (C12) avec des concentrations plus ou moins stable inférieures à 5% (3,08% à 42j F1 et 4,25% à 60j dans F7), dans les différents échantillons au cours de l'affinage et dans le fromage affiné.

Parmi les AGL à chaîne courte, l'acide caprique (C10) a le niveau le plus élevé, le second est C8 (caprylique), C6 (caproïque) et finalement le C4 (butyrique) qui est le plus faible.

L'acide butyrique C4 augmente entre les échantillons de moins de 45jours et ceux du fromage affiné épicié au piment rouge des 3 fabrications-affinage, avec des proportions comprises entre de 0,80% (F1 42j) et 4,62% (à 60 j de F7). Ceci est probablement dû à la dégradation de la matière grasse au cours du temps par voie de lipolyse, par les enzymes bactérienne des acides gras à plus longue chaîne pour aboutir à l'acide butyrique (C4). Le C6 et le C8 augmentent légèrement après ajout de lait cru (alors que dans d'autres productions il y'a diminution de ces acide gras soit par dégradation de celui-ci au cours de l'affinage ou qu'il soit utilisé par des bactéries lactiques (résultats non montrés)). Malgré ces observations les changements restent minimes et au seuil de 5 et 1%, aucune différence significative n'est montrée par les tests statistiques ($p > 0,05$ et $p > 0,01$) entre les échantillons d'avant ajout du lait ru et ceux du produit fini.

Le comportement observé par le C18' dans F1 et F7 diminue et C18'' a augmenté entre l'échantillon au cours de la fabrication et celui du produit fini de la F1 expérimentale et resté stable dans la F4 et F7. Ceci peut être dû à l'ajout de la matière première et parfois des diminutions observées sont dues à la dégradation de ces AGL qui sont sujets à la lipolyse qui se déroule au cours du processus de l'affinage du fromage. L'acide myristique (C14), palmitique (C16) et stéarique (C18) sont restés inchangés au cours de la maturation et dans le produit fini.

Les AGL les plus abondants chez les fromages affinés de Teleme à base de lait de chèvre étaient les acides palmitique et oléique (**Mallatou et al., 2003**). Le principal AGL observé par **Türkoğlu (2011)**, chez les fromages Örgü au lait cru et pasteurisé lors de la maturation, étaient les acides palmitique, oléique, myristique, stérique et caprique, représentant ensemble environ 82% du contenu total des AGL. Les valeurs d'acide butyrique (C4), caproïque (C6), caprylique (C8), caprique (C10) et laurique (C12) de ces fromages Örgü augmentent pendant la maturation. Cependant, les contenants des acides ; myristique (C14), palmitique (C16), stérique (C18), oléique (C18 : 1) et linoléique (C18 : 2) du fromage au lait pasteurisé sont restés constants ($P > 0,05$).

Selon **Kalit Tudor et al. (2010)**, la lipolyse dans le fromage Tulum a montré que les plus abondants des AGL sont C16 : 0 et C18 : 1 avec augmentation entre 30 et 60 jour d'affinage

respectivement pour les 2 AG. Bien que les acides gras à chaîne courte constituent la faible proportion du total des AGL, ils contribuent de manière importante à la saveur typique et à l'arôme du fromage Tulum (Yilmaz *et al.*, 2005 cités par Kalit Tudor *et al.*, 2010).

Ce qui ressort de nos résultats est la libération des AGL à chaîne courte qui contribuent à enrichir le *Bouhezza* de ses propriétés sensorielles et aromatiques avec développement final de la saveur et de l'arôme du fromage. Ces AGL avec des valeurs comprises entre 9,74 et 13,39% avant la fin de maturation augmentent pour atteindre des niveaux plus élevés dans le fromage affiné, avec 12,99 à 50 j, 14,6% à 72 j et la plus élevée 19,4% est dans l'échantillon de F7 d'Oum El-Bouaghi de 60j. Ceux à moyenne chaîne de carbone sont stables durant l'affinage et se situent entre 13,31% dans F1 à 42j qui augmente à 50j à 15,6% et la valeur la plus élevée est de 16,5% dans F7 à 29 et 60j. La somme des AGL à longue chaîne de carbone reste inchangée durant l'affinage et dans les fromages affinés des 3 fabrications expérimentales et de ferme, excepté celle de ferme F7 où il est observé une légère diminution de 73,82 à 64,11% dans le produit fini.

5. Caractéristiques sensorielles et profil aromatique du fromage *Bouhezza*

5.1. Analyse sensorielle et descripteurs sensoriels du fromage *Bouhezza*

La **description sensorielle** des caractéristiques de *Bouhezza* de chèvre non épicé, ont été selon les dix sujets comme ayant un **aspect** d'une pâte de couleur blanche (10 sujet), et **une texture** tartinable et collante (6 sujets), ferme (5 sujets), lisse et onctueuse (2 sujets). Le *Bouhezza* de vache a une pâte de couleur crème blanche (8 sujets), sableuse et grumeleuse (5 sujets), onctueuse et ferme (3 sujets).

La **consistance de la pâte** de *Bouhezza* au lait de chèvre est moyenne avec une note moyenne de $4,4 \pm 1,13$. *Bouhezza* au lait de vache est d'une consistance légère de $3,2 \pm 1,2$.

Les résultats sont proches au résultat de **Benmessai et Fethallah (2009)** pour la consistance de la pâte qui est de $4,3 \pm 1,38$ pour *Bouhezza* de chèvre et $4,09 \pm 1,04$ pour *Bouhezza* de vache.

L'odeur est moyenne avec une note de $4,1 \pm 1,28$ pour le *Bouhezza* au lait de chèvre. Celle de *Bouhezza* au lait de vache est d'une note $5,4 \pm 1,3$. Les résultats sont différents de ceux de **Benmessai et Fethallah (2009)** sur l'odeur qui est de $4,9 \pm 1,52$ pour *Bouhezza* de chèvre et $4,7 \pm 0,82$ pour *Bouhezza* de vache.

Les sujets ont noté 2 familles d'odeurs : lactique et animal pour les deux fromages *Bouhezza* non épicé de chèvre et de vache. Selon les dégustateurs, *Bouhezza* de chèvre a une intensité d'odeur lactique fraîche plus forte que *Bouhezza* de vache par contre l'intensité d'odeur animale est plus faible dans *Bouhezza* de chèvre que dans *Bouhezza* de vache.

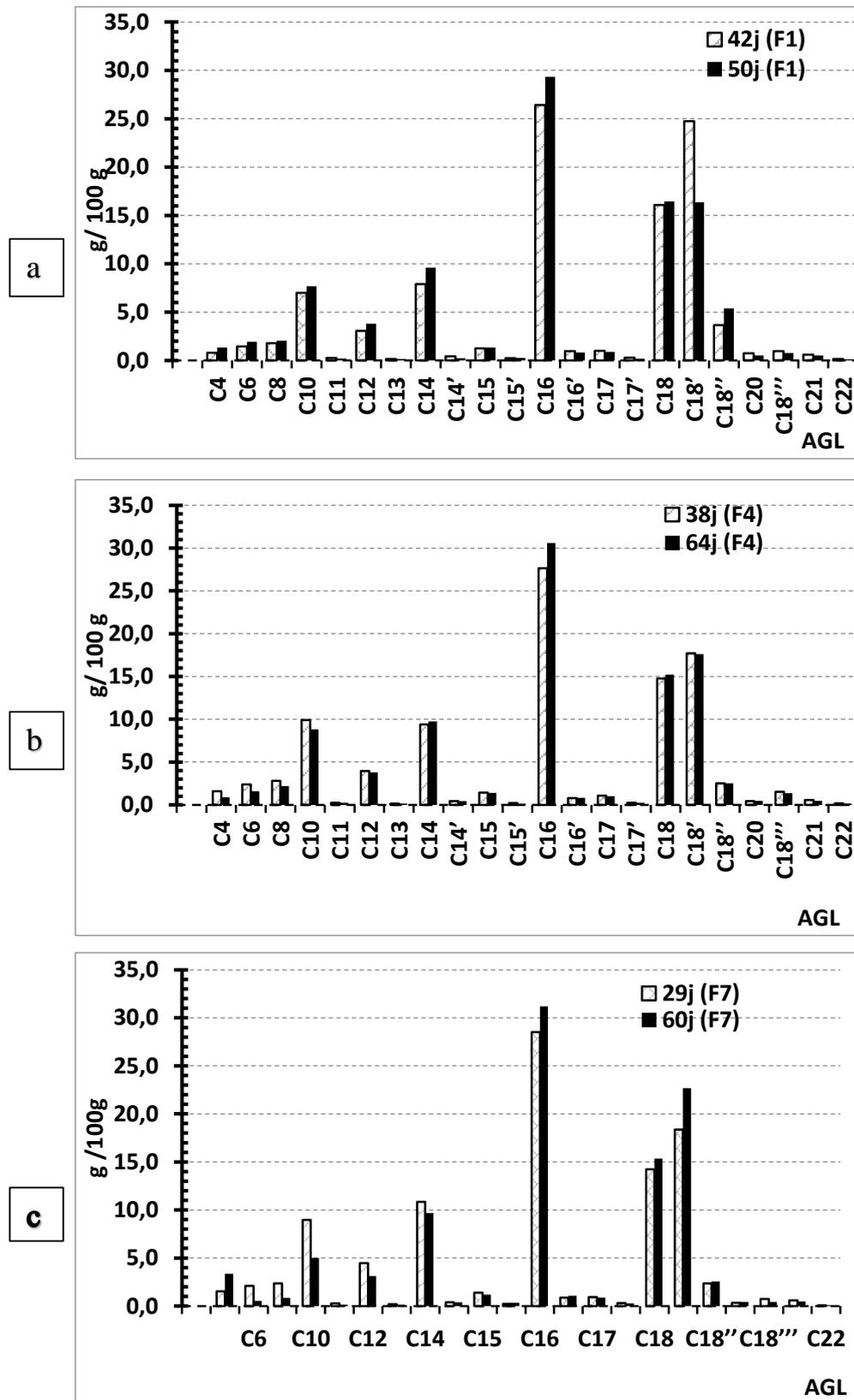


Figure 31. Histogramme représentant les proportions des différentes AGL trouvés dans les échantillons de Bouhezza de chèvre avant et après ajout de lait cru ; **a**-Fabrication expérimentale (F1), et de ferme **b**- de Tébessa (F4) et **c**- d'Oum El-Bouaghi (F7).

L'intensité de l'arôme du *Bouhezza* de chèvre est moyenne avec une note moyenne de $4,2 \pm 1,19$, alors que celle du lait de vache ($5 \pm 1,52$).

Les dégustateurs déclarent que parmi les **familles d'arôme** ; les principales odeurs sont **lactiques et animale**. Les familles d'odeur les plus prononcées sont lactique frais (10/10) mais l'intensité d'arôme de *Bouhezza* du lait de vache est plus forte que celle du *Bouhezza* de lait de chèvre.

Les résultats de l'évaluation des saveurs et des sensations trigéminales, sur l'intensité de la saveur salée ou acide et la sensation trigéminale, sont présentés dans la figure 32.

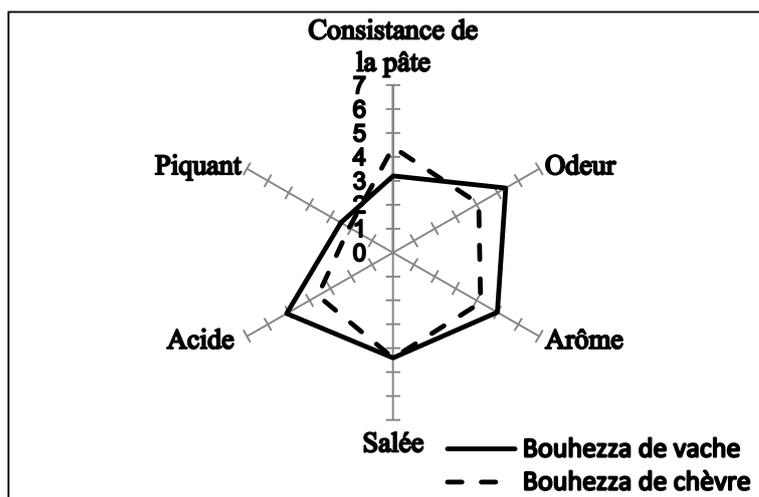


Figure 32. Description sensorielle du *Bouhezza* de vache et de chèvre non épicé.

La même salinité est observée dans *Bouhezza* de lait de chèvre ($4,4 \pm 1,17$) et de lait de vache ($4,4 \pm 1,07$). Par contre *Bouhezza* de lait de vache a une acidité plus forte ($5,1 \pm 1,06$) que celui du lait de chèvre ($3,6 \pm 1,42$). La différence entre les deux fromages par rapport à l'arrière-goût $4,6 \pm 1,15$ (chèvre) et $4,3 \pm 1,63$ (vache) et la sensation piquant $2,1 \pm 1,53$ (chèvre) et $2,5 \pm 1,64$ (vache) est moins importante. A noter que la saveur salée ou acide ont été comparées avec la note de l'échantillon témoin avec la note 2 à 6.

L'évaluation de la persistance globale, à la fin de l'épreuve 07 sujets ont déclaré que le fromage *Bouhezza* au lait de chèvre est agréable, 04 sujets très typique et 03 sujets, intense en goût et riche en arôme, d'après les dégustateurs il est persistant dans la bouche après 20 seconde ($4,5 \pm 1,15$). Pour *Bouhezza* de lait de vache, 08 sujets ont déclaré que ce fromage est intense en goût, 05 sujets, agréable et 03 sujets, très typique et riche en arôme, le fromage a une persistance dans la bouche après 15 seconde ($4 \pm 0,94$).

En conclusion le profil sensoriel du fromage *Bouhezza* selon les caractéristiques ; consistance de la pâte, intensité d'odeur, intensité d'arôme, le caractère piquant, acidité, et salinité sont illustrés dans la Figure 32. Selon cette Figure *Bouhezza* est un fromage salé, intense en odeur et en arôme.

C'est une pâte molle, de forte à moyenne acidité. Le résultat de l'analyse sensorielle est proche du résultat de **Benmessai et Fethallah (2009)**.

5.2. Dosage et détermination des substances aromatique et volatiles par GC-MS

C'est la première étude sur les composés de profil aromatique sur le fromage traditionnel algérien de chèvre *Bouhezza*. Cependant, certains des composants trouvés, qui sont responsables de l'arôme particulier et typique d'un fromage de chèvre, ont été rapportés dans d'autres variétés.

Les composés volatiles trouvés dans les échantillons de fromage traditionnel algérien *Bouhezza* préparé au lait cru de chèvre sont au nombre de 109, divisés en sept classes de produits. Les concentrations relatives de composés aromatiques ont donné les 7 groupes de substances volatiles dont, 34 esters, 14 acides carboxyliques, 16 alcools, 9 composés cétoniques, 8 aldéhydes, 21 terpènes et 13 composés aromatiques divers, sont présentés dans les tableaux 30 à 36. Ils ont été déterminés par analyse avec la chromatographie phase gaz associé à la spectrométrie de masse (GC/MS).

Dans les fromages à base de lait cru, un microbiota diversifié composé de LAB adventice (**Cogan et al., 1997**), mais aussi de bactéries autres que le LAB, les levures et les moisissures, contribue à leurs caractéristiques sensorielles distinctes. Afin de maintenir les caractéristiques traditionnelles de ces variétés de fromage, il est nécessaire de préserver la diversité biologique impliquée dans le processus de maturation des fromages au lait de brebis et de chèvre, en utilisant des démarreurs lactiques autochtones et des cultures de moisissures dans leur fabrication (**Medina et Nuñez (2004)**).

Les principales voies pour la formation de composés de la saveur des fromages sont la glycolyse, la lipolyse et la protéolyse. Les voies biochimiques de la formation d'acides carboxyliques : la protéolyse (dégradation des peptides de la caséine et des acides aminés libres, et le catabolisme ultérieur des acides aminés) ; la lipolyse est en majorité due à l'action de la lipase du lait cru naturel par hydrolyse des glycérides (formation d'acides gras par hydrolyse des triglycérides) et ; la glycolyse qui entraîne la dégradation du lactose par les enzymes microbiennes. Le lactate est converti en acide acétique et acide propanoïque (fermentation du lactose au lactate puis formation d'acide acétique et d'acide propanoïque) (**Molimard et Spinnler, 1996 ; McSweeney and Sousa, 2000**). **Castillo et al. (2007) et Bontinis et al. (2012)**, ont rapporté les mêmes allégations concernant l'origine métabolique des acides carboxyliques et les voies biochimiques menant à ces composés.

Les composés les plus puissants et les plus importants de la saveur dans les fromages sont les aldéhydes, les alcools, les acides carboxyliques et les esters dérivés carboxyliques des acides aminés ; méthionine, phénylalanine, thréonine et acides aminés à chaîne ramifiée (**Smit et al., 2005**).

L'analyse par GC/MS a permis d'identifier un nombre important de composés aromatiques dans *Bouhezza* préparé au lait cru de chèvre. Les substances aromatiques identifiées ont été groupées en diverses classes qui permettent de donner la flaveur, la saveur et le goût caractéristique de *Bouhezza*. Les Esters sont les plus importants en nombre, ils sont obtenus par lipolyse, au nombre de plus de 30 composés.

Esters

Les esters dans le fromage sont formés par l'estérification d'acides gras libres à chaîne courte avec de l'éthanol (**Bontinis et al., 2012**). Cette estérification d'acides carboxyliques et d'alcools est probablement postérieure à l'activité enzymatique estérase de bactéries lactiques, comme l'ont rapporté certains auteurs (**Liu et al., 2004; Holland et al., 2005** cités par **Hayaloglu et al., 2013**), qui sont situés dans les fromages et contribuent à l'affinage en donnant des propriétés aromatiques du fromage.

La majeure partie des esters trouvés dans le fromage *Bouhezza* sont des esters d'acides carboxyliques (acides gras à chaîne courte), leur nombre est assez important par rapport à l'ensemble des composés volatils. Les esters éthyliques sont plus importants que les esters méthyliques, les esters propyliques ou les esters butyliques (Tableau 32). Les mêmes résultats ont été obtenus par **Castillo et al. (2007)** où les esters prédominants du fromage de chèvre Majorero Espagnole étaient des esters éthyliques.

En raison de l'origine microbienne des esters, leurs niveaux ont été augmentés à la fin de la maturation, en particulier l'ester éthylique et butylique de l'acide hexanoïque ainsi que l'ester éthylique décanoïque (**Bontinis et al., 2012**). Les mêmes résultats sont observés dans nos échantillons, où les niveaux d'ester éthylique d'acétate, de butanoate, d'hexanoate, d'octanoate et de décanoate sont plus élevés à la fin de la maturation du fromage *Bouhezza*.

Les esters contribuent de manière importante à la saveur de nombreux fromages, même à de faibles concentrations en raison de leur forte volatilité à température ambiante (**Bontinis et al., 2012**). L'importance des esters réside dans leur faible perception par les consommateurs et leurs notes fruitées et florales dans le fromage (**Molimard et Spinnler, 1996**). **Nardi et al. (2002)**, dans leur étude sur l'activité enzymatique, les estérases des *Lactococcus* sur la production d'esters dans les

Tableau 32. Esters (moyenne \pm sd, $\mu\text{g/L}$ de *Lben* et $\mu\text{g/Kg}$ de fromage) dans le *Lben* du lait de chèvre utilisé dans la fabrication et dans le fromage *Bouhezza*.

Esters	RI	<i>Lben</i>	30j	50j	72j	<i>Bouh</i> vache.
Methyl acetate	773	0,19 \pm 0,19	0,15 \pm 0,15	2,39 \pm 1,55	2,58 \pm 2,58	ND
Ethyl Acetate	838	4,67 \pm 1,25	59,53 \pm 43,76	2,43 \pm 1,40	20,81 \pm 13,33	12,42 \pm 0,39
Ethyl propanoate	915	ND	7,47 \pm 6,67	ND	0,19 \pm 0,19	0,31 \pm 0,03
Methyl butyrate	960	ND	0,08 \pm 0,08	0,54 \pm 0,06	1,52 \pm 0,54	0,58 \pm 0,03
Acetic acid, 2-methylpropyl ester	1000	ND	0,09 \pm 0,09	ND	ND	0,15 \pm 0,15
Ethyl butanoate	1028	4,65 \pm 1,84	10,62 \pm 0,46	2,99 \pm 0,37	65,95 \pm 37,44	14,13 \pm 0,93
Ethyl pentanoate	1085	0,13 \pm 0,13	0,50 \pm 0,24	ND	2,18 \pm 0,60	1,04 \pm 0,09
Isoamyl acetate	1112	ND	2,40 \pm 0,75	5,11 \pm 1,83	1,40 \pm 0,91	4,74 \pm 1,66
2-Methylpropyl butanoate	1136	ND	0,36 \pm 0,001	0,60 \pm 0,60	0,35 \pm 0,35	2,11 \pm 0,44
Methyl hexanoate	1167	ND	0,20 \pm 0,20	4,67 \pm 2,31	7,10 \pm 2,74	7,06 \pm 0,77
Butyl butanoate	1220	0,08 \pm 0,08	0,10 \pm 0,10	0,06 \pm 0,06	ND	0,07 \pm 0,07
Ethyl hexanoate	1205	14,97 \pm 3,78	15,77 \pm 9,54	18,45 \pm 2,66	345,87 \pm 215,51	71,20 \pm 10,62
3-Methylbutyl butanoate	1247	0,27 \pm 0,27	0,33 \pm 0,04	7,09 \pm 0,83	8,75 \pm 5,29	3,42 \pm 0,42
Hexyl 2-butenoate	1202	ND	ND	0,07 \pm 0,07	ND	0,09 \pm 0,09
Pentyl 2-methylpentanoate	1284	0,26 \pm 0,26	2,10 \pm 2,10	ND	0,93 \pm 0,93	ND
Hexanoic acid, 1,1-dimethylpropyl ester	1285	1,25 \pm 0,83	4,59 \pm 2,67	2,30 \pm 1,05	6,41 \pm 0,15	10,33 \pm 2,18
Ethyl heptanoate	1316	0,33 \pm 0,33	0,47 \pm 0,47	0,06 \pm 0,06	13,56 \pm 8,51	2,02 \pm 0,35
Propyl hexanoate	1320	ND	0,23 \pm 0,23	1,94 \pm 0,38	5,49 \pm 4,26	0,19 \pm 0,19
2-Methylpropyl hexanoate	1337	0,08 \pm 0,08	ND	0,40 \pm 0,19	2,05 \pm 1,02	1,39 \pm 1,39
Ethyl lactate	1342	ND	0,27 \pm 0,03	ND	2,29 \pm 2,29	5,62 \pm 0,35
Methyl octanoate	1376	ND	0,08 \pm 0,08	2,35 \pm 0,83	25,73 \pm 12,95	5,50 \pm 0,98
Ethyl octanoate	1423	15,83 \pm 2,53	23,44 \pm 4,55	25,33 \pm 2,96	625,37 \pm 409,76	50,20 \pm 8,97
Ethyl decanoate	1626	8,12 \pm 4,02	16,24 \pm 4,02	19,33 \pm 1,27	594,72 \pm 388,8	24,90 \pm 3,26
Isopentyl hexanoate	1446	0,23 \pm 0,03	0,18 \pm 0,03	2,47 \pm 0,96	2,06 \pm 2,06	2,21 \pm 0,40
Propyl octanoate	1508	ND	ND	1,09 \pm 0,65	3,43 \pm 2,25	ND
Ethyl nonanoate	1525	ND	0,49 \pm 0,49	ND	17,74 \pm 11,93	1,72 \pm 0,30
2-Methylpropyl octanoate	1540	ND	ND	0,10 \pm 0,10	1,47 \pm 0,58	0,62 \pm 0,07
Methyl decanoate	1583	ND	ND	1,86 \pm 0,23	22,44 \pm 13,47	2,20 \pm 0,35
Ethyl 9-decenoate	1694	ND	0,22 \pm 0,22	1,28 \pm 0,81	24,77 \pm 16,97	5,52 \pm 0,58
Propyl decanoate	1720	ND	ND	0,40 \pm 0,09	2,99 \pm 2,25	ND
2-Phenethyl acetate	1814	0,90 \pm 0,37	15,57 \pm 11,04	27,35 \pm 4,94	72,97 \pm 51,68	27,76 \pm 2,28
Ethyl dodecanoate	1830	ND	1,08 \pm 0,48	0,38 \pm 0,21	67,54 \pm 47,10	4,36 \pm 0,37
3-Methylbutyl decanoate	1864	ND	ND	0,43 \pm 0,43	0,35 \pm 0,35	ND
Phenethyl propionate	1880	ND	ND	1,91 \pm 0,23	5,11 \pm 3,99	0,27 \pm 0,01
Total		51,96\pm1,07	162,56\pm3,40	133,38\pm0,97	1954,12\pm40,67	262,13\pm1,30

RI : Indice de rétention, Bouh.: *Bouhezza*, ND : non déterminé

fromages jugent que les esters aux acides gras à chaîne courte et aux alcools sont significativement associés à la consommation d'acides gras. Ils concluent que, dans des conditions

environnementales favorables, l'estérase de *L. lactis* est responsable de l'activité principale de la synthèse d'ester, même si une autre voie pour la synthèse de l'ester existe probablement.

La plupart des esters ont des notes florales, fruitées (faible quantité) et des notes de levures (quantité élevée) et peuvent contribuer à l'arôme du fromage en minimisant la netteté des acides gras et l'amertume des amines (**Bontinis et al., 2012**). Le descriptif d'odeur fruité est signalé pour les esters éthyliques de l'acide hexanoïque, octanoïque, décanoïque et dodécanoïque par **Poveda et al. (2008)** dans leur étude de la composition volatile, du profil olfactométrique et de l'évaluation sensorielle dans les fromages de chèvre espagnols semi durs.

L'acétate d'éthyle, le butanoate d'éthyle, l'hexanoate d'éthyle, l'octanoate d'éthyle et le décanoate d'éthyle et l'acétate de 2-phényle sont présents dans le *Lben* et dans tous les échantillons de 30, 50 et 72 jours de fabrication. Ils augmentent au cours de la maturation jusqu'à 30 jours, puis il y a une diminution et une augmentation jusqu'à 9 semaines de fabrication-raffinage. A ce stade il existe une proportion élevée d'esters, les plus importants découverts dans le fromage de chèvre, à savoir les esters éthyliques hexanoates, octanoates, décanoates. Cette présence a été rapportée par **Hayaloglu et al. (2013)** dans les fromages turcs au lait de chèvre, Gokceada et Saanen et par d'autres auteurs (**Moio et Addeo, 1998 ; McSweeney and Sousa, 2000 ; Ortigos et al., 2005 ; Bontinis et al., 2008**). Les concentrations de ces composés dans le fromage de chèvre *Bouhezza* sont plus élevées que celles trouvées dans l'échantillon de fromage *Bouhezza* au lait de vache avec un âge supérieur à 30 jours et également supérieures à celles rapportées par **Aissaoui Zitoun (2014)** dans le fromage *Bouhezza* au lait de vache à 75j.

L'acétate, un composé aromatique important dans de nombreux fromages, en plus d'être formé à partir de lactose par des bactéries lactiques (LAB) peut également être formé à la suite du métabolisme du citrate et du lactate ou comme produit du catabolisme des acides aminés (**McSweeney and Sousa, 2000**).

Acides carboxyliques

Dans les fromages au lait de chèvre, les acides carboxyliques ont été trouvés aux concentrations élevées (tableau 32), comme l'ont rapporté d'autres travaux sur le fromage de lait de chèvre (lait cru ou pasteurisé) (**Hayaloglu et al., 2013 ; Castillo et al., 2007 ; Carunchia Whetstine et al., 2003; Bontinis et al., 2012; Ramos do E. Queiroga et al., 2013**).

Le tableau 32 montre que l'acide acétique (59,93 µg / L), l'hexanoïque (51,51 µg / L), l'octanoïque (111,15 µg / L) et le décanoïque (60,10 µg / L) sont le contenu le plus important dans le *Lben* par rapport aux autres acides carboxyliques. L'acide butyrique a une teneur supérieure (7,82 µg / L) à d'autres acides mais il reste en dessous des 4 acides mentionnés ci-dessus.

Dans le fromage, une augmentation est observée à 30 jours de la maturation, parmi les acides de C2 à C6 et plus ou moins stable de C8-C10. À 50 jours, l'augmentation des niveaux est très importante parmi tous les acides carboxyliques, allant de 3 à plus de 20 fois celle de 30 jours, ils sont les plus abondants. Une augmentation des cinq acides principaux à une proportion élevée à 72 jours comme à 50 jours ; pour les acides acétique, butanoïque, hexanoïque, octanoïque et décanoïque. Parmi ces acides, l'acide hexanoïque présente le niveau élevé à tous les stades de la maturation, suivi de l'acide octanoïque, de l'acide décanoïque, de l'acide butanoïque et de l'acide acétique. Ces acides représentent les acides spécifiques fondés dans beaucoup de fromages de chèvre fabriqués avec du lait cru ou pasteurisé. Des résultats similaires ont été obtenus par **Hayaloglu et al. (2013)**, pour les acides ; acétique, décanoïque, hexanoïque et octanoïque étaient les plus abondants dans les fromages, surtout après 90 jours de maturation. L'augmentation de l'acide hexanoïque, formé par la lipolyse et qui contribue à l'odeur de chèvre, a été notée dans les fromages de Gokceada pendant la maturation (**Hayaloglu et al., 2013**). L'acide acétique était le plus abondant dans un autre fromage au lait de chèvre, Xinotyri (**Bontinis et al., 2012**). Un goût typique de chèvre aromatique, en particulier parmi les acides gras libres linéaires ou ramifiés de la chaîne résultant de la lipolyse, tels que : hexanoïque (C6), octanoïque (C8), décanoïque (C10); le C8 avait la plus forte proportion suivie des C6 et C10. Les heptanoïques (C7) et (C9) ont également une proportion significative également à 31 jours de maturation du fromage de chèvre doux (**Le Quéré et al., 1998**).

Dans le fromage *Bouhezza* au lait de vache, les mêmes acides étaient présents avec des niveaux inférieurs et l'ordre était hexanoïque suivi d'éthanoïque (acétique), d'octanoïque, de butanoïque et de décanoïque à faible concentration. Le contenu des AG à chaîne courte a eu un impact significatif sur le développement de l'arôme caractéristique du fromage Darfiyeh, les concentrations C6: 0, C8: 0, C10: 0 et C12: 0 dans deux productions A et B étaient significativement plus élevées pendant la maturation (**Serhan et al., 2010**).

Cette élévation est probablement due à la contribution de la graisse par l'ajout de lait cru lors de la fabrication de *Bouhezza* à partir de la sixième semaine. Une augmentation est observée à 72 jours d'affinage presque aussi large que celle de 50 jours (Tableau 33).

Les acides carboxyliques ont été testés pour leur arôme spécifique et la saveur typique du fromage de chèvre a été associée notamment au 4-méthyl octanoïque et au 4-éthyl octanoïque. Il a été constaté que le niveau de ces composés dans la fraction volatile du fromage était supérieur à leur valeur seuil olfactive. Ainsi, il a été conclu qu'ils participent à la saveur des fromages de chèvre (**Le Quéré et al., 1998**).

Tableau 33. Acides Carboxyliques (moyenne \pm sd, $\mu\text{g/L}$ de *Lben* et $\mu\text{g/ Kg}$ de fromage) dans le *Lben* du lait de chèvre utilisé dans la fabrication et dans le fromage *Bouhezza*.

Acides carboxyliques	RI	<i>Lben</i>	30j	50j	72j	<i>Bouh.</i> vache
Acetic acid	1439	59,93 \pm 3,76	99,14 \pm 47,34	363,95 \pm 123,20	606,30 \pm 70,42	590,33 \pm 380,26
Propanoic acid	1541	ND	0,60 \pm 0,60	661,97 \pm 311,01	49,59 \pm 6,10	8,27 \pm 6,15
2-Methy-1-propanoic acid	1551	ND	3,16 \pm 1,95	336,18 \pm 178,93	321,56 \pm 239,29	68,20 \pm 52,84
Butanoic acid	1609	7,82 \pm 1,72	30,96 \pm 10,36	1420,52 \pm 728,98	778,92 \pm 3,37	385,22 \pm 296,03
3-Methyl butanoic acid	1652	0,48 \pm 0,48	5,28 \pm 3,26	ND	67,52 \pm 67,52	51,08 \pm 39,17
Pentanoic acid (CAS)	1653	0,26 \pm 0,26	0,63 \pm 0,24	1533,34 \pm 837,25	1071,93 \pm 802,76	ND
Valeric acid						
Hexanoic acid	1825	51,51 \pm 6,84	108,65 \pm 41,43	2614,67 \pm 1396,85	2063,71 \pm 135,20	1038,23 \pm 796,82
Heptanoic acid	1930	1,87 \pm 0,07	2,13 \pm 0,99	39,95 \pm 21,59	67,25 \pm 1,65	10,79 \pm 8,55
Octanoic acid	2034	111,15 \pm 4,71	87,04 \pm 37,95	1727,88 \pm 878,06	1660,31 \pm 89,54	570,71 \pm 441,18
Nonanoic acid	2133	ND	1,94 \pm 0,63	13,74 \pm 13,74	30,30 \pm 2,52	7,54 \pm 5,76
Decanoic acid	2229	60,10 \pm 20,17	62,88 \pm 34,05	1012,68 \pm 520,18	1054,18 \pm 40,83	221,36 \pm 167,42
Dec-9-enoic acid	2286	1,45 \pm 0,61	0,57 \pm 0,57	19,80 \pm 12,11	27,19 \pm 2,26	22,95 \pm 17,87
Benzoic Acid	2409	ND	20,80 \pm 14,11	62,60 \pm 26,57	33,63 \pm 10,64	4,14 \pm 4,14
Dodecanoic acid	2437	3,32 \pm 0,87	4,88 \pm 3,86	54,66 \pm 24,85	73,83 \pm 14,84	23,34 \pm 16,59
Total		297,89\pm3,95	428,66\pm14,10	9861,94\pm390,25	7906,22\pm106,21	3002,16\pm171,75

RI : Indice de rétention, Bouh.: *Bouhezza*, ND : non déterminé

Les acides carboxyliques, en particulier dans les acides gras à courte et moyenne chaîne (AGL) contribuent directement à la saveur du fromage, sont libérés dans le fromage à la suite de la lipolyse (Collins *et al.*, 2003). Et ils ne sont pas seulement des composés aromatiques par eux-mêmes, mais sont également des précurseurs de molécules de composés gustatifs et aromatiques, tels que les méthyl-cétones, les lactones, les esters, les alcanes et les alcools secondaires (Molimard et Spinnler, 1996 ; Collins *et al.*, 2003).

Molimard et Spinnler (1996) ont signalé que les chaînes courtes et moyennes (C4 à C12) ont des niveaux de perception beaucoup plus faibles et chacun a une note caractéristique ; acide isobutyrique (sueur doux), acide isovalérique (fruit pourri, doux, fruité, sueur); Acide hexanoïque (piquant, fromage bleu); l'acide octanoïque (cire, savon, chèvre, moisi, rance, fruité); et décanoïque (rance).

Dans le fromage de chèvre espagnol semi-dur, les acides sont les composés les plus importants à 84%. Les acides gras étaient les composés prédominants. Leur présence est fonction de la lipolyse et contribue fortement à l'intensité de la formation de l'arôme. L'acide décanoïque était présent

dans les concentrations les plus élevées suivies par l'acide octanoïque et hexanoïque (**Poveda et al., 2008**).

L'acide butyrique (C4) a augmenté lentement à l'âge de 60 jours suivi d'un acide caproïque (C6): le taux d'acide caprylique (C8) a varié légèrement pendant la période de maturation (1-180 d), alors que le caprique (C10) a augmenté de façon continue au cours de cette période. Les concentrations d'acides caprylique et caprique étaient significativement plus élevées dans le fromage Teleme fabriqué à partir de lait de chèvre que dans les fromages fabriqués à partir de lait de brebis à 1 et 180 d de maturation (**Mallatou et al., 2003**). L'acide butyrique (C4: 0) est également un composant important du fromage Feta, ce qui contribue grandement à sa saveur et son goût piquant (**Georgala et al., 2005**).

Alcools

En général, les conditions dans le fromage peuvent favoriser la réduction rapide des aldéhydes et des cétones en alcools primaires et secondaires (**Castillo et al., 2007**). De nombreuses voies métaboliques sont impliquées dans la synthèse de l'alcool rencontré dans les fromages ; le métabolisme du lactose et des acides aminés, ou la dégradation des aldéhydes, dérivé de la dégradation des acides aminés par la voie de Strecker (**Molimard et Spinnler, 1996**). L'éthanol a un rôle aromatique limité dans les fromages mais est le précurseur de plusieurs esters. Cet alcool primaire, en plus d'être un produit direct de la fermentation du lactose, peut être dérivé de la réduction de la forme des aldéhydes par la dégradation de Strecker de l'acide aminé (**Molimard et Spinnler, 1996**).

Le tableau 34 montre les alcools dans le fromage *Bouhezza* au lait cru de chèvre entre le premier jour, *Lben* (matière première) et 72 jours de maturation. Dans *Lben*, la forte concentration de composés alcooliques est l'éthanol ($12,07 \pm 2,79 \mu\text{g} / \text{L}$), suivie du 3-méthyl-1-butanol ($2,83 \pm 1,75 \mu\text{g} / \text{L}$) et du 1-hexanol ($1,09 \pm 1,09 \mu\text{g} / \text{L}$). Les autres composés ont des niveaux inférieurs ; 2-nonanol, 1-octanol, alcool benzylique et alcool phénéthylique. L'éthanol était le premier composant principal présent dans le *Lben* traditionnel de lait de vache (**Samet Bali et al., 2010**).

Trois composés sont présents à toutes les étapes de la fabrication de fromage de chèvre et dans le *Lben* (1 jour) jusqu'à 72 jours et dans l'échantillon de fromage au lait de vache âgé de plus de 30 jours ; l'éthanol, le 3-méthylbutanol et l'alcool phénéthylique, avec une augmentation à 30 et 72 jours et diminuer à 50 jours pour l'éthanol (tableau 33).

Pour le 3-méthylbutanol, il y a une augmentation à 30, 50 et 72 jours ; sa concentration est plus élevée dans le *Bouhezza* de lait de vache que dans le lait de chèvre à tous les stades. **Hayaloglu et al. (2013)** ont rapporté qu'un niveau plus élevé de 3-méthyl-1-butanol se trouve dans les fromages

au lait de chèvre que chez les fromages au lait de vache (Mollina *et al.*, 1999; Massouras *et al.*, 2006). Mais nous avons constaté que dans le lait de vache, le fromage *Bouhezza* (âge > 30 jours) est plus élevé que dans le lait de chèvre à tous les stades (30,50, et 72 jours) (tableau 33).

Tableau 34. Alcools (moyenne \pm sd, μ g/L de *Lben* et μ g/ Kg de fromage) dans le *Lben* du lait de chèvre utilisé dans la fabrication et dans le fromage *Bouhezza*.

Alcools	RI	<i>Lben</i>	30j	50j	72j	<i>Bouh.</i> vache
Ethanol	894	12,07 \pm 2,79	36,77 \pm 24,73	2,31 \pm 0,51	66,86 \pm 56,75	14,77 \pm 5,22
2-Butanol	1022	ND	0,87 \pm 0,87	ND	ND	ND
2-Méthyl-1-propanol	1086	ND	0,14 \pm 0,14	ND	0,49 \pm 0,12	1,23 \pm 0,06
3-Méthyl-1-butanol	1205	2,83 \pm 1,75	8,22 \pm 8,22	11,09 \pm 0,07	6,18 \pm 0,09	15,61 \pm 0,30
2,6-Diméthyl-4-heptanol	1480	ND	0,11 \pm 0,11	0,06 \pm 0,06	ND	ND
2-Propyl-1-heptanol	1194	ND	ND	0,16 \pm 0,16	ND	ND
4-Méthyl-2-pentanol	1301	ND	0,34 \pm 0,34	0,11 \pm 0,11	0,26 \pm 0,26	ND
1-Hexanol	1341	1,09 \pm 1,09	1,36 \pm 0,74	ND	ND	ND
2-Méthyl-2-propanol	1340	ND	ND	0,08 \pm 0,08	0,24 \pm 0,24	ND
2,3-Butanediol	1338	ND	0,16 \pm 0,16	ND	ND	ND
2-Nonanol	1491	0,10 \pm 0,10	0,26 \pm 0,26	0,95 \pm 0,25	0,12 \pm 0,12	ND
1-Octanol	1542	0,47 \pm 0,06	0,85 \pm 0,65	ND	0,95 \pm 0,95	ND
2-Furanmethanol	1727	ND	0,79 \pm 0,79	0,21 \pm 0,21	ND	ND
Benzyl alcohol	1846	0,07 \pm 0,07	2,51 \pm 1,87	ND	ND	ND
Phenethyl alcohol	1905	0,19 \pm 0,05	2,71 \pm 2,04	28,44 \pm 15,85	28,84 \pm 7,05	1,98 \pm 0,24
Total		16,82\pm0,84	55,09\pm3,15	43,41\pm1,92	103,94\pm8,20	33,59\pm1,46

RI : Indice de rétention, Bouh.: *Bouhezza*, ND : non déterminé

L'alcool phénéthylrique augmente à partir du 50^{ème} jour de fabrication-affinage, et à 72 jours, son contenu est le plus bas dans le fromage au lait de vache.

Certains composés apparaissent au début de la fabrication et disparaissent en cours d'affinage, tels que le 2-butanol et le 2,3-butanediol, présents à 30 jours seulement ; le 2-furanemethanol est présent à 30 et 50 jours, puis disparaît ; l'alcool benzylique disparaît au-delà de 30 jours. Le 2-méthyl-2-propanol apparaît tardivement pendant l'affinage à 50 et 72 jours avec de faibles proportions.

Les autres composés (tableau 33) sont présents dans la majorité des échantillons lors de l'affinage avec des fluctuations ; parfois disparition et émergence dans le nouveau temps de l'étape suivante. Il s'agit du 2-méthyl-1-propanol, du 2,6-diméthyl-4-heptanol, du 2-propyl-1-heptanol, du 4-méthyl-2-pentanol (absent dans le *Lben* et le fromage au lait de vache), du 1-hexanol, 2-Nonanol (absent dans le fromage de lait de vache), 1-octanol (absent à 50 jours).

L'échantillon de *Bouhezza* fabriqué avec du lait de vache est moins riche en composés aromatiques alcooliques que le fromage *Bouhezza* à partir de lait de chèvre, il ne contient que 4 composés ; l'éthanol (2^{ème} teneur élevée), le 2-méthyl-1-propanol, le 3-méthyl-1-butanol avec la proportion la plus élevée et l'alcool phénéthylrique. Parmi le profil des alcools dans le *Bouhezza* au

lait de vache de ferme le 3-méthyl-1-butanol, l'alcool phényléthylique et le 2-heptanol ont montré la plus grande valeur de l'aire de surface (Aissaoui Zitoun, 2014). En outre, le 1-octanol et l'alcool phénylalcool ont été détectés à partir de composés communs dans les fromages de ferme *Bouhezza*, sac de fromage de chèvre Darfiyeh affiné (Serhan *et al.*, 2010).

Dans le fromage Gouda, 2 alcools dérivent du métabolisme des acides aminés, du 2-méthyl-1-propanol (obtenu à partir de Leucine et de la valine), du 3-méthyl-1-butanol (Leucine), de l'alcool benzylique (phénylméthanol) et de l'alcool phénythylique (2-phényléthanol) (les deux alcools dérivent de la phénylalanine) (Smit *et al.*, 2005).

Hayaloglu *et al.* (2007b) ont rapporté que les alcools sont des composés volatils importants ; ils contribuent à la saveur du fromage Tulum. Le lait cru utilisé dans la fabrication du fromage Tulum peut avoir un effet sur les concentrations élevées d'alcools. Peut-être, que le même effet du lait cru ajouté à la 6ème semaine de fabrication, sur le profil des alcools aromatiques dans le fromage *Bouhezza* au lait de chèvre. Aissaoui Zitoun (2014) a rapporté que le profil des alcools dans le lait de vache pourrait être dû à l'ajout de lait cru à la fin du processus de fabrication du fromage. L'utilisation du lait cru dans la fabrication du fromage Xinotyri peut avoir un effet sur les concentrations les plus élevées en alcools (Bontinis *et al.*, 2012).

Vingt-deux alcools ont été identifiés dans le fromage de Tulum. Parmi ces alcools ; éthanol, 2-méthyl 1-Propanol, 2-méthyl-1-butanol, 3-méthyl-1-butanol, 2-butanol, 2-pentanol, 1-méthoxy propanol-2 et alcool phénythylique ont été détectés en grandes quantités dans les fromages de Tulum au lait cru des brebis (Hayaloglu *et al.*, 2007b).

Le 1-phényléthanol, l'octanol, le 3-méthylbutanol et le 1-propanol étaient les alcools les plus abondants identifiés dans tous les lots de fromage affiné Darfiyeh. La moyenne du 1-phényléthanol était la plus élevée (Serhan *et al.*, 2010).

De grandes quantités d'éthanol ont été détectées dans les fromages du lait de chèvre Majorero (Castillo *et al.*, 2007).

Les alcools étaient le principal groupe de produits chimiques présents dans la fraction volatile du fromage Xinotyri, leur niveau a diminué à la fin de la maturation. Vingt-cinq alcools ont été détectés pendant la maturation. Parmi les alcools, l'éthanol était présent en plus grande concentration (Bontinis *et al.*, 2012).

Les alcools étaient le principal groupe chimique dans les fromages et contribuaient à l'arôme du fromage. Au total, on a identifié (14) différents alcools dans des fromages au lait de chèvre pendant 90 jours de maturation ; les concentrations de certains alcools ont augmenté ou diminué pendant la maturation. L'éthanol, le 1-pentanol et le 3-méthyl-1-butanol ont été les alcools les plus abondants dans tous les échantillons. Le 3-méthyl-1-butanol peut être formé par réduction du 3-

méthyl-1-butanal à travers la dégradation de Leu par la voie de Strecker (**McSweeney and Sousa, 2000**).

Poveda et al. (2008), a trouvé dans le semi-dur fromage de chèvre espagnol les mêmes composés alcooliques (avec les descripteurs d'odeur) que dans notre fromage de lait de chèvre *Bouhezza*; alcool benzylique (floral / sucre et doux), 2-phényléthanol (floral / rose), eugénol (épicé / clou de girofle), 1-éthyl hexanol (non mûr). **Molimard et Spinnler (1996)** ont également signalé certains alcools tels que l'éthanol avec une saveur de note, léger, éther ; 2-méthylpropanol comme alcool, 3-méthylbutanol comme fruité et alcool ; 2-phényléthanol (floral / rose).

Aldéhydes

Huit composés d'aldéhydes se trouvent dans *Bouhezza* au lait de chèvre (Tableau 35). Dans *Bouhezza* à partir de lait de chèvre, l'hexanal est le principal composé d'aldéhydes et le même dans le *Bouhezza* au lait de vache. L'hexanal avec nonanal se trouvent à tous les stades de la préparation du fromage de chèvre *Bouhezza*, dans le *Lben* et le fromage affiné. La concentration élevée est observée à 30 jours et diminue à 50 jours, et il y a une augmentation à 72 jours. Le 3 méthylbutanal apparaît à 72 jours. Ce composé est rencontré dans les fromages à croûte moisi comme le Camembert et le Brie et aussi dans les fromages affinés aux moisissures (**Molimard et Spinnler, 1996**).

Les aldéhydes jouent un rôle clé dans le développement des fromages de chèvre. La saveur apparaît à faible concentration dans la fraction volatile de la plupart des fromages (**Castillo et al., 2007**). Ils proviennent d'acides aminés par transamination, conduisant à un imide qui peut être décarboxylé ou par dégradation de Strecker (**Molimard et Spinnler, 1996**). Ils sont en fait produits par le catabolisme des acides gras ou AA par décarboxylation ou désamination (**Hayaloglu et al., 2007**). Ce sont des composés transitoires et instables dans le fromage car ils sont généralement transformés rapidement en alcools ou en acides correspondants (**Molimard et Spinnler, 1996 ; Hayaloglu et al., 2007 ; Castillo et al., 2007**).

Les aldéhydes ne sont pas des composés volatils majeurs des fromages au lait de chèvre ; cependant, l'hexanal était abondant dans tous les échantillons de Gokceada et de Saanen turc (**Hayaloglu et al., 2013**).

Au cours de la maturation, dix-neuf aldéhydes ont été identifiés dans Xinotyri; Acétaldéhyde, 2-butanal, 2,4-octadienal, 4-octadécanal, 2-méthyl butanal et décanal étaient les plus élevées à 6-45 jours de maturation (**Bontinis et al., 2012**). Les fluctuations de leurs concentrations ont également été rapportées par **Hayaloglu et al. (2013)** et ils sont influencés par la période de maturation, ce qui a été observé pendant l'affinage de *Bouhezza* de chèvre ; cependant, une tendance croissante a

été observée pour la majorité des aldéhydes à 72 jours. Une observation similaire a été faite par **Hayaloglu et Brechany (2007)**.

Tableau 35. Aldéhydes (moyenne \pm sd, $\mu\text{g/L}$ de *Lben* et $\mu\text{g/Kg}$ de fromage) dans le *Lben* du lait de chèvre utilisé dans la fabrication et dans le fromage *Bouhezza*.

Aldéhydes	RI	<i>Lben</i>	30j	50j	72j	<i>Bouh.</i> vache
3-Méthylbutanal	881	ND	ND	ND	1,09 \pm 0,80	0,11 \pm 0,11
Pentanal	979	ND	1,07 \pm 0,68	ND	ND	0,24 \pm 0,01
Hexanal	1025	1,83 \pm 0,77	3,17 \pm 2,07	0,79 \pm 0,03	1,99 \pm 1,25	1,35 \pm 0,17
Heptanal	1153	0,51 \pm 0,51	3,00 \pm 1,50	ND	ND	ND
Octanal	1269	0,56 \pm 0,13	0,38 \pm 0,38	ND	ND	0,20 \pm 0,20
Nonanal	1383	0,88 \pm 0,17	0,63 \pm 0,36	0,39 \pm 0,02	1,31 \pm 0,80	0,42 \pm 0,04
Furfural	1494	ND	ND	0,39 \pm 0,04	1,65 \pm 1,65	0,50 \pm 0,13
Benzaldehyde	1525	0,23 \pm 0,23	ND	0,25 \pm 0,25	1,81 \pm 0,92	ND
total		4,01\pm0,36	8,25\pm1,00	1,82\pm0,09	7,85\pm1,08	2,82\pm0,11

RI : Indice de rétention, *Bouh.*: *Bouhezza*, ND : non déterminé

Le 3-méthylbutanal, qui fournit l'arôme du malt, au pétrole ou au beurre, au fromage (**Serhan et al., 2010**), a été principalement détecté dans les fromages Gokceada et de Saanen, et l'utilisation de culture initiale (starter SLAB) a fortement influencé leurs concentrations. Le 3-méthylbutanal est formé par la dégradation de Strecker de Leu (**Urbach, 1995**) et se trouve comme un composé d'odeur puissant dans différentes variétés de fromage (**Curioni et Bosset, 2002 ; Hayaloglu et al., 2007**). Le benzaldéhyde, qui a une note aromatique d'amande amère, se trouve couramment dans les fromages et est formé par des réactions oxydatives de l'acide cinnamique ou du phénylacétaldéhyde (**Molimard et Spinnler, 1996**).

Les composés aldéhydiques identifiés dans le fromage Darfiyeh affiné en peau de chèvre, comprennent l'octanal et le 3-méthylbutanal. Ce dernier, avec son pourcentage élevé, a été le principal aldéhyde trouvé, qui peut jouer un rôle important dans le développement de la saveur en raison de son faible seuil de perception (**Serhan et al., 2010**). Les composés aromatiques identifiés dans le fromage de chèvre Majorero comprenant les principaux aldéhydes ; le 3-méthylbutanal, l'hexanal et l'heptanal. Ces trois composés fourniraient des notes aromatiques de malte et verte au fromage Majorero (**Castillo et al., 2007**).

Cétones

Neuf composés cétoniques ont été détectés dans le fromage *Bouhezza* à partir de lait de chèvre (Tableau 36). Dans le *Lben*, il n'y avait que quatre composés aromatiques ; 2-pentanone, 2-heptanone, 4-octanone et 2-nonanone. Leurs niveaux sont compris entre 0,20 et 0,60 $\mu\text{g/L}$ de produit.

Ces composés se retrouvent dans tous les échantillons du fromage *Bouhezza* lors de sa fabrication (30, 50 et 72 jours). Leurs niveaux respectifs, à la fin de l'affinage à 72 jours sont 2,32 ; 4.15 ; 0,23 et 5,07 µg / Kg de fromage. Ces valeurs sont supérieures à celles des autres étapes de l'affinage, à l'exception de la 4-octanone dont la valeur est la plus basse. **Le Quéré et al. (1998)**, ont signalé que certains composés trouvés dans le fromage à pâte molle au lait de chèvre contiennent des arômes spécifiques de fromage ou de fromage provenant de lait de chèvre ; 2-pentanone et 2-heptanone ont été également retrouvés dans le fromage *Bouhezza* au lait de chèvre et devraient avoir l'arôme spécifique.

Tableau 36. Cétones (moyenne ±sd, µg/L de Lben et µg/ Kg de fromage) dans le Lben du lait de chèvre utilisé dans la fabrication et dans le fromage *Bouhezza*.

Cétones	RI	Lben	30j	50j	72j	Bouh. vache
2-Propanone	761	ND	ND	3,78±0,66	3,58±3,38	ND
3-Methyl-2-pentanone	999	ND	ND	0,36±0,36	2,77±0,32	ND
2-Pentanone	951	0,22±0,22	0,39±0,10	1,56±0,05	2,32±1,56	0,36±0,04
2,3-Pentanedione	1054	ND	ND	0,16±0,16	ND	ND
2-Heptanone	1151	0,60±0,60	0,17±0,17	0,36±0,36	4,15±4,15	ND
4-Octanone	1210	0,42±0,42	0,57±0,05	0,23±0,23	0,23±0,23	0,51±0,03
3-Hydroxy-2-butanone	1280	ND	0,17±0,17	0,82±0,82	ND	1,15±1,15
2-Nonanone	1378	0,24±0,06	0,33±0,08	0,51±0,51	5,07±5,07	ND
Butyrolactone	1610	ND	ND	0,38±0,03	1,65±1,65	ND
Total		1,48±0,33	1,63±0,11	8,16±0,35	19,77±2,34	2,02±0,41

RI : Indice de rétention, Bouh.: *Bouhezza*, ND : non déterminé

D'autres molécules non détectées dans la matière première apparaissent au cours de l'affinage ; 2-propanone apparaît avec un contenu élevé de 3,78 µg / Kg à 50 jours et a diminué légèrement à 3,58 µg / Kg à 72 jours ; 3-méthyl-2-pentanone et butyrolactone apparaissent à 50 jours et disparaissent à 64 jours puis réaugmentation de leur teneurs respectives à 2,77 et 1,65 µg / Kg à 72 jours ; 2.3 -pentanedione apparaît à 50 jours puis disparaît à nouveau. 3-Hydroxy-2-butanone (acétoïne), apparaît à 30 jours, a augmenté à 50 jours, et disparaît à 72 jours. Dans l'échantillon de *Bouhezza* au lait de vache, il existe une présence de 3 composés qui sont la 2-pentanone, la 4-octanone et la 3-hydroxy-2-butanone (avec une teneur appréciable de 1,15 µg / kg).

Les deux principales méthyl-cétones sont non-2-one et heptan-2-one dans le fromage Camembert. En outre, l'ajout d'acide oléique dans un environnement à base de lait provoque une augmentation de la production d'heptan-2-one et de non-2-one par *P. camemberti*.

Le seuil de perception de diverses cétones dans les fromages est l'octanone-2, le nonan-2-one, le décan-2-one, l'undecan-2-one et le tridecan-2-one qui sont décrits comme ayant des notes fruitées, florales et moisies (**Molimard et Spinnler, 1996**). Les principales cétones détectées à des niveaux importants dans tous les échantillons de fromage au lait de chèvre Gokceada et de Saanen turc

étaient la 2-propanone, la 2-butanone, la 2-pentanone et la 3-hydroxy-2-butanone (acétoïne) (**Hayaloglu et al., 2013**).

Parmi les composés cétoniques trouvés dans le fromage de chèvre de *Bouhezza*, certains ont été trouvés dans du fromage semi-dur espagnol au lait de chèvre, par **Poveda et al. (2008)**, qui contribuent aux propriétés aromatiques du fromage de chèvre comme le 2-heptanone (champignon), le 2-nonanone (aigre), le 3-hydroxy-2-butanone (beurre) avec des concentrations appréciables et 2-octanone (moisi). Les analyses de fromages contiennent également de la 3-hydroxy-2-butanone (acétoïne), qui a été associée à une odeur de beurre. L'acétone a également été identifiée dans d'autres variétés de chèvre (**Poveda et al., 2008**); dans le fromage de chèvre frais artisanal (**Guillén et al., 2014**). L'acétoïne est produite à partir de l' α -acétolactate par l'action de l'acétolactate décarboxylase (**Hassan, Abd El-Gawad et Enab, 2013**).

Les méthyl-cétones sont obtenues par dégradation des lipides, elles ont été produites à la suite d'une voie métabolique qui est la β -oxydation (**Molimard et Spinnler, 1996**), qui ne se produit que lorsque l'acide gras correspondant a été libéré (**Le Quéré et al., 1998**), et la décarboxylation des acides gras (**Poveda et al., 2008**) en β -cétoacides et décarboxylation en alcan-2-ones (**McSweeney and Sousa, 2000; Hassan, Abd El-Gawad et Enab, 2013**). Les acides gras libres peuvent être transformés par des microorganismes dans d'autres composés, souvent plus puissants en saveur, y compris les méthyl-cétones (**Holland et al., 2005**).

Les méthylcétones sont rapportés comme des composés d'arômes de thé, dans certains fromages bleus. Cependant, dans les fromages de chèvre, ils n'ont pas joué un rôle dans la saveur du thé, leur niveau étant resté inférieur à la valeur seuil, même au terme de la maturation (**Le Quéré et al., 1998**).

Terpènes

Le groupe de terpènes est très varié avec une vingtaine de composés à différentes concentrations (Tableau 37). Certains sont importants avec des niveaux qui correspondent à l'alpha-pinène de 2,28 $\mu\text{g} / \text{L}$ dans le *Lben* à 38,06 $\mu\text{g} / \text{Kg}$ à 30 jours dans le fromage, avec régression à 50 jours, puis montée finalement à 72 jours à 6,75 $\mu\text{g} / \text{kg}$.

Le beta-pinène à des niveaux faibles dans l'intervalle entre 0,53 $\mu\text{g} / \text{Kg}$ à 30 jours, une élévation à 50 jours à 0,63 $\mu\text{g} / \text{Kg}$ jusqu'à 72 jours 0,85 $\mu\text{g} / \text{kg}$. Sabinène est présent dans le *Lben* avec 0,37 $\mu\text{g} / \text{Kg}$, a diminué à 50j et a augmenté à 72 jours à 1,75 $\mu\text{g} / \text{kg}$. Même pour Beta-Ocymene qui disparaît après 50 jours, Cymol, Para-Cymene disparaît à 30 jours et a augmenté à 50 jours puis diminué à 72 jours. L'alpha-Terpinolene apparaît seulement à 30 jours avec des niveaux faibles et stables jusqu'à 72 jours.

Tableau 37. Terpènes (moyenne \pm sd, $\mu\text{g/L}$ de *Lben* et $\mu\text{g/ Kg}$ de fromage) dans le *Lben* du lait de chèvre utilisé dans la fabrication et dans le fromage *Bouhezza*.

Terpènes	RI	<i>Lben</i>	30j	50j	72j	<i>Bouh.</i> vache
Camphene	982	ND	3,52 \pm 2,76	ND	ND	ND
Alpha-pinene	1005	2,28 \pm 2,28	38,06 \pm 29,15	2,62 \pm 0,91	6,75 \pm 3,19	ND
Beta-Pinene	1085	ND	0,53 \pm 0,53	0,63 \pm 0,63	0,85 \pm 0,85	ND
Sabinene	1097	0,37 \pm 0,03	ND	0,15 \pm 0,15	1,75 \pm 0,95	0,08 \pm 0,08
Pinocarvone	1114	ND	5,19 \pm 5,19	0,42 \pm 0,42	1,11 \pm 1,11	ND
Delta-3-Carene	1121	0,20 \pm 0,20	4,63 \pm 1,53	0,27 \pm 0,27	1,25 \pm 0,01	0,17 \pm 0,17
Beta-Myrcene	1132	4,15 \pm 2,09	2,39 \pm 1,00	1,68 \pm 1,68	1,46 \pm 0,58	ND
Beta.-Phellandrene	1170	0,91 \pm 0,91	11,17 \pm 7,44	0,08 \pm 0,08	2,08 \pm 2,08	ND
dl-Limonene	1171	131,66 \pm 24,50	5,63 \pm 2,90	50,18 \pm 12,42	44,97 \pm 6,92	8,31 \pm 0,01
Beta-Ocymene	1242	ND	0,52 \pm 0,52	1,24 \pm 1,24	ND	ND
Styrene	1244	ND	21,82 \pm 15,52	0,26 \pm 0,26	7,59 \pm 4,64	4,26 \pm 0,76
Cymol	1248	0,32 \pm 0,32	3,06 \pm 2,08	0,67 \pm 0,07	0,93 \pm 0,93	0,16 \pm 0,16
Para-Cymene	1252	0,14 \pm 0,14	ND	1,38 \pm 0,33	0,86 \pm 0,86	0,78 \pm 0,10
.gamma.-Terpinene	1261	ND	0,19 \pm 0,19	2,36 \pm 0,76	5,94 \pm 0,95	0,78 \pm 0,01
Alpha-Terpinolene	1262	0,43 \pm 0,43	0,30 \pm 0,30	0,20 \pm 0,20	0,27 \pm 0,27	ND
(+)-2-Carene	1268	0,11 \pm 0,11	ND	0,19 \pm 0,19	ND	ND
Linalool L	1530	0,74 \pm 0,15	1,25 \pm 0,92	0,35 \pm 0,19	ND	ND
Alpha-Humulene	1603	ND	3,34 \pm 2,43	ND	0,16 \pm 0,16	ND
Terpinen-4-ol	1616	ND	1,3 \pm 1,10	ND	ND	ND
Terpinyl acetate	1700	ND	1,9 \pm 0,80	0,81 \pm 0,00	ND	ND
Gamma-Cadinene	1761	0,7 \pm 0,00	0,6 \pm 0,00	ND	0,30 \pm 0, 30	ND
Total		141,35\pm2,60	105,40\pm4,13	63,49\pm1,16	76,27\pm1,59	14,54\pm0,18

RI : Indice de rétention, Bouh.: *Bouhezza*, ND : non déterminé

Alpha-Humulène avec une teneur élevée à 30 jours, disparaît à 50 jours et réapparaît avec des niveaux à 72 jours). Gamma-Cadinene, stable jusqu'à 30 jours et disparaît à 50 jours et réapparaît à 72 jours, son contenu est faible de 0,10 à 0,30 $\mu\text{g/ Kg}$. Le bêta-Phellandrène ayant un taux élevé à 30 jours de l'ordre de 11,17 $\mu\text{g/ Kg}$, puis diminue, il est présent à 72 jours avec 2,08 $\mu\text{g/ kg}$. Les composés présents tout au long de la période de maturation avec des fluctuations dans les niveaux qui étaient les plus élevés à 30 jours ; Pinocarvone, (5,19 $\mu\text{g/ Kg}$), Delta-3-Carène (4,63 $\mu\text{g/ Kg}$), Bêta-Myrcène (2,39 $\mu\text{g/ Kg}$), dl-limonène (50,18 $\mu\text{g/ Kg}$ à 50 jours), Styrène (21,82 $\mu\text{g/ Kg}$), le gamma-terpinène (5,94 $\mu\text{g/ Kg}$ à 72 jours). Le Linalool est élevé dans le *Lben* à 0,74 \pm 0,15 $\mu\text{g/ L}$, augmente à 30j à 1,25 $\mu\text{g/ kg}$ ensuite diminue à 0,35 $\mu\text{g/ kg}$ à 50j. L-Linalool est absent à 72 jours.

Le dl-limonène est le produit avec le contenu le plus élevé dans le *Lben* atteignant 131,66 $\mu\text{g/ L}$, suivi du bêta Myrcène avec 4,15 $\mu\text{g/ L}$, l'alpha-pinène, le bêta phellandrène 2,28 ; et 0,91 $\mu\text{g/ L}$. Les autres avec des niveaux plus bas, moins de 0,5 $\mu\text{g/ L}$, sabinène, Delta-3-Carène, Cymol, Para-Cymene, Alpha-Terpinolène, (+) - 2-Carène et Gamma-Cadinène.

Les terpènes sont des composés typiques de l'origine végétale, leur biosynthèse peut être suite à la condensation successive de l'isopentényl-pyrophosphate qui allonge la chaîne de 5 atomes de carbone, soit de condensation similaire symétrique similaire à celle de la pyrophosphate synthase de farnesyle qui double le nombre d'atome de carbone (**Audigié et Zonszain, 1995**). Les molécules trouvées dans le fromage traditionnel *Bouhezza* sont en majorité des monoterpènes acycliques, monocycliques et bicycliques.

Les hydrocarbures dans $C_{10}H_{16}$ contenant deux doubles liaisons : D-limonène et les phellandrenes sont les représentants les plus connus de cette famille. Les hydrocarbures dans $C_{10}H_{18}$ contenant un double C. Les terpinéaux sont les plus fréquents dans cette famille (**Malecky, 2008**).

Les terpènes sont des composés naturels présents dans les huiles essentielles des plantes, formés par l'assemblage progressif des unités d'isoprène (en C5). Ils sont une source importante de parfum. Les monoterpènes comprennent deux unités d'isoprène et sont des composés en C10, par exemple le myrcène (extrait des feuilles du laurier), le limonène (extrait du citron et l'orange), l' α -pinène (la térébenthine des pins), le caryophyllène (extrait de clous de girofle) (**Johnson, 2003**).

Huit dérivés de Terpène ; dl-limonène avec une teneur plus élevée de 8,31 $\mu\text{g} / \text{kg}$ suivie de styrène à 4,26 $\mu\text{g} / \text{Kg}$ et viennent d'autres avec des niveaux compris entre 0,08 $\mu\text{g} / \text{Kg}$ pour sabinène, pinovarvone, delta-3-carène, cymol et 0,78 $\mu\text{g} / \text{Kg}$ pour para-cymène et le gamma terpinène.

Composés volatiles divers

Parmi ces composés aromatiques, on distingue les composés benzéniques. Treize (13) composés ont été sélectionnés parmi les divers composés aromatiques volatils dans le fromage *Bouhezza* à partir de lait de chèvre (Tableau 37). Trois sont trouvés dans le *Lben*, et une dizaine sont trouvés tout au long de la maturation du fromage où d'autres qui disparaissent à une étape et réapparaissent à une autre de l'affinage.

Parmi les benzines identifiées ; le benzène, le toluène, le 1,4-diméthylbenzène, le 1,2-diméthylbenzène, l'éthylbenzène, le 1,3, 3-triméthylbenzène et le m-chlorotoluène sont présents avec de faibles quantités. Soit ils sont présents dans le *Lben* tel que toluène avec 1,7 $\mu\text{g} / \text{L}$, les autres avec des niveaux plus bas, moins de 0,5 $\mu\text{g} / \text{L}$ (1,2-iméthylbenzène, 1,4-diméthylbenzène), et continuent à apparaître pendant la fabrication, soit ils sont absents dans la matière première et apparaissent à l'âge de 30 jours du fromage. Le toluène a augmenté à 4,42 $\mu\text{g} / \text{Kg}$ 30 jours et diminué à 50 jours pour augmenter encore une autre fois à 72 jours avec un contenu de 9,13 $\mu\text{g} / \text{Kg}$ de fromage.

Tableau 38. Composés volatiles variés (moyenne \pm sd, $\mu\text{g/L}$ de Lben et $\mu\text{g/ Kg}$ de fromage) dans le *Lben* du lait de chèvre utilisé dans la fabrication et dans le fromage *Bouhezza*.

Composés volatiles divers	RI	<i>Lben</i>	30j	50j	72j	<i>Bouh.</i> vache
2-Methyl-Pentane	560	ND	0,08 \pm 0,07	ND	0,13 \pm 0,13	ND
2-Methylhexane	650	ND	ND	1,13 \pm 1,13	0,65 \pm 0,01	ND
3-Methyl-hexane	679	ND	ND	4,64 \pm 0,41	1,30 \pm 0,08	0,11 \pm 0,11
Benzene	913	ND	ND	0,19 \pm 0,19	0,70 \pm 0,30	0,25 \pm 0,25
Toluène	1024	1,7 \pm 0,20	4,4 \pm 3,2	ND	9,1 \pm 7,0	2,4 \pm 0,3
1,4-Dimethyl-benzene	1091	0,11 \pm 0,11	0,26 \pm 0,26	0,66 \pm 0,16	1,57 \pm 1,57	ND
1,2-Dimethyl benzene	1095	0,35 \pm 0,03	0,11 \pm 0,11	0,19 \pm 0,19	0,41 \pm 0,41	0,83 \pm 0,31
Ethyle benzene	1122	ND	0,42 \pm 0,21	0,16 \pm 0,16	0,18 \pm 0,18	ND
Octylacetylene	1215	ND	ND	0,73 \pm 0,07	0,52 \pm 0,52	0,08 \pm 0,08
2-Amylfuran	1221	ND	0,09 \pm 0,09	0,33 \pm 0,33	0,09 \pm 0,09	
1,3,5-Trimethylbenzene	1288	ND	ND	0,26 \pm 0,26	1,27 \pm 0,03	0,44 \pm 0,01
m-Chlorotoluene	1291	ND	0,34 \pm 0,08	ND	0,10 \pm 0,10	0,47 \pm 0,13
Diméthyle sulfone	1896	ND	0,26 \pm 0,26	0,19 \pm 0,19	0,27 \pm 0,27	0,40 \pm 0,15
Total		2,16\pm0,11	5,96\pm0,54	8,48\pm0,31	16,29\pm0,82	4,98\pm0,17

RI : Indice de rétention, Bouh.: *Bouhezza*, ND : non déterminé

Les autres composés ont des niveaux plus ou moins stables entre 0,10 et 1,57 $\mu\text{g/ kg}$. Les autres sont le 3-méthylhexane, le diméthylsulfone (un composé soufré) et l'octylacétylène.

D'autres composés des groupes méthyle sont présents ; le 2-méthylpentane, le 2-méthyl-hexane et le 3-méthyl-hexane avec une teneur de 4,64 $\mu\text{g/ Kg}$ à 50 jours et qui a diminué à 72 jours à 1,18 et 1,30 $\mu\text{g/ kg}$. Diméthylsulfone avec des niveaux bas dans l'ordre de 0,18 à 0,27 pendant 30 à 72 jours.

Huit différents composés ont été trouvés dans l'échantillon de *Bouhezza* au lait de vache à un âge supérieur à 30 jours. Parmi ces molécules, cinq appartiennent au groupe des benzènes identifiés avec des taux modérés entre 0,25 $\mu\text{g/ Kg}$ (benzène) à 0,83 $\mu\text{g/ Kg}$ (1,2-diméthylbenzène), 1,3,5-triméthylbenzène (0,44 $\mu\text{g/ Kg}$) et m-chlorotoluène (0,47 $\mu\text{g/ Kg}$) à l'exception du toluène qui est présent avec 2,44 $\mu\text{g/ kg}$.

Les mêmes composés (benzène, diméthylbenzène, triméthylbenzène et toluène) ont été trouvés dans le fromage Camembert (**Molimard et Spinnler, 1996**). Selon ces derniers, leur origine provient du lait, de la dégradation du carotène ou le solvant utilisé pour l'analyse ou il peut constituer des impuretés dans le solvant utilisé. Ceci est possible lorsque le fromage est préparé à partir de lait de vache contenant du carotène. Cependant, selon la littérature (**Amiot et al., 2002**), le lait de chèvre n'en contient pas, alors l'origine de ces produits doit avoir une source différente et la teneur élevée en toluène trouvée à 72 jours peut être due au piment rouge qui est ajouté pour épicer le fromage en fin de fabrication. Le piment frais contient une grande quantité de pro-

vitamine A, environ 7140 µg de β-Carotène par 100 g de portion comestible et dans le piment rouge séché, le niveau est de 14300 µg/100 g (Grubben et Denton, 2004).

Ce niveau de toluène obtenu à 72 jours dans le fromage *Bouhezza* était le même que celui trouvé par Hayaloglu *et al.* (2013) dans le fromage de lait de chèvre Saanen à 60 et 90 jours de maturation.

L'analyse statistique de l'ACP (Analyse en Composante Principale), mettant en exergue les principaux composants aromatiques ayant plus d'intérêt et d'effet dans les sensations gustatives. L'ACP réalisée sur l'ensemble des échantillons soumis à l'analyse par GC/SM, a montré deux principales composantes groupées entre *Lben* de chèvre (CLbnS1 et CLbnS2) et l'autre groupe est celui des autres échantillons d'un âge compris entre 30, 50 et 72 jours d'affinage. Ces deux groupes se présentent sur le côté positif de l'axe principal F1 avec 75,52% donnant plus d'information sur les composés volatiles.

Dans la plupart des cas d'ACP, deux éléments principaux sont utilisés, ce qui est suffisant pour expliquer une grande partie de la variation dans les paramètres étudiés. Un graphique de résultats d'échantillons est représenté sur les figures 22 a et b, où les chargements les plus importants et le pourcentage le plus élevé sont représentés par les deux premières composantes principales (CP1 et CP2) après analyse. La variabilité de 75,52% et 10,70% a été expliquée respectivement par F1 et F2. La variance totale a expliqué 86,23% des données de l'analyse par GC-MS. Un graphe à deux axes (Figure 22b) a montré que les acides carboxyliques contribuent fortement comme principaux composants aromatisés qui sont les acides ; octanoïque, décanoïque, hexanoïque, acétique, butanoïque et pentanoïque qui sont groupés du côté positif de l'axe CP1(F1), ils représentent les acides les plus importants avec des niveaux élevés dans les différents échantillons de *Bouhezza* au lait de chèvre et dans celui avec du lait de vache (> 30 jours, Tableau 31). Les esters éthyliques de l'octanoate, du décanoate, de l'hexanoate, de butanoate et l'acétate ainsi que l'éthanol sont également regroupés du côté positif de l'axe CP1(F1) sur l'axe médian zéro, ils sont aussi importants mais moins que les acides. Sont groupés du côté négatif de F1 et autour du point central ; l'acide propanoïque, isobutyrique et benzoïque avec une faible représentation, au point central de l'axe se trouve l'ester 2-phénylacétate.

Le reste des composés volatiles ; des esters, des acides carboxyliques, des alcools, les aldéhydes, les cétones, les terpènes et les substances diverses sont regroupés autour du centre du graphe, la plupart d'entre eux sont dans le côté négatif de CP1 et sur la ligne zéro de la CP2 et la contribution à la composante principale est plus faible que les deux groupes des acides et leurs esters.

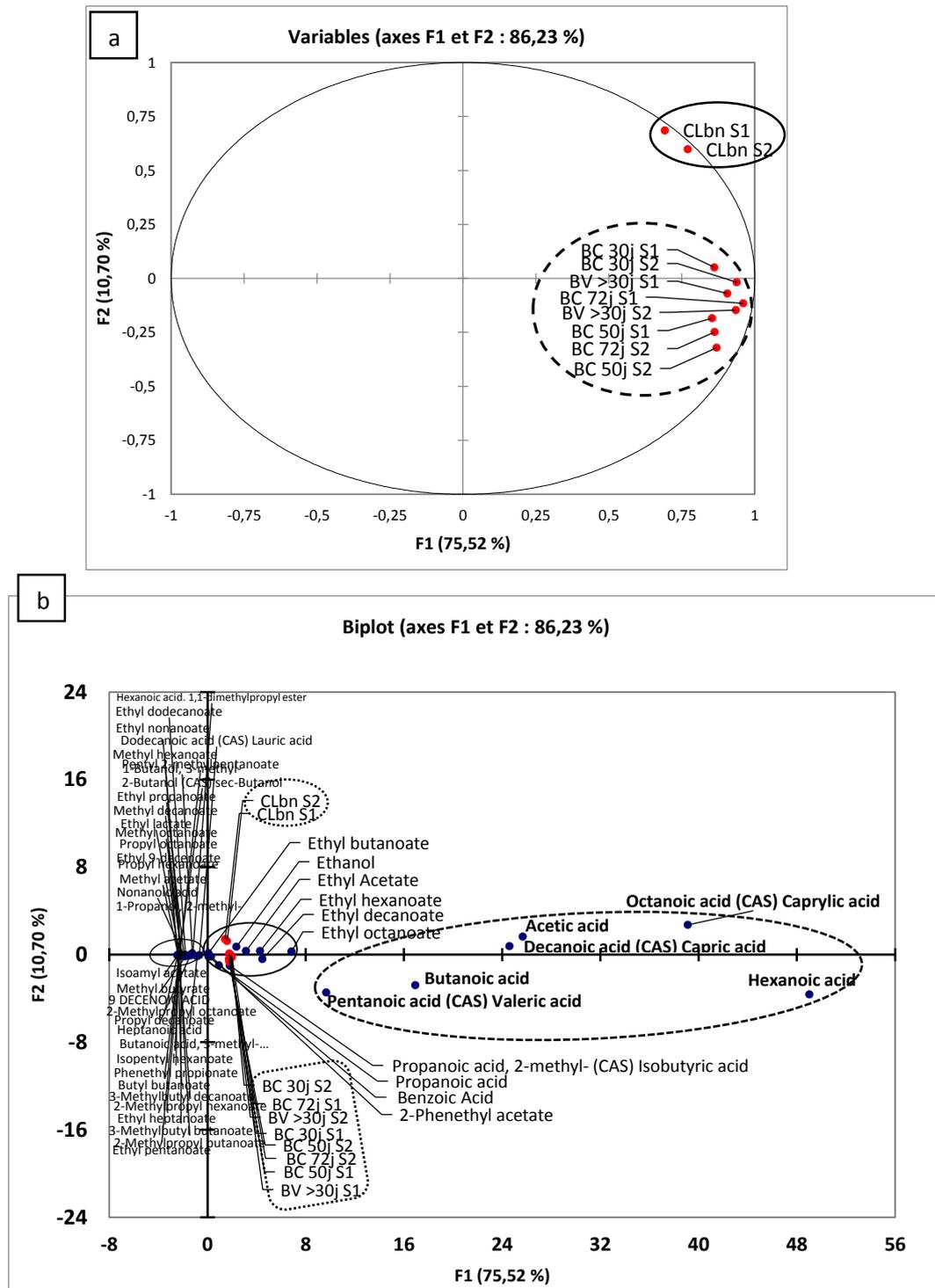


Figure 33 a et b. Diagramme de score des deux premiers composants principaux des données volatiles issues de l'analyse GC-MS du fromage *Bouhezza* au lait cru de chèvre. Tous les échantillons analysés sont regroupés sur la figure 22a, du côté positif de la CP1 mais les échantillons de *Lben* sont groupés du côté positif de la CP2 tandis que les échantillons de fromage sont groupés dans le côté négatif de la CP2 et leur contribution est plus forte que ceux de *Lben* par les niveaux élevés de composés aromatiques trouvés dans les échantillons de fromage *Bouhezza*.

6. Suivi du Profil de la Texture (APT) du fromage *Bouhezza* au lait de chèvre

Au vu des valeurs de dureté, il apparaît que lors du premier et deuxième cycle de compression entre les trois fabrications (Tableau 39), il y'a une différence claire où il a fallu plus de force de compression vis-à-vis de l'échantillon de F7 qu'il n'a fallu pour la F4 et la plus faible étant celle de F1 (Figure 23 a, b et c). Les fromages de ferme possédant une dureté plus importante qui serait due à la densité et à la structure plus compacte de la pâte du fromage avec des EST plus élevés de ces deux fromages par rapport à celui expérimentale. Néanmoins, le rapport de ces deux forces qui exprime la cohésion de la pâte fromagère, montre qu'il n'y a pas de différence significative entre les 3 échantillons des 3 fabrications. La plus faible souplesse (élasticité) est celle de F1 avec 6,45mm, alors que les fromages de ferme possèdent les valeurs les plus élevées, F4 la plus élevée avec 6,87mm et celle de F7 avec 6,71mm. Ces deux derniers sont plus souples que F1 et ainsi ils possèdent des caractéristiques de dureté plus importante et doivent être plus résistant à la mâchabilité qui nécessite plus de force pour atteindre le point de rupture. Le taux de MG/EST est de 47,02% (MG=14,2 g/100g) pour F1, 43,15% (MG=16,0 g/100g) pour F4 et 58,8% (MG=23 g/100g) pour F7.

La fracturabilité, la cohésion, la masticabilité et la dureté du fromage augmentaient avec la diminution de la graisse, tandis que l'élasticité et l'adhésivité diminuaient (**Sanchez et al., 2010**). La graisse joue un rôle important dans la détermination des caractéristiques du fromage. La graisse affecte le corps et la texture du fromage car elle occupe l'espace interstitiel dans les réseaux structuraux minéraux et protéiques et contribue substantiellement à la qualité du goût (**Jameson, 1987, McGregor et White, 1990 cités par Sanchez et al., 2010**).

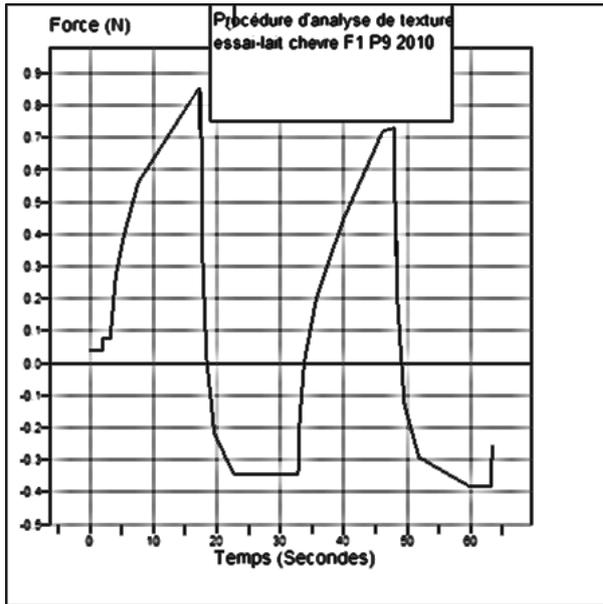
Selon **Wang et Li (2012)**, le fromage Camembert a une élasticité (souplesse) et une adhérence élevées, possède une capacité de déformation par extrusion avec restauration complète de son état initial. L'adhésion et la masticabilité des trois fromages varient respectivement de 0,77 N et 4,89 Nmm (F1), augmente en F4 à 0,94 N et 6,47 Nmm et la plus forte est celle de F7 avec 1,57 N et 10,50 Nmm. Cette différence est peut être due à la durée de fabrication-affinage ainsi qu'au taux d'extrait sec total qui est différent entre les 3 fabrications, il est plus élevé dans les F4 et F7 que dans la F1 ($p < 0,05$). Selon ces allégations, nos résultats de *Bouhezza* de chèvre ont probablement été influencés par le taux d'EST plutôt que de celui de la MG.

Il n'y a pas de différences significatives au seuil de 5% et 1%, entre les différents paramètres du profil textural des trois fabrications, p (F1-F4)=17,34%, p (F1-F7)=19,72% et p (F4-F7)=21,48% ($P > 0,05$ et 0,01). Cependant au seuil de 50% il y'a une différence entre les valeurs de F1 et F7 avec $p=49,03%$ ($p < 0,5$). En comparaison avec *Bouhezza* de vache présenté par **Aissaoui Zitoun (2014)**, où les duretés sont plus élevées, avec des valeurs proches pour la

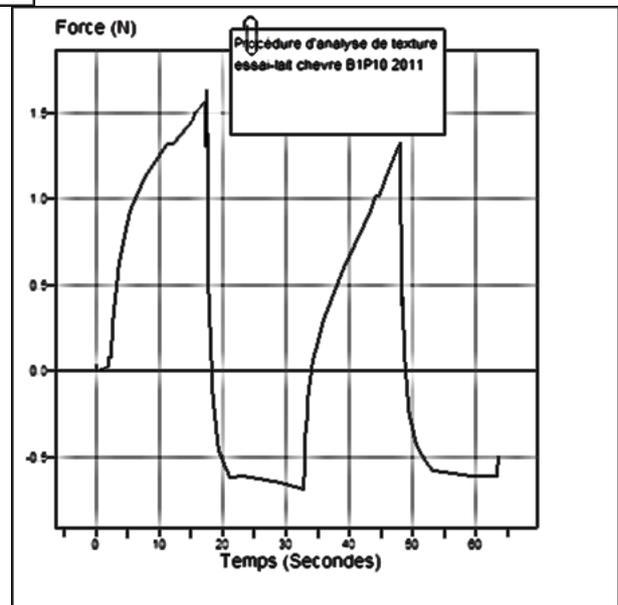
cohésion. Cependant, l'élasticité, l'adhésion et la masticabilité ont des valeurs plus élevées que celles dans *Bouhezza* de chèvre.

Tableau 39. Résultats du profil de la texture du fromage affiné *Bouhezza* de chèvre des fabrications expérimentales (F1) et de ferme (F4 de Tébessa et F7 d'Oum El-Bouaghi).

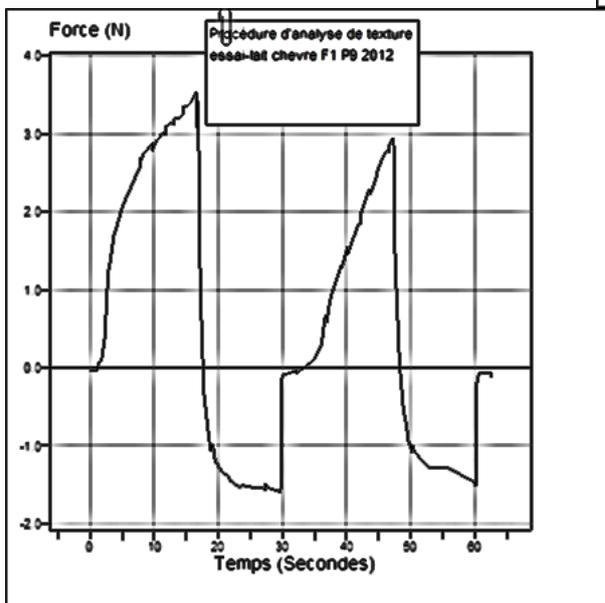
	F1 expérimentale	F4 de ferme Tébessa	F7 de ferme OEB
Dureté 1 (N)	1,21±0,36	1,78±0,15	3,04±0,49
Dureté 2 (N)	1,07±0,34	1,41±0,08	2,55±0,40
Cohésion	0,65±0,07	0,53±0,03	0,51±0,01
Souplesse (élasticité) (mm)	6,45±0,29	6,87±0,04	6,71±0,02
Adhésion (N)	0,77±0,15	0,94±0,03	1,57±0,29
Masticabilité (Nmm)	4,89±0,74	6,47±0,22	10,50±1,88



(a)



(b)



(c)

Figure 34. Graphes représentant l'analyse du profil de texture (TPA) des échantillons de fromage *Bouhezza* de chèvre (a.F1) expérimentale et de ferme (b.F4 et c.F7).

Tableau 40. Fiche technique (carte) d'identité du fromage traditionnel *Bouhezza* préparé au lait cru de chèvre

Pays	Algérie
Nom du fromage	<i>Bouhezza, Milh dhouaba, Boumellal, Bouazza, fromage arabe</i>
Aire géographique	Est de l'Algérie dans la région <i>Chaouia</i>
	Wilaya : Oum El-Bouaghi, Tébessa, Khenchela, Batna, Souk Ahras
CARACTERISTIQUES	
Matière première Type Poids-forme Aspect Matière grasse Extrait sec	Lait de Chèvre, vache ou de brebis (seul ou en mélange). Fraiche coagulation en fromage acide. Poids et formes indéfinies. Pâte humide de couleur blanche avec crème avec rouge – orange après être épicé au piment rouge piquant. Fromage avec MG/EST entre 27 à 47,5% Pâte avec Extrait sec environ 30% jusqu'à 55% (moyenne autour de 40%).
SPECIFICATIONS	Préparation du container ; sac flexible et perméable préparé à partir de peaux d'animaux, de chèvre ou de brebis appelé ' <i>Chekoua</i> ou <i>djeld</i> de <i>Bouhezza</i> '.
CLASSIFICATION	Affinage dans la masse, fromage à pâte demi-molle à molle, mi-gras à tout-gras.
Technologie a- Matière première -ajustement en MG b-coagulation -type Auxiliaire de température Temps de coagulation c-égouttage -type d-salage -Type -Taux de chlorure (taux de sel) -Procédés après salage e-Affinage -Type - HR de l'air -Durée f-Emballage/conservation -Type -Durée de Conservation -Consommation	Barattage et écrémage manuel du <i>Lben</i> de chèvre Lait cru entier de chèvre. Exclusivement coagulation acide. acidification naturelle spontanée. Température ambiante 12 à 24 heures jusqu'à 72h Spontané à travers les pores du <i>Djeld</i> ou <i>Chekoua</i> . Dans le <i>Lben</i> ou en masse dans le fromage 20-25 g/L de la matière première homogénéisation du contenu de la <i>Chekoua</i> affinage non contrôlé dans la masse (à l'intérieur de la pâte fromagère) humidité relative naturelle 1 à 5 mois. Dans la <i>Chekoua</i> ou Jarre en poterie. Vendu dans des sacs alimentaires ou pots en plastique Durant 5 mois après fabrication Pain ou additionné aux plats traditionnels.

Conclusion partielle

L'affinage est un processus dynamique en perpétuelles activités, enzymatiques surtout et d'autres phénomènes non enzymatiques qui ont lieu au cours de cette étape de la vie d'un produit aussi riche en nutriments et composés apportant des sensations d'engouements tels que goûts et saveurs, et très prisé par les consommateurs ; le fromage. Bouhezza est un produit très spécifique, fabriqué au lait cru, transformé en lait fermenté, le Lben. Une première transformation portant des modifications de structure, de nature et surtout de goût avec une première étape d'hydrolyse du lactose et de protéolyse. L'opération d'écémage est très importante dans la mesure où elle permet la préservation des qualités gustatives futures du fromage en évitant le rancissement ou des modifications indésirables dues à la matière grasse. Ces premières étapes sont dues aux enzymes indigènes du lait qu'est la plasmine et la cathepsine qui commencent leur activité au cours de la première transformation avec celles des bactéries lactiques qui transforment le lactose en acide lactique. Les transformations au cours de l'affinage apparaissent à travers les preuves apportées par les différentes techniques utilisées dans notre caractérisation via l'analyse du taux de protéines qui va en augmentant au cours de l'affinage, des fractions protéiques montrant un taux de protéolyse modéré mais avéré et se situant dans un intervalle acceptable par rapport à ce qui est rapporté par la littérature. Ce phénomène biochimique très important est mis en exergue par les techniques d'électrophorèse SDS PAGE et Urée PAGE qui ont montrés l'apparition de fragments de protéolyse des protéines du fromage. Les caséines sont hydrolysées au cours de l'affinage donnant des fractions peptidique mise en évidence par la RP HPLC, qui à leur tour sont hydrolysés en petit peptides et AAL. Ces derniers sont mis en valeur à travers leur apparition dans les chromatogrammes d'HPLC et par leur dosage direct. La lipolyse est déterminée par la présence d'AGL qui est estimée par l'indice d'acidité ou le taux de lipolyse qui est proche de certains fromages de chèvre. Leur dosage par CPG où il est montré que les AGL à courte chaîne sont assez importants étant donné qu'ils contribuent très fortement à apporter les propriétés gustatives du fromage Bouhezza. Ainsi l'analyse sensorielle réalisée a classé Bouhezza comme fromage à texture tartinable, lisse et onctueuse et une odeur lactique et animale avec une intensité d'arôme moyenne. Les petits fragments des caséines et leur unité de bases seront aussi dégradés aboutissant à des molécules qui contribuent à la satisfaction hédonique du consommateur par les composants volatiles et aromatiques déterminés par GC/MS avec un nombre appréciable de molécules classées en sept groupes ;esters, acides carboxyliques, alcools, aldéhydes, cétones, terpènes et composés divers participant à donner le goût et saveur spécifique au Bouhezza de chèvre.

Conclusion finale

Conclusion

Le résultat de l'enquête, qui s'est déroulée non sans difficulté, d'accéder à la source de l'information. Il avait fallu des personnes habitant les localités enquêtées ou des membres de la famille, pour atteindre les objectifs de l'enquête et a abouti tant bien que mal, à sa fin. Nous avons confirmé le diagramme déjà décrit par l'équipe TEPA et relevé quelques spécificités d'une famille à une autre. Le diagramme regroupe toutes les étapes de fabrication, qui sont presque similaires chez l'ensemble des familles enquêtées.

Le fromage Bouhezza, continue à être présent entre les fabrications traditionnelles, en dépit de l'évolution de l'industrie alimentaire, surtout dans la région Est et plus particulièrement en raison de l'héritage de cette pratique chez les Chaouias.

La fabrication de Bouhezza est confirmée dans 12 dairates d'Oum El-Bouaghi avec 39 communes, 10 dairates de Tébessa et 14 communes, 08 Dairates de Khenchela et 18 communes, 03 dairates de Batna dont 05 Communes et 03 dairates de Souk Ahras dont 4 communes. Une wilaya de plus par rapport à ce qui a été rapporté par l'équipe TEPA.

*Dans la wilaya de Tébessa surtout à Chréa et à Hammamet, le fromage en plus du nom **Bouhezza**, le plus usité, porte la dénomination « **Milh Dhouaba** ».*

La fabrication du Bouhezza est caractérisée par l'utilisation d'une peau d'animaux, comme contenant de cette matière et séparateur entre deux phases différentes (de lactosérum et le contenant du Lben ; protéines, matières grasses, etc.), appelée « Djeld ou Chekoua de Bouhezza ». C'est un sac souple et perméable, fabriqué à partir de peau d'animaux (chèvre, brebis, agneau, chevreau), entière non fendue. L'outre est considérée comme un contenant de la masse fromagère, moyen d'égouttage et de conservation de fromage. La peau la plus utilisée est surtout celle de chèvre. Ces résultats de l'enquête ont été déjà rapportés par l'équipe TEPA.

La préparation du fromage Bouhezza, est lancée avec une quantité de matière première, du Lben partiellement ou totalement écrémé. Le salage, se fait directement dans le Lben (55,6 %) chez la majorité des familles enquêtées, ou dans la pâte fromagère (31,4 %). Les ajouts de matière première se font en fonction de la vitesse de l'égouttage et la disponibilité de la matière première. La Chekoua (ou Djeld) est suspendue dans un endroit frais et aéré, et subit un nettoyage périodique assurée par grattage et un lavage régulier quotidien de la face externe pour éviter les altérations du fromage. La Chekoua est aussi lavée après chaque ajout de matière première (Lben et lait cru), afin d'éviter les altérations possibles. L'assaisonnement de la pâte fromagère est effectué avec le piment rouge piquant qui améliore la qualité organoleptique du fromage et augmente la durée de sa conservation.

Bouhezza est consommé directement tel qu'il est après la fin d'affinage (2 à 3 mois) chez la majorité des familles. Il peut aussi être consommé après un mois de fabrication. Des familles le conservent pendant 5 à 12 semaines ; soit dans le Djeld ou dans des jarres en poterie durant 5 à 6 mois après la fabrication. Il est additionné à plusieurs plats traditionnels, et peut être consommé en tartines.

*Les bactéries lactiques étaient les principales bactéries de la microflore du fromage de Bouhezza de chèvre comme rapporté par l'équipe TEPA pour le fromage de vache. Le nombre moyen des LAB, lactocoques et lactobacilles indigènes a évolué au cours de l'affinage avec une légère diminution du 8^{ème} au 42^{ème} jour respectivement (8,91-8,24 log ufc / g) et (7,95-7,77 log ufc / g), et est resté stable pour les lactocoques 8,24 log ufc / g avec une légère augmentation des lactobacilles à 8,44 log ufc / g, au cours des 15 derniers jours. Le nombre de lactocoques était plus élevé que celui des lactobacilles durant la maturation excepté à la fin de fabrication où le nombre de ces derniers est devenu plus élevé que celui des lactocoques. Les principales espèces identifiées étaient *Lb. plantarum*, *Lb. fermentum*, *Lb. helveticus* *Lb. acidophilus* et *Lc. lactis subsp. cremoris*. La flore fongique sous forme de levures et de moisissures a augmenté du 8^{ème} au dernier jour d'affinage (en moyenne de 4,20 à 6,10 log ufc / g). L'absence de flore pathogène et le faible nombre de CT (de 1,59 à 1,67) et CF (1,03 à 0,98 log ufc/g) entre 8 et 64j, a montré que le fromage est un produit fiable et de qualité hygiénique et microbiologique satisfaisante.*

Cette première caractérisation du fromage Bouhezza produit à partir de lait cru de chèvre, a permis de situer ses paramètres physicochimiques et biochimiques ; tel qu'un pH acide entre 3,6 et 4,2 ; une acidité atteignant 1,8 à 1,9 g/100g d'acide lactique ; un extrait sec moyen compris entre 30 et 42% ; le taux de chlorures entre 1,20 et 1,30 g de NaCl/100g de fromage avec un taux de cendres entre 2,73 et 2,63% en moyenne entre le 1^{er} et 54^{ème} jour de fabrication. Un taux de protéines/EST allant de 15 à plus de 33% à partir de la 6^{ème} semaine d'affinage jusqu'en fin de production au-delà de 2 mois et enfin le taux de matière grasse/EST qui est tributaire de l'écémage s'est située entre 38 et 47% en fin de production. L'ensemble de ces résultats a permis le classement de Bouhezza en fromage affiné principalement dans la masse, à pâte molle et mi-gras (TEFD de 75,5% et un MGES de 42,5%), et a montré une protéolyse et un profil aromatique riche en composés volatiles du fromage. Le niveau de protéolyse est modéré dans le fromage Bouhezza au lait cru de chèvre. Des comparaisons et rapprochement par rapport aux caractéristiques de Bouhezza de vache ont été apportés au cours de la discussion des résultats.

Le profil protéique a été déterminé par SDS-PAGE, urée-PAGE, RP-HPLC et a montré les nouvelles fractions protéiques impliquées dans le développement des caractéristiques organoleptiques du fromage durant la maturation. Comme rapporté pour le Bouhezza de vache.

Deux descripteurs principaux ont été décrit par l'analyse sensorielle de Bouhezza ; arôme (arôme lactique) et odeur (odeur lactique acide).

Par l'étude des phénomènes de protéolyse et lipolyse ayant lieu pendant l'affinage, nous avons confirmé la décomposition des protéines et de la matière grasse impliquées dans le processus de libération des produits d'hydrolyse, précurseurs de molécules de petites tailles qui contribuent aux caractéristiques sensorielles et gustatives du fromage Bouhezza au lait cru de chèvre. L'affinage est un processus biochimique de libération de fractions telles que polypeptides, peptides, acides aminés libres (AAL) ainsi que acides gras libres (AGL) principalement à chaîne courte et moyenne et la libération des AGI dans la matrice du fromage.

Il a été déterminé, l'essentiel des composés volatiles contributeurs principaux au caractère caractéristique dans ce fromage au lait de chèvre (les niveaux sont plus élevés à 72 j qu'à 50 et 30j), répartis en sept groupes qui constituent la base de l'arôme et du goût du fromage représentant l'empreinte aromatique du Bouhezza obtenu à partir du lait cru de chèvre. Le profil aromatique des composés volatiles était riche en acides carboxyliques (libérés par lipolyse) et en leurs esters et alcools, précurseurs d'autres composés volatiles aromatiques issus de la dégradation des protéines. Bouhezza de chèvre paraît plus riche en ces composés volatiles que ceux de Bouhezza de vache rapporté par l'équipe TEPA.

Les résultats de cette étude ont permis d'établir la carte technique du fromage Bouhezza au lait cru de chèvre. Cette fiche est une sorte de carte d'identité de Bouhezza où est rassemblé l'essentiel des informations concernant ce fromage. Cette carte est proche de celle de Bouhezza de vache en certains points mais différente en d'autres dont se caractérise Bouhezza de chèvre.

D'autres études sont nécessaires pour déterminer les principales espèces bactériennes ayant un rôle crucial dans la maturation, avec celles présentes dans la peau, qui contribuent au processus biochimique impliqué dans le fromage. De plus, les probiotiques et les espèces ayant un rôle antimicrobien durant la maturation doivent également faire l'objet de recherches.

L'accompagnement des principaux acteurs de la filière lait caprin par des encouragements. Mise en place d'un tracé d'un plan de route pour atteindre des productions de grande échelle, dans de grands ateliers selon les prescriptions traditionnelles, de Bouhezza dans les régions de Chaouia, contribuerait à un développement durable dans certaines régions démunies et apporterait une prospérité et stabilité des agriculteurs-éleveurs.

Références bibliographiques

Références Bibliographiques

1. **Achemchem F., Abrini G., Martenez M., Valdivia E. et Maque D., 2004.** Purification et caractérisation d'une bactériocine anti *Listeria* isolé de Jben de chèvre. Université Abdelmalek ESSAADI, Tétouan, Maroc 2/ Département de microbiologie. Facultad de ceins. Universidad de Granada. Espagne, <http://pers.ma/smbbm/congress>
2. **Addeo F., Garro G., Intorcia N., Pellegrino L., Resmini P., Chianese L., 1995.** Gel electrophoresis and immunoblotting for the detection of casein proteolysis in cheese. *Journal of Dairy Research*, 62, 207-309.
3. **AFNOR, 1995 :** Recueil des normes françaises, normes générales de méthodologie. 5ème édition AFNOR, 400 p.
4. **AFNOR, 1993 NF V 04-210, Recueil des normes françaises.** Contrôle de la qualité des produits alimentaire : lait et produits laitiers. Analyse physico-chimique. *Afnor-dgccrf.* (4ème Ed.). Paris : La Défense, 562 p.
5. **Aissaoui Zitoun O., 2004.** Fabrication et caractérisation d'un fromage traditionnel algérien « Bouhezza ».Mémoire de magister INATAA. Université de Constantine, 138p.
6. **Aissaoui Zitoun O., et Zidoune M.N., 2006.** Le fromage traditionnel algérien 'Bouhezza'. Séminaire d'Animation Régional ' Technologies douces et procédés de séparation au service de la qualité et de linnocuité des aliments' INSAT — Tunis (communication oral), Tunisie / 27 — 28 — 29 Novembre Actes des sommaires. Pp.118-124.
7. **Aissaoui Zitoun O., Benatallah Le., Ghennam El-H., Zidoune M.N., 2011.** Manufacture and characteristics of the traditional Algerian ripened *Bouhezza* cheese. *Journal of Food, Agriculture & Environment.* 9:96-100.
8. **Aissaoui Zitoun O., Pediliggieri C., Benatallah Le., Lortal S., Licitra G., Zidoune M. N., Carpino S., 2012.** Bouhezza, a traditional Algerian raw milk cheese, made and ripened in goatskin bags. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 10, 289-295.
9. **Aissaoui Zitoun Ouarda Ep. Hamama, 2014.** Fabrication et caractérisation d'un fromage traditionnel algérien « *Bouhezza* » ; Thèse de doctorat, Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires (INATA-A), Université Constantine 1-Algérie. p160.
10. **Alais C. & Linden C., 1997.** Abrégé de biochimie alimentaire, 4^{ème} édition Masson, Paris .p 248.
11. **Alais Charles, Guy Linden, Laurent Miclo, 2008.** Biochimie alimentaire6^e édition de l'abrégé, IUT. Licence. Ecoles d'ingénieurs, Dunod, Paris, p 260.
12. **Amiot J., Fournier S., Lebeuf Y., Paquin P., et Simpson R., 2002.** Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait dans Sciences et Technologies du lait, transformation du lait par **Carole L. Vignola.** Edition Presses Internationales Polytechnique. Pp1-73. 603p.
13. **Andrews A.T., 1983.** Proteinases in normal bovine milk and their action on the caseins. *Journal of Dairy Research.* 50:45-55.
14. **AOAC, 1995.** Official Methods of Analysis. Vol. II, 16th Ed; Association of Official Chemists International: Arlington, VA.
15. **AOAC, 1997.** Association of official Analytical Chemistry. Official Methods of Analysis. 15th edition. Washington. D.C.

Références bibliographiques

16. **AOAC, 2002.** Association of Official Analytical Chemistry. Ash of cheese. Official method, 935. 42, pp33-71.
17. **Apfelbaum M., Romon M. et Dubus M., 2004.** Diététique et nutrition, 6ème édition Masson, 534 p.
18. **Ardo Y., Petterson H.E., 1988.** Accelerated cheese ripening with heat-treated cells of *Lactobacillus helveticus* and a commercial proteolytic enzyme, J. Dairy Res. 55 239–245.
19. **Aston J.W., Douglas K., 1983.** The production of volatile sulphur compounds in Cheddar cheeses during accelerated ripening, Aust. J. Dairy Technol. 38: 66–70.
20. **Audigié C., Figarella J. et Zouzzain F., 1984.** Manipulations d'analyses biochimiques Ed DOIAN, 1^{ère} édition. Paris 274 p.
21. **Audigié C., et Zonszain F., 1995.** Collection Biosciences et Techniques : Biochimie métabolique. 3^{ème} édition Doin. P.263.
22. **Benmessai W. et Fethallah Z., 2009.** Le fromage traditionnel *Bouhezza* : Suivi des caractéristiques physicochimiques de *Bouhezza* au lait de vache et de mélange (vache et chèvre). Mémoire d'ingénieur, INATAA, Université Mentouri Constantine, Algérie. 86p.
23. **Berodier F., Lavanchy P., Zannoni M., Casals J., Herrero L. et Adamo C., 2003.** Guide d'évaluation olfacto-gustative des fromages à pâte dure et semi-dure. /version miguidef.doc. Version abrégée, 26p.
24. **Bérodier F.; Lavanchy P.; Zannoni M.; Casals J.; Herrero L.; Adamo C. (1997),** Guide dévaluation olfacto-gustative des fromages à pâte dure et semi-dure. Lebensmittel-Wissenschaft und –Technologie. 30, 653-664.
25. **Bertozzi L. and Panari G., 1993.** Cheeses with *Appellation d'Origine Contrôlée* (AOC): factors that affect quality. *Int.Dairy J.* 3, 297–312.
26. **Blakesley R.W., Boezi J.A. (1977).** A new staining technique for proteins in polyacrylamide gels using Comassie Brilliant Blue G250. *Analytical Biochemistry.* 82:580-581.
27. **Bontinis Th.G., Mallatou H., Alichanidis E., Kakouri A. and Samelis J., 2008.** Physicochemical, microbiological and sensory changes during ripening and storage of Xinotyri, a traditional Greek cheese from raw goat's milk. *Int. J. Dairy Technol. Vol 61, No 3* :229-236.
28. **Bontinis Th.G., Mallatou H., Pappa E.C., Massouras Th., Alichanidis E. (2012).** Study of proteolysis, lipolysis and volatile profile of a traditional Greek goat cheese (Xinotyri) during ripening, *Small Ruminant Research.* 105:193–201.
29. **Bourne Malcolm, 1978.** Texture profile analysis. *Food Technol* 32:62-66.
30. **Broome M.C., Krause D.A., Hickey M.W., (1990)** The use of non-starter lactobacilli in Cheddar cheese manufacture, *Aust. J. Dairy Technol.* 45: 67–73.
31. **Brulé G., Lenoir J. et Ramet J.P., 1997.** Les mécanismes généraux de la transformation du lait en fromage Chapitre 1 : La micelle de caséine et la coagulation du lait. Dans *Le fromage.* Ed. Eck A. et Gillis J.C. 3ème ed. Tec et Doc. Lavoisier. Pp.7-39. 875p.
32. **Brule G. et Lenoir J., 1987.** La coagulation du lait Dans le fromage d'ECK A Ed. Tec et doc. Lavoisier. Paris. Pp (1-20). 539p.

33. **Brule G. et Lenoir J. (1987)**. Les mécanismes généraux de la transformation du lait en fromage, chapitre 1 : La coagulation du lait dans Le Fromage par **Eck André**, 2^{ème} édition Tec et Doc (Lavoisier)-Paris. Pp 1-21. 540p.
34. **Carunchia Whetstine, M.E., Karagul-Yuceer, Y., Avsar, Y.K., Drake, M.A. (2003)**. Identification and Quantification of Character Aroma Components in Fresh Chevre-style Goat Cheese. *Journal of Food Science*. 68:2441-2447.
35. **Castillo I., Calvo M.V., Alonso L., Juarez M., Fontech J. (2007)**. Changes in lipolysis and volatile fraction of a goat cheese manufactured employing a hygienized rennet paste and a defined strain starter, *Food Chemistry*. 100:590-598.
36. **Choisy C., Desmazeaud M.J., Gripon J.C., Lambert G. et Lenoir J., (1997)**. Partie I, Les mécanismes généraux de la transformation du lait en fromage. Chapitre 4, La biochimie de l'affinage dans "Le fromage", 3^{ème} édition Tec et Doc Lavoisier, Ed Eck A., Gillis J-C. pp 86 – 153, 875 p.
37. **Cogan T.M., Barbosa, M., Beuvier E., Bianchi-Salvadore B., Coconcelli P.H., Fernandez P.S., Gomez I., Kalantzopoulos G., Ledda A., Medina M., Rea, M.C., Rodriguez E. (1997)**. Characterization of the lactic acid bacteria in artisanal dairy products. *Journal of Dairy Research*. 64:409-421.
38. **Collins Y.F., McSweeney P.L.H., Wilkinson M.G., 2003**. Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. *International Dairy Journal*. 13:841–866.
39. **Curioni P.M.G. et Bosset, J.O., 2002**. Key odorant in various cheese types as determined by gaz chromatography-olfactometry. *International Dairy Journal*. 12: 959-984.
40. **Codex Alimentarius STAN A-6-1978** Amendé en 2006. Normes générales codex pour le fromage - Méthodes d'échantillonnages d'analyse. Pp 1-5.
41. **Courroye M., 1987**. L'indice d'affinage. Un nouveau moyen de suivre la protéolyse des fromages à pâte cuite par cryoscopie. *Les IAA*, mars, 169-173.
42. **Damerval C., Vienne D., Zivy M., Tarroux P. et Vincens P., 1993**. Electrophorèse bidimensionnelle des protéines, *Biofutur*. 123 : 3-10.
43. **Delgado Francisco José, José González-Crespo, Ramón Cava, Jesús García-Parra, Rosario Ramírez, 2009**. Characterization by SPME–GC–MS of the volatile profile of a Spanish soft cheese P.D.O. Torta del Casar during ripening.. *Food Chemistry*. 118:182–189.
44. **De Llano D.G, Polo C.M and Ramo M., 1995**. Study of proteolysis in Artisanal Cheeses: High Performance liquid Chromatography of peptides. *Journal of Dairy Science* 78: 1018-1024.
45. **Desmazeaud J.M., 1996**. Les bactéries lactiques dans l'alimentation humaine, utilisation et innocuité dans « Alimentation et Santé » Tome 1 par De Roissart et Luquet F.M. Lorica. Pp : **330-343**.
46. **Ercolini D., Frisso G., Mauriello G., Salvatore F. and Coppola S., 2008**. Microbial diversity in natural whey cultures used for the production of Caciocavallo Silano PDO cheese. *Int.J.Food. Microbiol*, 96: pp 263-270.
47. **Ercolini D., 2004**. PCR-DGGE fingerprinting: novel strategies for detection of microbes in food. *Journal of Microbiological Methods*. 56:297-314.
48. **Fallico V, Mc Sweeney P.L.H, Siebert K.J, Horne J, Carpino S and Licitra G., 2004**. Chemometric analysis of proteolysis during ripening of Ragusano cheese. *J. Dairy Sc.* 87:3138-3152

49. **Fallico V, McSweeney P.L.H, Siebert K.J, Horne J, Pediliggieri C, Hanone J, Carpino S and Licitra G.,2005.** Evaluation of bitterness in Ragusano cheese. *J.Dairy Sci.* 88:1288-1300
50. **FAO / OMS, 1974 OMS/FAO, 1974.** Terminologie de l'alimentation et de la nutrition. Définition de quelques termes et expressions d'usage courant OMS/FAO, Genève : 54p
51. **FAO, 1997.** Manuals of food quality control. Food analysis general techniques, additives, contaminants and food composition N°14, volume 7. FAO Food nutr. pap. Rome, 230 p.
52. **FAO, 1999.** Conduite des petites enquêtes nutritionnelles, manuel de terrain .FAO : 180 p
53. **FIL (Fédération Internationale du Lait); International Dairy Federation, (IDF), 1993.**Standard Method 20B: Milk. Determination of nitrogen content, (Kjeldahl Method) and Calculation of the Crude Protein Content. Part 1 and 2. International Dairy Federation, Brussels, Belgium.
54. **FIL (Fédération Internationale du Lait) IDF 94 : ISO 6611. 2004.** Milk and milk products- Enumeration of colony- forming units of yeasts and/or moulds- Colony-count technique at 25°C. Second edition.
55. **Folch J., Lees M., Sloane S. G. H. (1957).** A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *In* Données sur la composition des aliments : Production, Gestion et Utilisation. Second edition. Edition: In foods. Rome. Pp497- 509.
56. **Fox P.F., 1992.** Advanced Dairy Chemistry 1 proteins ElsevierApplied Science, London.
57. **Fox P.F., Singh T.R. and McSweeney P.L.H. 1994:** Proteolysis in cheese during ripening. *In* biochemistry of milk products (ed. FOX.P.F.) p1-31. The royal society of chemistry.
58. **Fox P.F.; McSweeney P.L.H. (1997)** Rennets : their role in milk coagulation and cheese ripening in Microbiology and Biochemistry of cheese and fermented milk, Edited by B.A.Law , 2nd edition Blackie academic&professional., Pp 1-40, 363p.
59. **Fox P. F., Guinee T. P., Cogan T. M., & McSweeney P. L. H., 2000.** Chapitre 1: Overview of cheese manufacture in Fundamentals of Cheese Science. Gaithersburg, Maryland: Aspen Publishers, Inc. Edition: Springer. USA. Pp10-17. 559p.
60. **Fredot E., 2006.** Connaissances des aliments. Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. Ed Tec et Doc, 397 p.
61. **Galan P. et Hercberg S., (1985).** Les enquêtes alimentaires. Utilisation dans les études épidémiologiques à visée nutritionnelle. *In* : Nutrition et santé publique—Approche épidémiologique et politique de prévention, Hercberg S., Dupin H., Papoz L. et Galan P. ed.Lavoisier, Tec & Doc, pp156–75, (709 p.).
62. **Georgala A., Moschopoulou E., Aktypis A., Massouras T., Zoidou E., Kandarakisand I., Anifantakis E. (2005).** Evolution of lipolysis during the ripening of traditional Feta cheese. *Food Chemistry.* 93:73-80.
63. **Gilliland S.E., 1985.** Bacterial starter cultures for foods crc press, Boca Raton, Florida.
64. **Goudedranche A, Camier. Caudron B, Gassi J-K, et Schuk P. (2001).** Procédés de transformation fromagère (partie 1), Technique de l'ingénieur (LRTL, INRA). F 6 305- 2- F 6 307.
65. **Gripon J. C., 1993.** Mould-ripened cheeses. *In* P. F. Fox, Cheese: Chemistry, physics and microbiology, 2nd edition London: Chapman & Hall. Vol. 2.Pp. 111–136.

66. **Grubben G.J.H., O.A.Denton, 2004.** Ressources végétales de l'Afrique Tropicale 2: Légumes. [Traduction de: Plant Resources of Tropical Africa 2. Vegetables. 2004] Fondation PROTA, Wageningen, Pays Bas/ Backhuys Publishers/ Leiden, Pays Bas / CTA, Wageningen, Pays Bas .737pp.
67. **Guillen María D., Ibargoitia María L., Sopelana P., Palencia G. (2004).** Components detected by headspace-solid phase microextraction in artisanal fresh goat's cheese smoked using dry prickly pear (*Opuntia ficus indica*). *Lait*. 84:385-397.
68. **Guiraud J. Pierre., 1998.** Microbiologie alimentaire. Technique et ingénieur, Série Agroalimentaire, éditeur Dunod, Pp 79-168, 652p,
69. **Guiraud J.P., 2003.** Microbiologie alimentaire, édition DUNOD, Tec et Doc Lavoisier, Paris, Pp 136-137 652p.
70. **Guiraud J.P. et Rosec J.P., 2004.** Pratique des normes en microbiologie alimentaire. AFNOR. France. p243, p248.
71. **Hassan Fatma A. M., Mona A M*, Abd El- Gawad, A. K. Enab., 2013.** Flavour Compounds in Cheese (Review). *Research on Precision Instrument and Machinery Vol. 2 Iss. 2*, 15-29
72. **Hardy J., 1987.** L'activité de l'eau et le salage des fromages dans le fromage par André Eck, 2^{ème} édition Tec. et doc. Lavoisier, .pp37-61. P 540.
73. **Hayaloglu A.A., Guven B.M., Fox, C.P.F., Hannonc J.A., McSweeney P.L.H., 2004.** Proteolysis in Turkish White Brined cheese made with defined strains *Lactococcus*. *International Dairy Journal*. 14:599-610.
74. **Hayaloglu Ali. A. ; Fox Patrick F. ; Guven Mehmet, Cakmakci Songul. 2007a.** Cheeses of Turkey : 1. Varieties ripened in goat-skin bags. *Lait* 87: 79–95.
75. **Hayaloglu A.A., Cakmakci S., Brechany E.Y., Deegan K.C. and McSweeney P.L.H., 2007b.** Microbiology, Biochemistry, and Volatile Composition of Tulum Cheese Ripened in Goat's Skin or Plastic Bags. *J. Dairy Sci.* 90:1102–1121.
76. **Hayaloglu A.A., Guven M., Fox P.F. 2007.** Review, Microbiological, biochemical and technological properties of Turkish White cheese 'Beyaz Peynir', *International Dairy Journal* 12 (2002). pp 635 - 648.
77. **Hayaloglu A. A., and E. Y. Brechany. (2007).** Influence of milk pasteurization and scalding temperature on the volatile compounds of Malatya, a farmhouse Halloumi-type cheese. *Lait* 87:39–57.
78. **Hayaloglu A.A., Guven M., Fox, P.F., McSweeney P.L.H., 2005.** Influence of starters on Chemical, Biochemical, and Sensory Changes in Turkish White-Brined Cheese during Ripening. *Journal of Dairy Science*. 88:3460-3474.
79. **Hayaloglu A. A., and Y. Karagul-Yuceer, 2011.** Utilization and characterization of small ruminants' milk and milk products in Turkey: status and new perspectives. *Small Rumin. Res.* 101:73–83.
80. **Hayaloglu A.A., Tolu C., Yasar K., and Sahingil D., 2013.** Volatiles and sensory evaluation of goat milk cheese Gokceada as affected by goat breeds (Gokceada and Turkish Saanen) and starter culture systems during ripening. *Journal of Dairy Science*. 96:2765-2780
81. **Holland R., Liu S.-Q. Crowa V.L., Delabre M.-L., Lubbers M., Bennett M. and Norris G., 2005.** Esterases of lactic acid bacteria and cheese flavor: Milk fat hydrolysis, alcoholysis and esterification. *International Dairy Journal*. 15: 711-718.

82. **Jany J.L. et Barbier G., 2008.** Culture-independent methods for identifying microbial communities in cheese: review. *Food Microbiology*.25: 839-848.
83. **Jeantet Romain, Thomas Croguennec, Pierre Schuck , Gérard Brulé, 2007.** Science des Aliments, Biochimie. Microbiologie. Procédés. Produits, Edition Tec & Doc, 2. Technologie des produits alimentaires, 456 p.
84. **Jeantet Romain, Thomas Croguennec, Michel Mahaut, Pierre Schuck, Gérard Brulé, 2008.** Les Produits laitiers 2^{ème} Edition Tec & Doc, Lavoisier, Paris, 185 p.
85. **Johnson William A., 2003.** Invitation à la chimie organique. Collection chimie. Éditeur De Boeck Supérieur.737p.
86. **Journal Officiel Algérien, 2004.** Arrêté du 4 Rabie Ethani 1425 correspondant au 24 mai 2004 rendant obligatoire une méthode de recherche des staphylocoques à coagulase positive pour le lait en poudre.
87. **Journal Officiel Algérien, 2005.** Arrêté du 13 Dhou El Hidja 1425 correspondant au 23 janvier 2005 rendant obligatoire une méthode de recherche des salmonella dans le lait et les produits laitiers. JO N°42 du 8 Joumada El- Oula 1426 du 15 juin 2005, pp7-10.
88. **Journal Officiel Algérien, 1993.** Arrêté interministériel de 29 safar 1414 correspondant au 18 août 1993 relatif aux spécifications et la présentation de certains laits de consommation.
89. **Journal officiel N° 35 du 27 Mai 1998 de la RADP.** Arrêté interministériel du 25 Ramadhan 1418 correspondant au 24 janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires.
90. **Joffin C. et Joffin J. Noel, 2000.** Microbiologie Alimentaire. 5^{ème} édition. Centre régional de documentation pédagogique (CRDP) d'Aquitaine Bordeaux. France. 212p.
91. **Kalit M.Tudor, Kalit S. and Havranek J., 2010.** An overview of researches on cheeses ripening in animal skin. *Mljekarstvo*, 60 (3), 149-155.
92. **Kelly M., Fox P. F., & McSweeney P. L. H., 1996.** Influence of saltin-moisture on proteolysis in Cheddar-type cheese. *Milchwissenschaft*, 51, 498–501.
93. **Laborda M.A and Rubiolo A.C., 1999.** Proteolysis of fynbo cheese salted with NaCl/KCl and ripened at two temperatures. *Journal of Food Science* 64(1): 33-36.
94. **Laurent S., Federighi M.et Jouve J.L., 1998.** Manuel de bactériologies alimentaire. Polytechnica. Paris. p308.
95. **Lemens P., 1985.** Propriétés physico-chimique, nutritionnelles et biochimique du lait. Edit. Technique et documentation-Lavoisier. Paris. pp. 2-21.
96. **Le Quéré J-L., Pierre A., Riaublanc A., Demaizières D., 1998.** Characterization of aroma compounds in the volatile fraction of soft goat cheese during ripening. *Lait* 78:279-290.
97. **Leseur R. et Melik N., 1990.** Chapitre 1 : Lait de consommation (3–16), dans Lait et produits laitiers vache.Brebis.Chèvre.2, les produits laitiers, transformation et technologies. Coordonnateur **Luquet F.M**, 2^{ème} édition : Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 637 p.
98. **Leveau J-Y. et Bouix M., 1993.** Microbiologie industrielle : les micro-organismes d'intérêt industriel. Sciences et Techniques Agro-Alimentaire. Tec et Doc Lavoisier, Paris, France.Pp. 170-330.
99. **Leyral G., 2003.** Aliments et Boissons. filières et produits, éd. CRDP d'Aquitaine, Paris, pp 37-50.

100. **Licitra G.; Ogier J. C.; Parayre S.; Pediliggieri C.; Carnemolla T. M.; Falentin H.; Madec M. N.; Carpino S.; Lortal S. (2007).**Variability of the bacterial biofilms of the “tina”wood vat used in the Ragusano cheese making process. *Applied and Environmental Microbiology*, 73, 6980-6987.
101. **Liu S. Q., Holland R., Crow V.L., 2004.** Esters and their biosynthesis in fermented dairy products: A review. *Int. Dairy J.* 14, 923–945.
102. **Lowry O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr, et R.J. Randall, 1951.** « Protein measurement with the Folin phenol reagent », *J. biol. Chem.*, vol. 193, no 1, p. 265-275.
103. **Lynch CM. McSweeney P. L. H., Fox P.F., Cogan T.M. and Drinan F.D., 1997.** Contribution of starter lactococci and non-starter lactobacilli to proteolysis in Cheddar cheese with a controlled microflora. *Lait* 77:441-459.
104. **Malecky Mostafa, 2008.** Métabolisme des Terpénoïdes chez les Caprins. Thèse de Doctorat en Physiologie de la Nutrition animale (biotechnologie) de l’Institut des Sciences et Industries du vivant et de l’Environnement (AgroPariTech) Paris.205p.
105. **Mallatou Heleni, Eleni Pappa, Theophilos Massouras, 2003.** Changes in free fatty acids during ripening of Teleme cheese made with ewes’, goats’, cows’ or a mixture of ewes’ and goats’ milk. *International Dairy Journal*. 13:211-219.
106. **Massouras T., Pappa E.C., and Mallatou H., 2006.** Headspace analysis of volatile flavour compounds of Teleme cheese made from sheep and goat milk. *International Journal of Dairy Technology*. 59:250-256.
107. **McSweeney Paul L.H., Maria José Sousa, 2000.** Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Lait*, 2000 80, 293-324.
108. **McSweeney P.L.H., Fox P.F., Lucey J.A., Jordan K.N., Cogan T.M., 1993.**Contribution of the indigenous microflora to the maturation of Cheddar cheese. *Int. Dairy J.* 3, 613–634.
109. **McSweeney P.L.H, Fox P.F. and Olson N.F., 1995.** Proteolysis of bovine caseins by Cathepsin D: Preliminary Observations and Comparison with Chymosin. *International Dairy Journal*. 5:321-336.
110. **McSweeney P.L.H., Fox P.F., 1997.** Chemical methods for the characterization of proteolysis in cheese during ripening. *Lait* 77:41-76.
111. **McSweeney P.L.H., 2004.** Biochemistry of cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology*. 57: 127-144.
112. **McSweeney P.L.H., Ottogalli G. and Fox P.F., 2004.** Diversity of Cheese Varieties: An Overview in Cheese Chemistry, Physics and Microbiology Volume 2 Major Cheese Groups edited by Patrick F. Fox, Paul L.H. McSweeney, Timothy M. Cogan and Timothy P. Guinee. Third edition Elsevier Academic Press. pp1-22. 625p.
113. **Medina M. and M. Nuñez, 2004.** Cheeses Made from Ewes’ and Goats’ Milk in, *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology Volume 2. Major Cheese Groups* edited by Patrick F. Fox, Paul L.H. McSweeney, Timothy M. Cogan and Timothy P Guinee. Third edition Elsevier Academic Press, pp279-299. 625p.
114. **Medjoudj H.; Zidoune M. N.; Hayaloglu A. A., 2017.** Proteolysis and volatile profile in the Algerian traditional *Bouhezza* Cheese made using raw goat’s milk. *International Journal of Food Properties*. Vol 20. (8): 1876-1893.

115. **Michalski M., Gassi J., Famelart M., Leconte N., Camier B., Michel E. and Briard V., 2003.** The size of native milk fat globules affects physico-chemical and sensory properties of Camembert cheese. *Le Lait*. 83: 131-143.
116. **Moio L. and Addeo F., 1998.** Grana Padano cheese aroma. *J. Dairy Res.* 65, 317–333.
117. **Molimard P., Le-Quere J.L., Spinnler H.E., 1997.** Les lipides et la flaveur des produits laitiers, *Oléagin eux, Corps Gras Lipides* 4 (1997) 301–311.
118. **Molimard P., Spinnler H.E., 1996.** Review: Compounds involved in the flavor of surface Mold-Ripened cheeses: Origins and Properties: Review.. *Dairy Food, Journal of Dairy Science* .79:169-184.
119. **Molina E., Ramos M., Alonso L. and López-Fandiño R., 1999.** Contribution of low molecular weight water-soluble compounds to the taste of cheeses made of cows', ewes' and goats' milk. *Int. Dairy J.* 9, 613–621.
120. **Mulvihill D.M. and Fox, P.F., 1979.** Proteolytic specificity of chymosin on bovine α s1-casein. *J. Dairy Res.*46, 641-651.
121. **Nardi M., C. Fiez-Vandal, P. Tailliez and V. Monnet., 2002.** The EstA esterase is responsible for the main capacity of *Lactococcus lactis* to synthesize short chain fatty acid esters in vitro. *Journal of applied Microbiology* .93: 994-1002.
122. **Ogier J.-C., Lafarge V., Girard V., Rault A., Maladen V., Gruss A., Leveau J.-Y., Delacroix-Buchet A., 2004.** Molecular Fingerprinting of Dairy Microbial Ecosystems by Use of Temporal Temperature and Denaturing Gradient Gel Electrophoresis Applied andenvironmental Microbiology, 70.9, 5628–5643.
123. **Olson N.F., 1990.** The impact of lactic acid bacteria on cheese flavor. *FEMS Microbiol. Lett.* 87, 131–147.
124. **Ong L., Henriksson A. & Shah N P., 2006.** Development of probiotic cheddar cheese containing *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* and *Bifidobacterium* spp. and the influence of these bacteria on proteolytic patterns and production of organic acid. *Int. Dairy J.* 16, 446-456.
125. **Ortigos M., C. Arizcun P. Torre, and J. M. Izco., 2005.** Use of wild *Lactobacillus* strains in an adjunct culture for a Roncal-type cheese. *J. Dairy Res.* 72:168–178.
126. **Oteng-Gyang K., 1984.** Introduction à la microbiologie alimentaire dans les pays chauds. Ed.Tec et Doc (Lavoisier) Paris.260p.
127. **Parayre S.; Falentin H.; Madec M. N.; Sivieri K.; Le Dizes A. S.; Sohier D.; Lortal S., 2007.** Easy DNA extraction method and optimisation of PCR-Temporal Temperature Gel Electrophoresis to identify the predominant high and low GC-content bacteria from dairy products. *Journal of Microbiological Methods*, 69, 431-441.
128. **Pino A., Prados F., Galán E., McSweeney P.L.H., Fernández-Salguero J., 2009.** Proteolysis during the ripening of goats' milk cheese made with plant coagulant or calf rennet. *Food Research International*. 42:324-330.
129. **Poveda J.M., Sanchez-Palomo E., Perez-Coello M.S., Cabezas L., 2008.** Volatile composition, olfactometry profile and sensory evaluation of semi-hard Spanish goat cheeses. *Dairy Science and Technology*. 88:355-367.

130. **Prescott Lansing M., Harley John P. et Klein Donald A., 2004.** Microbiologie par Michelle Claire, Bacq Calberg et Jean Dusart. 5^{ème} édition de boeck. 1163p.
131. **Queiroga Rita de Cássia Ramos do Egypto, Bárbara Melo Santos, Ana Maria Pereira Gomes, Maria João Monteiro, Susana Maria Teixeira, Evandro Leite de Souza, Carlos José Dias Pereira, Maria Manuela Estevez Pintado., 2013.** Nutritional, textural and sensory properties of Coalho cheese made of goats', cows' milk and their mixture. *LWT - Food Science and Technology*.50:538-544.
132. **Ramet J.P., 1985.** La fromagerie et les variétés du bassin méditerranéen. 187 p.
133. **Reinbold G.W., 1985.** The propionibacteria milk products in bacterial starter cultures for food .Ed. GILLIAND S.E., edition BUCA RATION Florida, pp.73-84,356p.
134. **Richard J. et Zadi H., 1983.** Inventaire de la flore bactérienne dominante des camemberts fabriqués avec du lait cru. *Le lait*, 63 :25-42.
135. **Richard H. et Multon J.L., 1992.** Les arômes alimentaires, p.287-378, Tec et Doc Lavoisier, APRIA, 438p. (Sciences et techniques Agroalimentaires).
136. **Salghi R. (sans date).** Cours d'analyse physico-chimique des denrées alimentaires. Génie des Procédés, Energie et Environnement. Ecole des sciences Appliquées d'Agadir (ENSA). 33p.
137. **Samet-Bali O., Bellila A., Ayadi M.A., Marzouk B., Attia H., 2010.** A comparison of the physicochemical, microbiological and aromatic composition of Traditional and Industrial Leben in Tunisia. *International Journal of Dairy Technology*. 63:98-104.
138. **Sanchez-Macias D., M. Fresno, I. Moreno-Indias, N. Castro, A. Morales-delaNuez, S.Alvarez, and A. Argüello., 2010.** Physicochemical analysis of full-fat, reduced-fat, and low-fat artisan-style goat cheese. *Journal of Dairy Science*.volume 93 (9): 3950-3956.
139. **Serhan M., 2008.** Valorisation durable des laits de chèvre de la région du Nord Liban. Transformation en fromage *Darfiyeh* et établissement de caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques en vue de la création d'une appellation d'origine. *Thèse de Doctorat*. Institut National Polytechnique de Lorraine, 199p.
140. **Serhan Mireille, Catherine Cailliez-Grimal, Frederic Borges, Anne-Marie Revol-Junelles, Chadi Hosri, Jacques Fanni., 2009.** Bacterial diversity of Darfiyeh, a Lebanese artisanal raw goat's milk cheese. *Food Microbiology*, 26, 645–652.
141. **Serhan M., Linder M., Hosri C., Fanni J., 2010.** Changes in proteolysis and volatile fraction during ripening of Darfiyeh, a Lebanese artisanal raw goat's milk cheese. *Small Ruminant Research*. 90:75-82
142. **Smit G., Smit B.A., Engels W.J.M., 2005.** Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. *FEMS Microbiological Review*. 29:591-610
143. **Sousa M.J., Ardo Y., McSweeney P.L.H., 2001.** Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. *International Dairy Journal* 11:327-345.
144. **Sousa M. Jose, Malcata F. Xavier., 1998.** Proteolysis of ovine and caprine caseins in solution by enzymatic extracts from flowers of *Cynara cardunculus*. Elsevier Science Inc, p10.
145. **St-Gelais Daniel et Patrick Tirard-Collet., 2002. Chapitre 6 :** Fromage dans Sciences et Technologies du lait, transformation du lait par **Carole L. Vignola**. Edition Presses Internationales Polytechnique. Pp 348-415.603p.

Références bibliographiques

146. **Tejada L., Abelan A., Cayuela J.M., Martinez-Cacha A. et Fernandez-Salghero J., 2008.** Proteolysis in goats' milk cheese made with calf rennet and plant coagulant. *International Dairy Journal*, 18: 139-146.
147. **Türkoğlu Hüseyin, 2011.** Composition des acides gras libres et caractéristiques sensorielles du fromage Örgü. *Recherche scientifique et Essais Vol. 6 (7)*, pp. 1555-1560.
148. **Upadhyay V.K., P.L.H. McSweeney, A.A.A. Magboul and P.F.Fox, 2004.** Proteolysis in cheese during ripening in Cheese; chemistry, physics and Microbiology Volume 1, General Aspects Edited by Patrick F. Fox, Paul L.H. McSweeney, Timothy M. Cogan and Timothy P Guinee (2004). Third edition Elsevier Academic Press pp 391-... P 625
149. **Urbach G., 1995.** Contribution of lactic acid bacteria to flavour compound formation in dairy products, *Int. Dairy J.* 5 (1995) 877-903.
150. **Vandeweghe J., 1997.** Partie 2 : Préparation du caillé, chapitre 6. Le rendement en fromage : Prédétermination et mesure dans « le fromage » par A. Eck et Gillis J.C. 3^{ème} édition Tec et Doc Lavoisier. Pp ; 791-874. 891 p.
151. **Veisseyre R., 1979.** Technologie du fromage. 3^{ème} édition. La maison Rustique, Paris. 714p.
152. **Wang Jianming & Liying Li., 2012.** Comparative Study of Chemical Composition and Texture Profile Analysis between Camembert Cheese and Chinese Sufu. *Biotechnology Frontier*, Volume 1, Issue 1, PP.1-8
153. **Weisburg W.G., Barns S.M., Pelletier D.A., Lane D.J., 1991.** 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic analysis. *J. Bacteriol* 173:697-703.
154. XLSTAT version 2009.1.02 pour Windows. Copyright Addinsoft 1995-2009 (<https://www.xlstat.com>).
155. **Yilmaz G., Ayar A. and Akin N., 2005.** The effect of microbial lipase on the lipolysis during the ripening of Tulum cheese. *J. Food Eng.* 69 (3) : 269-274.
156. **Zaidi O., Zertal M. et Zidoune M.N., 2000.** Présentation d'un fromage traditionnel *Bouhezza*. *J.A.M.*, n° 02 vol X, mars-avril, pp 96-101.

Annexes

Annexe 1a

Questionnaire réalisé par AISSAOUI ZITOUN (2004), modifié.

**ENQUETE AUPRES DE POPULATIONS DE TERROIRS DE..... PRODUISANT
OU CONNAISSANT LES FROMAGES TRADITIONNELS TYPE *BOUHEZZA* OU AUTRE
DENOMINATION (à préciser) :.....**

1/ Renseignements sur la famille et zone enquêtée :

Wilaya : Daïra :

Commune : Douar ou Mechta :

Nom et prénom de l'enquêté(e) :

Origines de la famille (Chaouia, Kabyles, autres) :

Age de l'enquêté (e) :

2/ Préparation de la peau (Contenant) :Choix de la peau : chèvre Agneau Brebis Chevreau

Mode de dépilage de la peau :

1 Peau abandonnée jusqu'à putréfaction2 Peau lavée au savon (préciser le savon :) puis laissée jusqu'à putréfaction,3 Autres (préciser) : à l'arraché..... au couteau ou lame.....

Durée de la putréfaction en jour (j) :

Quelle est la meilleure méthode de préparation ? : 1 2 3 Pourquoi ? : Rapide moins d'odeur de putréfaction Moindre coût n'altère pas la peauLavage de la peau : oui nonTraitement de la peau : oui non

-Préciser le type de matière et quantités utilisées pour le traitement de la peau

Matière	X	Quantité	Durée de traitement (h ou j)
Sel			
Araâr (Genièvre)			
Lben			
Semoule			
Tanin			
Autres			

- Comment utiliser ces produits :

 en macération poudre autres..... en une seule fois en plusieurs fois (répétition)

Pourquoi ?.....

- Lavage après traitement : oui non- Retournement de la peau (côté des poils à l'intérieur) : oui non- Nouaison de la peau : oui non- Est-ce que la peau subit un découpage quelconque ? : Oui non

Si oui, quelles parties sont enlevées ?

- La peau une fois traitée peut-elle être conservée ? Oui non

Si oui, comment se fait cette conservation ? Avant ou après nouaison ? :.....

Dans quelles conditions ? :.....

Quels sont les produits de conservation utilisés ? :.....

Après conservation et avant utilisation de la peau, subit-elle des opérations de préparations ? :

Oui non

Si oui : Quelle opération subit la peau ? :

Trempage dans l'eau trempage dans le *Lben* ou lait

Pendant combien de temps ? : Heures ou jours

Préciser la quantité de *Lben* ou lait et/ou eau :.....

- Quel est le volume final de la *Chekoua* ? 3L 5L 6-10 L 10-15 L plus de 15L

- Le volume final est-il en relation avec ? :

Le type d'animal son âge du traitement que subit la peau

Autres (préciser).....

3/ Fabrication du fromage de terroir :

3-1/ Matière première utilisée :

Lait de vache lait de brebis lait de chèvre mélange de lait

Lben de vache *Lben* de brebis *Lben* de chèvre Mélange de *Lben*

3-2/ Mode de préparation du *Lben* :

- Le lait est abandonné dans un endroit (frais, tiède, chaud).....
durant..... heures ou jours ;

-Préciser comment il est chauffé ou tiédi,

- Le lait obtenu 'Raib' subit-il le barattage ? oui non

Si oui -Est-ce qu'il subit un écrémage ? oui non

Si oui -La crème est récupérée : entièrement partiellement

- Au cours du barattage, le lait est-il mouillé ? : oui non

Si oui – Combien d'eau en volume est ajoutée ? : 1/4 L 1/2 L 1L

1,5 L 2L plus de 2L

- En combien de fois l'eau est ajoutée, lors du barattage ou en fin d'opération ? :

1 fois 2fois 3fois lors du barattage

fin du barattage avant écrémage après crémage

- Le *Lben* ainsi obtenu est utilisé directement ? : oui non

En mélange avec du *Lben* ou du lait ? à préciser :.....

- Le *Lben* utilisé dans la fabrication du fromage est de préférence :

Acide très acide peu importe son acidité Pourquoi ? :.....

3-3/ Préparation du fromage :

- La quantité de matière première de départ, remplit-elle la *Chekoua* ? : oui non

Si non : 1/4 du volume 1/3 du volume 1/2 du volume 3/4 du volume

- Les ajouts successifs de la matière première se font selon :

- La vitesse d'égouttage la disponibilité du lait disponibilité du *Lben*
 la durée d'égouttage autres : préciser.....

- Le salage s'effectue, par mise du sel dans :

- Le lait le *Lben* la *Chekoua*

- Quelle est la quantité de sel ajoutée par rapport au volume (préciser) : Cuillère à soupe/ litre de matière première.....

- La *Chekoua* est suspendue dans un endroit :

- Frais Froid à l'ombre à l'air
 Toujours dans le même endroit ? Oui non

Si non : elle est déplacée pendant combien de fois au cours de la fabrication déplacée ?.....

(Préciser pourquoi ?).....

- Comment se fait le nettoyage du côté extérieur de la *Chekoua* en cours de fabrication ?

- Avec quoi ?

-Est-ce que la *Chekoua* est lavée après chaque ajout de matière première ? oui non

Si oui : combien de fois au cours de la fabrication ?

- Chaque jour chaque 2 jours plus de 2jrs (Préciser).....

Combien de fois par jour ?

- Si la *Chekoua* est mal entretenue au cours de la fabrication, quelles sont les conséquences sur le contenant et le fromage?.....

3-4/ Période de fabrication du fromage traditionnel :

-Préciser la période au cours de laquelle le fromage est fabriqué (le mois de départ et la fin de fabrication) :

J	F	M	A	Mai	J	Jui	Août	S	O	N	D

- Est-ce que le fromage peut être consommé avant la fin de fabrication ? oui non

Si oui : Préciser à partir de quel moment ? jours /
 Semaines /...../mois.

Si non, pourquoi ?

- La période de fabrication est limitée selon : La disponibilité du lait du *Lben* la maturation du fromage la volonté de fabrication

Autres (préciser).....

- Au cours de la fabrication ajoute-t-on du lait cru ? Oui non

Si oui, Pourquoi ? Préciser à quel moment de la fabrication ? pendant combien de temps ?

- Votre fromage est-il assaisonné ? Oui non
Si oui, quels sont les produits d'assaisonnement ajoutés (piments rouge piquant et /ou autres épices)

.....
- Est-ce que l'ajout des épices :
 Améliore le goût donne au fromage un cachet propre à la région
améliore la durée de conservation du fromage autres (préciser).....

4/ Conservation du fromage :

- Le fromage fabriqué est conservé dans un récipient en : verre céramique
 Plastique *Chekoua* autres (préciser).....

- La conservation se fait par : le froid sans le froid

- Durée de conservation :jours /ou semaines/ mois

J	F	M	A	Mai	J	Jui	Août	S	O	N	D

- Quelles sont les altérations que subit le fromage ainsi préparé :

*Goût : acide levure rance amertume autres

*Aspect et texture : couleur onctuosité granulés fondue croûte
 autres (préciser).....

*Odeur : levure rance putréfaction autres

- Quels sont les facteurs de détérioration ? :

Manque d'hygiène putréfaction de la peau présence de mouches autres
(à préciser)

5/ Modes de consommation :

- Le fromage est consommé sous forme de : pâte poudre déshydratée

Autres (à préciser).....

- Le fromage se consomme : Sous forme de tartine sur galette et pains

Assaisonne des sauces de plats traditionnels : préciser quels plats (couscous, aïche, M'kart fa ,...)
 Autres (préciser).....

6/ Objectifs de la fabrication :

- La fabrication du fromage de terroir se fait dans le but de :

1. Satisfaire les besoins de l'autoconsommation de la famille oui non
2. Récupérer l'excès de lait et/ou de Lben produits dans la ferme ou par la famille oui non
3. - Est-ce que le fromage est totalement consommé au sein de la famille ? Oui non
4. - Est-il offert à la famille ou aux voisins oui non
5. Si non ; Est-il vendu aux revendeurs de lait et produits laitiers oui non
6. Si oui, contribue-t-il à améliorer les conditions de vie de la famille ?
7. Permet-il d'acheter de l'alimentation pour animaux ?
8. Racheter d'autres animaux pour augmenter le cheptel producteur de lait ?

Annexe 1b

Analyse des descripteurs sensoriels d'un fromage

Nom/ Prénom :

date :

Un échantillon de fromage vous est proposé. Il vous est demandé d'évaluer ses caractéristiques.

L'ordre d'évaluation est le suivant :

1• Aspect et texture, 2• Odeur/Arôme, 3• Goût et 4 consistance de la pâte

1-ASPECT ET TEXTURE

Donnez une note sur l'échelle suivante pour la consistance de la pâte

Couleur

blanc Rouge

Tartinabilité

néant beaucoup

Rugueux

néant..... beaucoup

2- ODEUR/AROME

Flairez et notez rapidement sur l'échelle l'intensité de l'odeur du fromage

Rancidité

néant beaucoup

Levure

néant..... beaucoup

Odeur Animale

néant beaucoup

Herbe**3-GOUT**

Mastiquez l'échantillon de fromage puis évaluez les saveurs sur l'échelle suivante :

Acide

néant..... beaucoup

Salé

néant..... beaucoup

Astringent

néant..... beaucoup

Piquant

néant..... beaucoup

Durée de l'intensitéFaible (≤ 3 sec) longue (≥ 30 sec)**4-CONSISTANCE**

Donnez une note sur l'échelle suivante pour la consistance de la pâte

Pâteux

néant beaucoup

Crémeux

néant..... beaucoup

Dispersé

néant..... beaucoup

Soluble

néant..... beaucoup

Annexe 1d

Comparaison sensorielle de deux fromages

Nom/prénom.....

réf ...

Trois échantillons de fromages sont présentés. Deux d'entre eux sont identiques, l'autre est différent. Evaluer les trois fromages dans l'ordre de présentation et marquez la case de l'échantillon unique.

323 678 254

-Indiquer ensuite l'intensité de la différence sur l'échelle

Très faible

moyenne

très intense 1



-Cette différence est due à la :

Texture oui non

Goût oui non

Arôme oui non

-Essayez de décrire sur le tableau la différence perçue :

Texture	Goût	Odeur et arôme
<input type="checkbox"/> Elastique	<input type="checkbox"/> Salé	<input type="checkbox"/> Lactique
<input type="checkbox"/> Sableuse	<input type="checkbox"/> Acide	<input type="checkbox"/> Végétale
<input type="checkbox"/> Tartinable	<input type="checkbox"/> Sucré	<input type="checkbox"/> Animale
<input type="checkbox"/> Ferme	<input type="checkbox"/> Piquant	<input type="checkbox"/> Epicé
<input type="checkbox"/> Grumeleuse	<input type="checkbox"/> Astringent	
<input type="checkbox"/> Collante	<input type="checkbox"/> Amère	
<input type="checkbox"/> Onctueuse		
<input type="checkbox"/> Friable		
<input type="checkbox"/> Lisse		

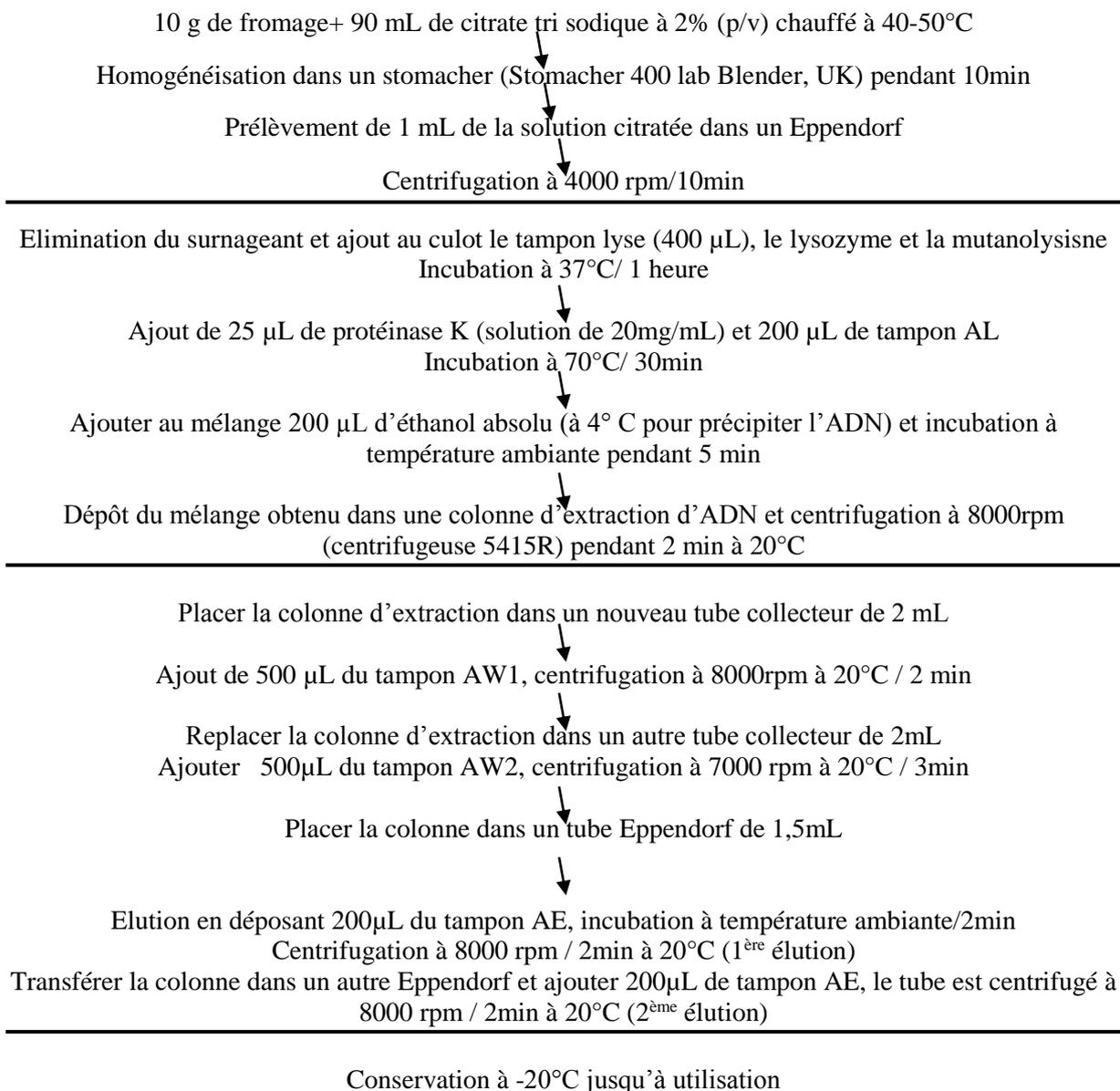
-Le quel des deux fromages vous préférez (mentionnez son code)

Annexe 1e

Annexe 1e : Questionnaire et fiche technique des variétés de fromages selon Fox (1993)

<p>1 Type de lait Vache, chèvre Mouton (brebis), bison Cru ou pasteurisé</p> <p>2 Type de ferment (Starter) <i>Lactococcus lactis ssp. lactis</i> <i>L. lactis ssp. Cremoris</i> <i>L. lactis ssp. Diacetylactis</i> <i>Str. Thermophilus</i> <i>Lactobacillus</i> (espèces) Autres Défini, non défini, "naturel"</p> <p>3 Coagulant présure (type) acide mixte (acidification/chauffage)</p> <p>4 Température de réglage</p> <p>5 Température de cuisson</p> <p>6 pH à l'égouttage du lactosérum</p> <p>7 Caillé pressé</p> <p>8 Salage : en masse (avec le caillé) saumurage de surface à sec</p> <p>9 Caillé étiré oui (pâte filée) non</p> <p>10 Composition, % matières grasses humidité graisses de la matière sèche protéines sel</p> <p>11 pH 1 jour mature</p> <p>12 Consistance dure semi-dure semi-molle molle</p> <p>13 Affinage durée, mois température humidité</p> <p>14 Saveur saveur doux nette piquant</p>	<p>15 Intérieur grands yeux petits yeux ouvertures irrégulières texture fermée</p> <p>16 Microflores secondaires Propionibacteria Moisissure bleue Moisissure blanche Frottis de surface Croûte sèche autres</p> <p>17 Indices de maturité (valeurs typiques pour les fromages affinés) pH NT soluble dans l'eau ou à pH 4,6 (en %) NT soluble dans TCA 12% (en %) NT soluble dans PTA (en %) Azote total d'acides aminés libres (en %) Caséine α totalement hydrolysée Caséine β totalement hydrolysée Acides gras libres (mEq/ kg) Acide lactique (%) Isomère de l'acide lactique (D, L) Est-ce que l'acide lactique subit un changement ?</p> <p>18 Apparence physique forme poids (kg) hauteur diamètre</p> <p>19 Volume de production (tonnes/an)</p> <p>20 Est-ce que le fromage à une appellation d'Origine Protégée (AOP) ?</p> <p>21 Synonymes : des variétés apparentées (utiliser une page supplémentaire si nécessaire)</p> <p>22 Toute autre information pertinente (utiliser une page supplémentaire si nécessaire)</p> <p>NT : azote total ; PTA : acide phosphotungstique ; TCA : Acide trichloroacétique</p>
--	--

Annexe 2

Etapes de l'extraction de l'ADN à partir du fromage

Vérification de la pureté et de la concentration de l'ADN extrait par spectrophotométrie dans un nano drop

Remarque 1 : pour 1mL de tampon lyse (20 mM de tris HCL [pH=8], 2 mM EDTA, 1,2% Triton X-100), on ajoute 20mg de lysozyme et 10µL de mutanolysine (solution à une concentration de 5 U/mL, conservé à -20°C) ; Tampon AL (DNeasy tissu kit QIAGEN, France), le kit DNeasy tissu contient les tampons de lyse, protéinase K, AW1,AW2,AE,AL, et la colonne d'extraction).

Remarque 2 : l'extraction de l'ADN génomique à partir du lait, Lben a été réalisée selon le protocole proposé par Licitra et al. (2007). Un volume de 10mL du lait (ou de Lben) sont mis dans des eppendorf et centrifugés à 4000rpm/20min puis ajout du tampon de lyse.

La purification de l'ADN a été faite selon les instructions du kit (DNeasy tissu kit). Après centrifugation, sont ajoutés et centrifugés à 8000 rpm pendant 2min à 20°C. La colonne est transférée dans un nouveau tube de collecte de 2 mL et 500µL de tampon AW2 sont ajoutés et centrifugés à 7000 rpm pendant 3min à 20°C.

À chaque échantillon, 400µL de tampon lyse (20 mM de Tris HCl [pH 8], 2 mM de l'EDTA, 1,2% Triton X-100, 20 mg/mL de lysozyme, 10 µL/mL de mutanolysine à une concentration de 5 U/mL) sont ajoutés après suppression du surnageant, puis incubation à 37°C pendant 1 heure.

Tampon AL (DNeasy tissu kit ; QUAGEN, France) (le Kit DNeasy® tissu contient les tampons : de lyse, AW2, AW1, AE, AL, et la colonne d'extraction)

La purification de l'ADN se fait par mélange de 500µL de tampon AW1 et centrifugation 8000rpm/2min. Le contenu du tube de collecte est transféré dans une nouvelle colonne, 500µL de tampon AW2 est ajoutée et centrifugation à 7000 rpm/3min.

Tableau 3. Souches utilisées comme marqueurs pour la PCR-TTGE.

Souches	Volume de l'amplifiât.
1- <i>Lactobacillus plantarum</i> CNRZ211T	
2- <i>Lactobacillus fermentum</i> CNRZ209T	
3- <i>Enterococcus faecium</i> LMG 8149	13 µL
4- <i>Lactobacillus helveticus</i> CNRZ 137	
5- <i>Enterococcus faecalis</i> CNRZ137 13	
6- <i>Lactococcus lactis</i> CNRZ105T	
7- <i>Streptococcus thermophilus</i> CIP102303T	15 µL
8- <i>Corynebacterium moorparkenese</i> CIP107183T	
9- <i>Lactobacillus paracasei</i> LMG9192	
10- <i>Arthrobacter nicotianae</i> CIP82.107T	
11- <i>Brevibacterium casei</i> CIP102111T	19 µL
12- <i>Propionibacterium cyclohexanicum</i> TL1365T	
Tampon de charge	25 µL

Tableau 4. Espèces de la base des données, selon Parayre *et al.* (2007).

1. <i>Lactobacillus plantarum</i>	28. <i>Streptococcus thermophilus</i>
2. <i>Lactobacillus johnsonii</i>	29. <i>Escherichia coli</i>
3. <i>Lactobacillus gasseri</i>	30. <i>Bifidobacterium breve</i>
4. <i>Lactobacillus fermentum</i>	31. <i>Hafnia alvei</i>
5. <i>Leuconostoc cremoris</i>	32. <i>Corynebacterium variabile</i>
6. <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	33. <i>Corynebacterium flavescens</i>
7. <i>Staphylococcus equorum</i> subsp. <i>linens</i>	34. <i>Bacillus pumilus</i>
8. <i>Enterococcus faecium</i>	35. <i>Microbacterium gubbeenense</i>
9. <i>Lactobacillus brevis</i>	36. <i>Kocuria varians</i>
10. <i>Lactobacillus brevis</i>	37. <i>Lactobacillus reuteri</i>
11. <i>Staphylococcus xylosus</i>	38. <i>Bifidobacterium longum</i>
12. <i>Lactobacillus brevis</i>	39. <i>Lactobacillus paracasei</i>
13. <i>Lactobacillus helveticus</i>	40. <i>Lactobacillus casei</i>
14. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	41. <i>Lactobacillus rhamnosus</i>
15. <i>Lactobacillus crispatus</i>	42. <i>Lactobacillus zeae</i>
16. <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	43. <i>Brevibacterium infantis</i>
17. <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i>	44. <i>Corynebacterium casei</i>
18. <i>Enterococcus faecalis</i>	45. <i>Arthrobacter nicotianae</i>
19. <i>Staphylococcus succinus</i>	46. <i>Arthrobacter globiformis</i>
20. <i>S. gallolyticus</i> subsp. <i>macedonicus</i>	47. <i>Brachybacterium tyrofermentans</i>
21. <i>Staphylococcus carnosus</i> subsp. <i>carnosus</i>	48. <i>Propionibacterium microaerophilum</i>
22. <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	49. <i>Brachybacterium alimentarium</i>
23. <i>S. carnosus</i> subsp. <i>carnosus</i>	50. <i>Brevibacterium linens</i>
24. <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	51. <i>Propionibacterium acidipropionici</i>
25. <i>Lactobacillus buchneri</i>	52. <i>Brevibacterium casei</i>
26. <i>Bacillus cereus</i>	53. <i>Propionibacterium jensenii</i>
27. <i>Bacillus licheniformis</i>	54. <i>Propionibacterium thoenii</i>
	55. <i>Propionibacterium freudenreichii</i>
	56. <i>Propionibacterium cyclohexanicum</i>
57.	58.

Composition du milieu réactionnel pour PCR

Tableau 5. Composition du milieu réactionnel pour PCR (Mix PCR).

Mix PCR	Quantité des constituants par tube de PCR (µL)
H ₂ O	31,5
Tampon MgCl ₂ .	5
dNTPs (5mM)	2
Amorce V3P3-GC-C (100µM)	0,5
Amorce V3P2 (100µM)	0,5
Taq polymérase (5U/µL)	0,5 µL (2,5U)

Tableau 6. Composition des gels de séparation et de concentration de la TTGE.

	Resolving	Stacking
Acrylamide/bis 40% (37.5 :1).	6,25 mL	2,1 mL
TAE 50X (Tris-HCl2M, Acide Acétique 1M, EDTA50 mM).	0,625 mL	175 µL
Urée	10,5 g	/
Temed	25 µL	7 µL
Persulfate d'ammonium à 10%	250 µL	70 µL
H ₂ O distillée	10,25 mL	7,35 mL

Courbes étalon du dosage des protéines par la méthode de Lowry

Dont : La solution C : solution cuivrique alcaline ; mélange de 50 mL du réactif A avec 1 mL du réactif B, laisser une nuit.

Où : La solution A 2% Na₂CO₃ dans NaOH 0,1 N.

La solution B 0,32% CuSO₄, 1% Tartrate de sodium et potassium (2 mL de la solution cuivrique avec 2 mL de solution de tartrate).

La teneur en protéines est exprimée en gramme pour cent gramme de fromage (SCHMIDT et LENOIR, 1978).

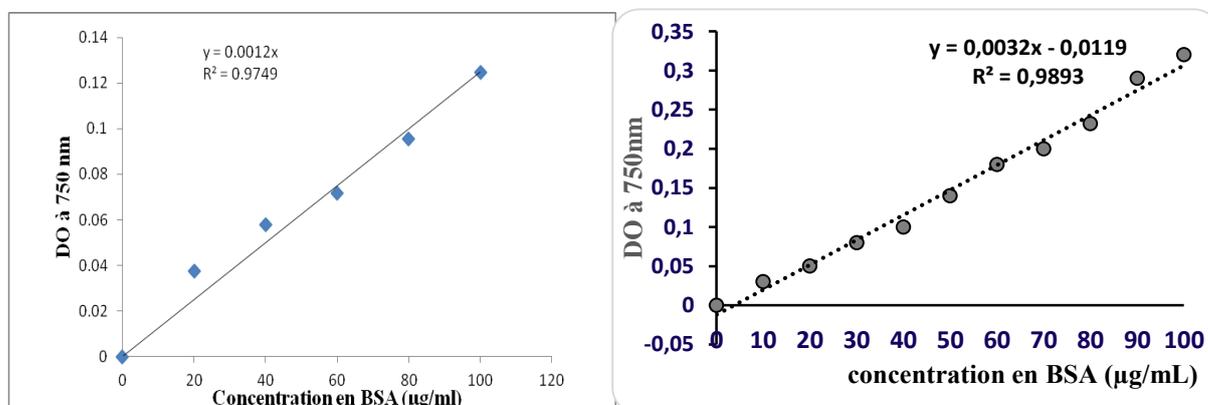


Figure 4. Courbes étalon pour le dosage des protéines selon la méthode de LOWRY (LOWRY *et coll.*, 1951).

Tableau 7. Composition des gels d'électrophorèse SDS PAGE

Electrophorèse SDS-PAGE à 12% : Préparation pour 4 gels

4 Plaques de 1mm	Gel Principal (12%)	Stacking gel
Acrylamide/bis 40 %	7,2 mL	0,8 mL
Tris 2M pH 8,8	4 mL	-
Tris 0,5M pH 6,8	-	1,2 mL
Eau	12,8 mL	8 mL
SDS 10%	240 µL	100 µL
APS 10%	240 µL	80 µL
TEMED	48 µL	16 µL

Composition du Tampon échantillon pour Electrophorèse SDS PAGE

Pour 50 mL : SDS 4% (2g), 2mL de mercaptoethanol 3%, Glycérol 20% (10 mL), Tris HCl 50 mM pH 6,8 (6,055g) 15%, Bleu de Bromothymol traces (une pincée).

Tris Hcl 50 mM pH 6,8 15%, 1mole \rightarrow 121,1 g ; 1mM \rightarrow 0,1211 : 50 mM = 6,055g

Colorant : éthanol 30%, acide acétique 5%, bleu de Coomassie R250 0,2%, H₂O 65%.

Le tampon de migration contenait : Tris 50 mM (12g), glycine 0,384 M (57,6g) et du SDS 0,1% (2g) pour 2litres.

Tableau 8. Composition des gels de polyacrylamide en milieu urée.

	Gel de séparation	Gel de concentration.
Solution tampon de gel de séparation	52,5mL	/
Solution tampon de gel de concentration	/	45mL
Solution d'acrylamide 40% (p/v)	22,5mL	5mL
Bis-acrylamide	0,375g	0,1g
Temed	37,5µL	25 µL
APS (Ammonium Persulfate)	282 µL	300 µL

La composition des solutions tampons pour la préparation des gels (de séparation et de concentration) est mentionnée dans le tableau suivant.

Tableau 9. Composition des solutions tampons des gels de concentration et de séparation.

	Solution tampon de gel de séparation.	Solution tampon de gel de concentration.
Tris	64,30g	8,30g
Urée	385,7g	300g
H ₂ O	Complété à 1L	Complété à 1L
pH final (ajusté par solution d'HCl).	8,9	7,6

Après avoir assemblé les plaques de verre sur l'appareil à gels, on prépare la solution de gel de séparation en utilisant les ingrédients décrits dans le tableau 9, puis on homogénéise la solution, et on coule immédiatement entre les deux plaques. On laisse suffisamment d'espace pour le gel concentration (la longueur des dents du peigne plus de 1cm), et on recouvre avec quelques mL d'eau distillée.

Lorsque la polymérisation est terminée, et après avoir éliminé l'eau distillée et placé le peigne pour créer des puits, on prépare le gel supérieur qu'on coule au-dessus de gel inférieur en évitant la formation des bulles d'air.

Après polymérisation du gel supérieur, le peigne est enlevé et le gel est recouvert avec le tampon de migration (3g/L de Tris, 14,6g/L de Glycine et le pH est ajusté à 8,4) ; la cuve de migration est aussi remplie de tampon de migration.

Après démoulage, le gel de concentration est écarté et le gel séparation est coloré selon la méthode de **Blakesley et Boezi (1977)**, pendant 1h dans une solution de bleu de Coomassie G-250 (Coomassie G-250 à 0,2% (p/v), H₂SO₄ 1M, KOH 1M, et TCA 12% (p/v)).

Tables NPP (d'après la norme ISO 7218 :1996(F))

Tableau 1 - Table NPP pour 3 x 1 g (ml), 3 x 0,1 g (ml) et 3 x 0,01 g (ml).

Nombre de résultats positifs			NPP	Catégorie lorsque le nombre d'essais de mesures est de 1 pour le lot considéré	Limites de confiance			
					>95%	>95%	>99%	>99%
0	0	0	<0,30		0,00	0,94	0,00	1,40
0	0	0	0,30	3	0,01	0,95	0,00	1,40
0	1	0	0,30	2	0,01	1,00	0,00	1,60
0	1	1	0,61	0	0,12	1,70	0,05	2,50
0	2	0	0,62	3	0,12	1,70	0,05	2,50
0	3	0	0,94	0	0,35	3,50	0,18	4,60
1	0	0	0,36	1	0,02	1,70	0,01	2,50
1	0	1	0,72	2	0,12	1,70	0,05	2,50
1	0	2	1,1	0	0,4	3,5	0,2	4,6
1	1	0	0,74	1	0,13	2,00	0,06	2,70
1	1	1	1,1	3	0,4	3,5	0,2	4,6
1	2	0	1,1	2	0,4	3,6	0,2	4,6
1	2	1	1,5	3	0,5	3,8	0,2	5,2
1	3	0	1,6	3	0,5	3,8	0,2	5,2
2	0	0	0,92	1	0,15	3,50	0,07	4,60
2	0	1	1,4	2	0,4	3,5	0,2	4,6
2	0	2	2	0	0,5	3,8	0,2	5,2
2	1	0	1,5	1	0,4	3,8	0,2	5,2
2	1	1	2,0	2	0,5	3,8	0,2	5,2
2	1	2	2,7	0	0,9	9,4	0,5	14,2
2	2	0	2,1	1	0,5	4,0	0,2	5,6
2	2	1	2,8	3	0,9	9,4	0,5	14,2
2	2	2	3,5	0	0,9	9,4	0,5	14,2
2	3	0	2,9	3	0,9	9,4	0,5	14,2
2	3	1	3,6	0	0,9	9,4	0,5	14,2
3	0	0	2,3	1	0,5	9,4	0,3	14,2
3	0	1	3,8	1	0,9	10,4	0,5	15,7
3	0	2	6,4	3	1,6	18,1	1,0	25,0
3	1	0	4,3	1	0,9	18,1	0,5	25,0
3	1	1	7,5	1	1,7	19,9	1,1	27,0
3	1	2	12	3	3	36	2	44
3	1	3	16	0	3	38	2	52
3	2	0	9,3	1	1,8	36,0	1,2	43,0
3	2	1	15	1	3	38	2	52
3	2	2	21	2	3	40	2	56
3	2	3	29	3	9	99	5	152
3	3	0	24	1	44	99	3	152
3	3	1	46	1	9	198	5	283
3	3	2	110	1	20	400	10	570
3	3	3	>110					
autres valeurs			non cité dans la table ISO 7218 : 1996 (F)					

Annexe 3

Tableau 21. Récapitulatif de la caractérisation physico-chimique et biochimique du fromage *Bouhezza* de chèvre (moyenne de 13 fabrications).

paramètres	J.aff	0	8	15	21	30	36	45	53	64
pH	Exp.	4,18±0,0 2	4,40±0,34	3,02±0,01	3,27±0,0 3	2,97±0,01	3,01±0,1 2	3,84±0,28	3,87±0,06	3,87±0,05
	Fer.	4,66±0,0 4	4,47±0,18	4,27±0,25	4,42±0,2 5	4,05±0,23	4,05±0,1 4	4,06±0,06	3,96±0,24	3,88±0,10
Acidité g/100g	Exp.	0,64±0,0 1	0,81±0,01	0,84±0,03	1,04±0,0 2	1,38±0,00	1,33±0,1 1	1,56±0,02	1,80±0,10	1,81±0,11
	Fer.	0,63±0,0 1	1,08±0,11	1,24±0,27	1,23±0,2 7	1,66±0,66	1,59±0,5 6	1,79±0,69	1,86±0,74	1,91±0,75
EST en g/100 g	Exp.	11,01±0, 49	14,35±0,8 6	17,67±0,0 2	20,03±2, 57	21,60±1,9 0	23,53±1, 81	27,40±2,1 0	30,30±0,8 0	31,45±1,2 5
	Fer.	12,93±0, 65	18,30±1,6 9	22,45±1,5 5	24,51±3, 35	28,82±2,3 7	30,88±2, 35	35,90±1,0 3	38,22±1,4 4	42,63±4,3 4
Cendres %	Exp.	3,07±0,1 3	2,81±0,03	3,03±0,11	3,31±0,0 5	3,50±0,03	2,86±0,0 8	2,28±0,21	1,31±0,02	nd.
	Fer.	2,39±1,3 4	2,26±0,99	2,17±0,72	1,85±0,3 8	2,48±0,90	3,12±1,1 9	3,40±1,27	3,96±1,72	6,71±0,00
Chlorures/E ST %	Exp.	12,97±3, 67	19,11±1,4 3	17,66±0,0 4	17,97±2, 53	18,14±1,6 7	6,83±0,1 6	4,56±0,39	4,03±0,07	3,88±0,12
	Fer.	16,00±0, 70	19,20±0,9 0	17,55±0,2 5	18,10±0, 00	12,25±0,5 5	7,00±0,5 0	4,75±0,35	3,40±0,00	3,20±0,00
MG/EST %	Exp.	22,24±0, 38	22,84±3,1 1	31,70±0,5 9	39,91±3, 62	47,34±1,3 9	53,37±6, 02	53,09±2,2 5	48,19±0,0 5	47,67±0,6 5
	Fer.	13,08±1, 99	24,37±15, 38	33,23±17, 47	nd.	27,24±14, 35	26,72±8, 64	38,25±12, 06	30,59±19, 45	38,30±12, 29
Prot/EST %	Exp.	3,82±0,1 7	9,71±2,45	8,92±3,14	11,34±1, 15	15,25±0,2 8	16,30±0, 83	17,09±0,8 2	15,82±0,1 6	15,25±0,3 6
	Fer.	7,96±3,7 7	9,51±1,32	11,62±1,2 0	nd.	16,30±2,0 2	25,72±4, 76	27,49±3,7 8	29,66±4,2 1	28,04±9,3 6

J.aff : jour d'affinage, Exp. : Expérimentales, Fer. : Fermes, nd. : non déterminé

Tableau 22. Volume en Litre de lactosérum récupéré pour les cinq fabrications

	F1	F2	Moy±EType	F9	F10	F11	Moy±EType
Volume (L)	6,01	6,83	6,42±0,41	12,6	15	15	14,20±1,13

Tableau 23. Volume de lactosérums échantillonnés pour les deux fabrications expérimentales

F1 F2	J+14	J+28	J+49	Total
Lactosérum F1 (L)	3,50	2,01	0,5	6,01
Lactosérum F2 (L)	3,85	2,27	0,71	6,83
Moyenne de F1 et F2	3,68	2,14	0,61	6,42

Tableau 26. Résultats de la caractérisation microbiologique du lait et *Lben* de chèvre, utilisés dans la fabrication de Bouhezza, exprimés en log ufc/mL.

Matière première	Lait cru		<i>Lben</i>		<i>Lben</i> salé
	F. Exp.	F. ferme	F. Exp.	F. ferme	F. Exp.
Flore recherchée /Log ufc/mL					
FTAM	9,81	7,40	9,92	9,60	8,51
Streptocoques lactiques	8,40	8,17	9,99	9,23	8,74
Lactobacilles	6,51	7,89	8,68	8,90	8,45
Levures-Moisissures	6,54	4,15	3,98	7,46	1,78
Halotolérants	5,17	nd.	2,27	2,56	nd.
C. totaux	1,40	abs.	3,15	2,21	2,30
C. Fécaux	abs.	abs.	1,54	1,69	abs.
Streptocoques fécaux	abs.	abs.	2,18	abs.	abs.
Salmonella	abs.	abs.	abs.	abs.	abs.
<i>Staphylococcus aureus</i>	abs.	abs.	2,39	2,30	2,30
Clostridium Sulfito-réducteurs	abs.	abs.	abs.	abs.	abs.

Exp. : Expérimentales, C. : Coliformes, abs. : absence, nd. : non déterminé

Tableau 27. Résultats de la caractérisation microbiologique du fromage *Bouhezza* au lait cru de chèvre de fabrications expérimentales et e ferme, exprimés en log ufc/g.

Age de l'échantillon (j)	8		16		34		42		64	
	Exp.	Fer.	Exp.	Fer.	Exp.	Fer.	Exp.	Fer.	Exp.	Fer.
Flores recherchées										
FTAM	10,41	8,83	9,91	8,74	9,76	8,47	9,78	8,42	8,40	7,79
Str. lactiques	9,70	8,12	9,57	7,68	8,59	7,51	8,04	8,44	7,75	8,73
Lactobacilles	8,41	7,50	8,54	6,92	8,81	6,41	7,69	7,86	7,48	9,41
Levures-Moisissures	3,55	4,86	4,16	4,42	5,48	5,62	5,11	5,01	6,30	5,89
Halotolérants	2,76	2,68	4,16	2,57	5,59	1,76	5,11	1,7	2,95	<1
C. totaux	1,96	1,22	2,03	1,84	1,48	0,98	1,50	1,29	1,80	1,55
C. Fécaux	0,98	1,09	abs.	1,83	abs.	1,00	abs.	1,28	abs.	0,98
Str. fécaux	2,26	abs.								
<i>Salmonella</i>	abs.	abs.	abs.	abs.	abs.	abs.	abs.	abs.	abs.	abs.
<i>St. aureus</i>	abs.	abs.	abs.	abs.	abs.	abs.	abs.	abs.	abs.	abs.
C.S.R.	abs.	abs.	abs.	abs.	abs.	abs.	abs.	abs.	abs.	abs.
<i>Brucella</i>	nd.	abs.	nd.	abs.	nd.	abs.	nd.	abs.	nd.	abs.

Str. : Streptocoques, C. : Coliformes, St. : Staphylococcus, C.S.R. : Clostridium sulfito-réducteurs, Exp. : Expérimentales, Fer. : Fermes (OEB), abs. : absence, nd. : non déterminé.

Tableau 29. Evolution des fractions protéiques au cours de l'affinage de Bouhezza de chèvre de deux fabrications expérimentales (F1 et F2) et trois fabrications de ferme (F4, F5 et F6).

Jour d'affinage	8	15		30		45	50	64	72
Ech.	Fer.	Exp.	Fer.	Exp.	Fer.	Fer.	Exp.	Fer.	Fer.
fraction azotée									
NT %	1,28±0,36	0,85±0,05	1,49±0,06	1,15±0,07	1,92±0,12	2,26±0,10	1,93±0,58	2,74±0,00	2,75±0,11
NST/NT %	8,97±2,96	20,28± 4,73	9,18±1,02	12,63±0,33	5,38±0,45	5,38±1,46	15,49±2,29	11,29±0,00	12,44±7,68
TCA-NS/NT %	7,01±1,95	nd.	nd.	nd.	4,78±0,66	4,80±1,06	nd.	7,26±0,00	10,27±0,00

Ech.: Origine de l'échantillon, Exp. Expérimentale, Fer. Ferme, nd. : non déterminé

Tableau 30. Evolution du taux de MG et de lipolyse au cours de l'affinage dans différentes fabrications de *Bouhezza* au lait de chèvre (Moyenne de 2 à 7 fabrications± Etype).

j aff.	MG g/100g	Tx lipolyse (g AO/100g MG)
1 (n=3)	15,5±1,5	Nd.
8 (n=2)	4±1,00	2,74±0,44
15 (n=2)	6,44±3,22	8,29±2,56
23 (n=2)	4,75±1,75	12,24±1,40
30 (n=4)	5,5±4,17	9,11±4,04
38 (n=3)	7,17±1,65	6,02±0,74
45 (n=7)	9,77±5,01	7,67±3,54
54 (n=7)	8,71±1,88	5,81±0,74
64 (n=6)	17,40±8,53	8,63±2,81

J. aff. : Jour d'affinage, nd. : non déterminé

Tableau 31. Composition en AGL (g/100 g de MG) de *Bouhezza* au lait de chèvre obtenu après extraction d'échantillon d'âge d'environ 1 mois (29,38 et 42 jour) et de fin de production (50, 60 et 72 jour).

		F1/ 42J	F4/ 38J	F7/ 29J	F1/ 50J	F4/ 72j	F7/60j
	AGL	Moy±Etyp	Moy±Etyp	Moy±Etyp	Moy±Etyp	Moy±Etyp	Moy±Etyp
Acide butyrique	C4	0,80±0,01	0,90±0,00	1,05±0,05	1,32±0,02	1,29±0,01	4,62±0,05
Acide caproïque	C6	1,45±0,01	1,59±0,01	0,89±0,02	1,96±0,03	1,81±0,01	3,17±0,00
Acide caprylique	C8	1,82±0,02	2,21±0,00	1,30±0,01	2,07±0,03	2,45±0,01	2,49±0,01
Acide caprique	C10	7,03±0,02	8,70±0,11	6,51±0,01	7,65±0,05	9,05±0,05	9,13±0,13
Acide undecyclique	C11	0,26±0,01	0,25±0,01	0,20±0,00	0,22±0,01	0,23±0,01	0,28±0,01
Acide laurique	C12	3,08±0,01	3,81±0,01	3,66±0,01	3,80±0,00	3,80±0,02	4,25±0,05
Acide tridecyclique	C13	0,17±0,01	0,16±0,01	0,15±0,00	0,14±0,00	0,12±0,00	0,16±0,00
Acide myristique	C14	7,92±0,00	9,72±0,02	10,33±0,02	9,63±0,03	9,49±0,01	10,08±0,02
Acide myrîtenique	C14'	0,42±0,01	0,45±0,01	0,45±0,01	0,24±0,00	0,41±0,00	0,38±0,01
Acide pentadecyclique	C15	1,24±0,00	1,40±0,00	1,35±0,05	1,32±0,02	1,32±0,01	1,11±0,01
Acide pentadecyclique insaturé	C15'	0,24±0,00	0,14±0,01	0,35±0,01	0,26±0,01	0,18±0,00	0,21±0,00
Acide palmitique	C16	26,43±0,02	30,62±0,01	31,77±0,20	29,37±0,03	29,89±0,11	27,12±0,02
Acide palmitoleique	C16'	0,95±0,02	0,83±0,01	1,05±0,04	0,82±0,00	0,73±0,01	0,86±0,01
Acide margarique	C17	1,03±0,02	1,05±0,03	1,13±0,00	0,90±0,01	1,03±0,01	0,84±0,01
Acide margarique insaturé	C17'	0,29±0,00	0,25±0,01	0,36±0,01	0,18±0,01	0,25±0,00	0,25±0,00
Acide stéarique	C18	16,10±0,02	15,21±0,01	13,46±0,04	16,38±0,07	15,06±0,01	12,04±0,04
Acide oléique	C18'	24,76±0,01	17,62±0,01	22,04±0,04	16,39±0,01	18,00±0,01	18,60±0,22
Acide α -linoléique	C18''	3,65±0,02	2,54±0,01	2,35±0,02	5,45±0,06	2,44±0,04	2,05±0,04
Acide arachidique	C20	0,74±0,01	0,47±0,00	0,45±0,01	0,52±0,01	0,50±0,00	0,48±0,01
Acide linoléique	C18'''	0,95±0,01	1,38±0,00	0,63±0,01	0,77±0,01	1,37±0,01	1,22±0,01
Acide hénicosanoïque	C21	0,61±0,01	0,49±0,01	0,51±0,01	0,52±0,02	0,56±0,01	0,57±0,00
Acide béhénique	C22	0,14±0,01	0,22±0,08	0,10±0,00	0,13±0,02	0,14±0,00	0,10±0,00

F. Fabrication ; AGL : acide gras libre ; Moy. : moyenne de deux essais ; Etype : Ecartype

Les résultats des Gels SDS-PAGE des échantillons de *Bouhezza* au lait de chèvre entre 8j et 60 jours présentent les fractions des protéines de Fromage,

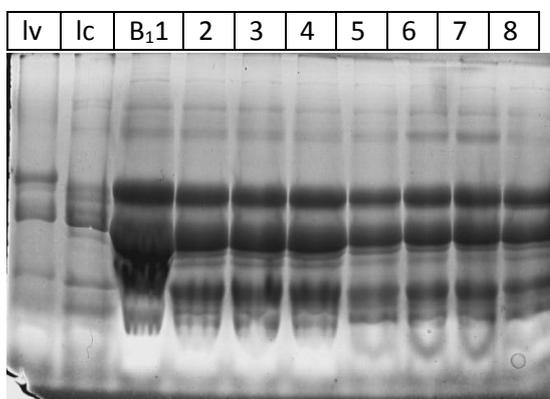
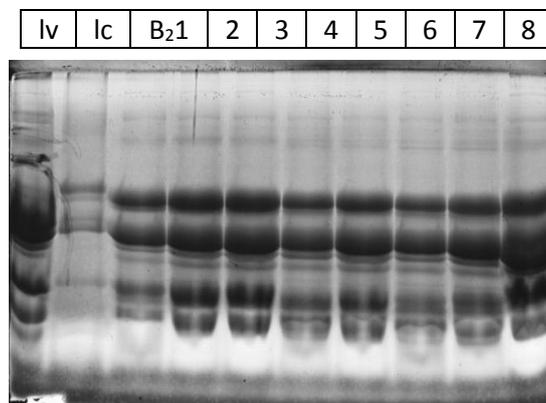
Gel 1 du *Bouhezza* F7Gel 2 de *Bouhezza* F8

Figure 24. Électrophorèse SDS-PAGE (à 12%) des échantillons de fromage *Bouhezza*, au lait cru de chèvre, montrant l'apparition de nouvelles petites fractions (γ -caséine) en raison de la protéolyse d'un mois de maturation jusqu'à la fin de la production, dans deux fromages, lv : lait de vache ; lc : lait de chèvre. Numéros de B₁1 à 8 : échantillons/semaine de Fabrication de ferme F7 (à gauche) et de B₂1 à 8 : échantillons/semaine de F8 (à droite).

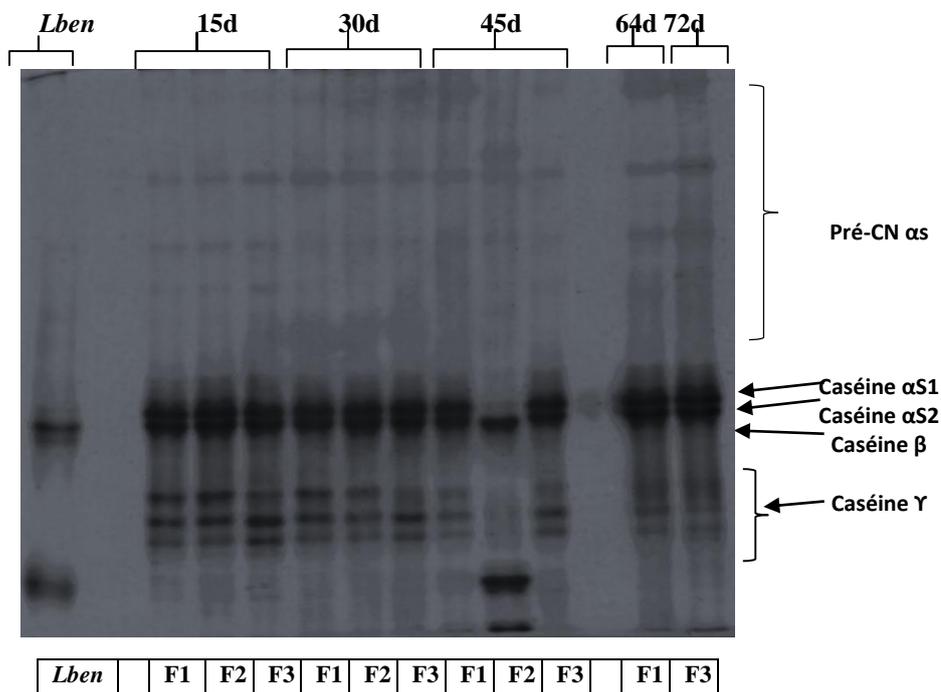


Figure 28. Gel d'électrophorèse polyacrylamide à l'Urée (urée-PAGE) de la fraction azotée insoluble à pH 4,4 (ou dans l'eau) au cours de l'affinage de *Bouhezza* de chèvre, *Lben*, 15, 30, 45, 64, et 72 jours d'affinage de trois fabrication-affinage F1, F2 et F3 dans le fromage traditionnel Algérien *Bouhezza* préparé au lait cru de chèvre.

Production Scientifique

Production scientifique

Articles publiés avec comité de lecture dans une revue indexée et impactée par Scopus et Thompson Reuters.

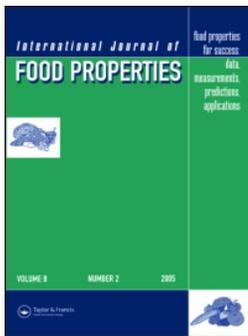
1. **Hacène Medjoudj**, Mohammed Nasreddine Zidoune & Ali Adnan Hayaloglu (2017) Proteolysis and volatile profile in the Algerian traditional Bouhezza cheese made using raw goat's milk, *International Journal of Food Properties*, 20:8, 1876-1893, DOI: 10.1080/10942912.2016.1222588. Editeur Taylor&Francis Group
2. **Hacène Medjoudj**, Lamia Aouar, Mohammed Nasreddine Zidoune & Ali Adnan Hayaloglu (2018) Proteolysis, microbiology, volatiles and sensory evaluation of Algerian traditional cheese Bouhezza made using goat's raw milk, *International Journal of Food Properties*, 20:sup3, S3246-S3265, DOI: 10.1080/10942912.2017.1375515. Editeur Taylor&Francis Group.

Articles rédigés

1. **Medjoudj H**, Derouiche M, Aouar L, Hayaloglu AA and Zidoune MN
Physicochemical and microbiological characterization of a traditional Algerian *Bouhezza* cheese prepared from goat's raw milk: A survey
2. **Medjoudj H**, Y Choiset, T Haertlé, J-M Chobert and M N Zidoune
Characterization of proteolysis in Algerian traditional *Bouhezza* cheese made from caprine raw milk

Communications Internationales

1. **Medjoudj H.**, Aissaoui Zitoun O. et Zidoune M.N. **Caractérisation du fromage traditionnel *Bouhezza* par enquête et détermination de sa qualité hygiénique.** 22^{ème} Forum International des Sciences Biologiques du 28 au 31 Mars 2011 en Tunisie organisé par l'ATSB (association Tunisienne des Sciences Biologiques) (**communication orale**).
2. **Medjoudj H.**, Aissaoui Zitoun O. et Zidoune M.N. **Caractérisation du fromage traditionnel *Bouhezza* par enquête, établissement d'un diagramme de fabrication et détermination de sa qualité hygiénique.** Journées Internationales de Biotechnologie 2011 organisées par l'Association Tunisienne de Biotechnologie du 19 au 22 Décembre 2011 à l'Hôtel RIU Bellevue Park El Kantaoui, Sousse. (**communication par affiche** (Poster)).
3. **Medjoudj H.** et Zidoune M.N. **Caractérisation physico-chimique du fromage traditionnel *Bouhezza*.** 23^{ème} Forum International des Sciences Biologiques organisé par l'ATSB (Association Tunisienne des Sciences Biologiques) à Hammamet en Tunisie du 21 au 24 Mars 2012 (**communication orale**).
4. **Medjoudj Hacène**, Shady El-Gaish, Yvan Choiset, Thomas Haertlé, Jean-Marc Chobert et Mohammed Nasreddine Zidoune. **Fromage de terroir *Bouhezza* : Enquête, diagramme de fabrication, caractérisation et détermination d'une protéolyse.** Premières Journées Scientifiques de l'Agro-alimentaire (Mai 2013) Organisées par l'association Méditerranéenne des Industries Agro-alimentaires (AMIAA) (**communication orale**).
5. **Medjoudj Hacène**, Shady El-Gaish, Yvan Choiset, Thomas Haertlé, Jean-Marc Chobert et Mohammed Nasreddine Zidoune. **Etude de la qualité hygiénique du fromage traditionnel *Bouhezza* au lait de chèvre et isolement de bactéries lactiques à activité antimicrobienne.** Deuxièmes Journées Scientifiques de l'Agro-alimentaire (Mars 2014) Organisées par l'association Méditerranéenne des Industries Agro-alimentaires (AMIAA) (**communication orale**).
6. **Medjoudj Hacène**, Saoudi Zine Elabidine, Aissaoui Zitoun Ouarda, Benattallah Leila et Zidoune Mohammed Nasreddine, **Caractérisation Microbiologique du Fromage Traditionnel *Bouhezza* au lait de chèvre.** Séminaire International sur les Sciences Alimentaires le 14, 15 et 16 Octobre 2014 à l'INATAA Université des Frères Mentouri Constantine 1 (**communication par affiche**).



Proteolysis and volatile profile in the Algerian traditional Bouhezza cheese made using raw goat's milk

Hacène Medjoudj, Mohammed Nasreddine Zidoune & Ali Adnan Hayaloglu

To cite this article: Hacène Medjoudj, Mohammed Nasreddine Zidoune & Ali Adnan Hayaloglu (2017) Proteolysis and volatile profile in the Algerian traditional Bouhezza cheese made using raw goat's milk, International Journal of Food Properties, 20:8, 1876-1893, DOI: 10.1080/10942912.2016.1222588

To link to this article: <http://dx.doi.org/10.1080/10942912.2016.1222588>



Accepted author version posted online: 02 Oct 2016.
Published online: 02 Oct 2016.



Submit your article to this journal [↗](#)



Article views: 42



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)



Proteolysis and volatile profile in the Algerian traditional *Bouhezza* cheese made using raw goat's milk

Hacène Medjoudj^{a,b}, Mohammed Nasreddine Zidoune^a, and Ali Adnan Hayaloglu^c

^aLaboratory of Nutrition and Food Technology (LNTA: Laboratoire de Nutrition et de Technologie Alimentaire), Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-alimentaires (I.N.A.T.A-A) Université Mentouri Constantine 1-Algérie; ^bDépartement des Sciences de la Nature & la vie, Faculté des sciences exactes and S.N.V.- Université Larbi Ben Mhidi- d'Oum El-Bouaghi, Algérie; ^cDepartment of Food Engineering, Inonu University, Malatya, Turkey

ABSTRACT

Bouhezza is an Algerian cheese, which is ripened in a goat-skin bag, called *Chekoua*. The aim of the study was to determine the protein profiles and aromatics, which contribute to sensory properties of *Bouhezza* cheese. The chemical composition, proteolysis, and volatile profile have been carried out in cheese made from raw goat milk. The results showed that, the dry matter ranged from 23.07 to 51.95%, the fat-in-dry matter ranged from 10.58 to 31.77%, and the protein ranged from 28.27 to 42.09%. Water-soluble and 12% trichloroacetic acid-soluble nitrogen fractions decreased at the beginning of the ripening process and then they increased until the end of ripening. The reverse phase-high-performance liquid chromatography peptide profiles of the cheese showed the modifications occurred during the ripening process. The volatile compounds showed a diversity of odorous components which contribute to give to the cheese its particular organoleptic. There were 109 compounds identified in *Bouhezza* cheese. Carboxylic acids, esters, and alcohols were the main classes of the volatile components in the cheese.

ARTICLE HISTORY

Received 9 May 2016
Accepted 6 August 2016

KEYWORDS

Skin-bag (*Chekoua*);
Bouhezza cheese goat's raw
milk; Proteolysis; Lipolysis;
Aromatic profile

Introduction

Traditional cheeses are characterized by a strong link with their origin land and reflect the community history and culture of the product.^[1] Various studies showed that the enzyme system of the indigenous microflora in raw milk is much more complex than starter bacteria used in cheese manufacture and, therefore, it has an important influence on cheese proteolysis.^[2] Beuviel et al.^[3] have demonstrated that the role of the raw milk microflora takes an important place in the biochemical and sensory characteristics of cheese. The cheeses microflora from raw milk showed a more extensive proteolysis and acidification, leading to more pronounced flavor.^[3] It has been reported that proteolysis is considered as one of the most important biochemical processes involved in manufacturing of many fermented dairy products.^[4] Furthermore, the proteolytic or peptidolytic enzymes of lactic acid bacteria (LAB) contribute to sensory properties of the final milk products.^[5] In raw-milk cheeses, a diverse microbiota composed of endogenous LAB,^[6] and other bacteria; yeasts and molds, contribute to their distinctive sensory characteristics. In order to maintain the traditional characteristics of cheese varieties, there is a need to preserve the biological diversity involved in the ripening process of goats' milk cheeses. However, current scientific information on many varieties, some of major economic importance, is still scarce and the research for the better understanding and improving of their manufacture and ripening is needed.^[7] The flavor of dairy products, especially cheeses, have been extensively studied; however, cheeses made from raw goat

CONTACT Ali Hayaloglu ✉ adnan.hayaloglu@inonu.edu.tr 📍 Department of Food Engineering, Malatya 44280, Turkey.

Color versions of one or more of the figures in the article can be found online at www.tandfonline.com/ljfp.

milk have not been studied in detail to the same extent as those from cow milk.^[8,9] The more powerful and the most important compounds of the flavor in the cheeses are particularly, the aldehydes, alcohols, acids, and esters.^[10]

In Algeria, traditional cheeses are not well known and studied. It has been reported that there are only few traditional dairy products including *klila*, *djben*, *bouhezza*, *mechouna*, and *madeghissa* in the East of Algeria (Chaouia region), *takammèrite* and *aoules* in the South, and *Igounanes* in the Middle North (Kabily region).^[11] Among these products, *Bouhezza* is originating from the region of *Chaouia* located at the Northeastern of Algeria. This product is a traditional cheese which produced from different types of raw milk (cow, sheep, and goat) used alone or mixture of them. In order to characterize this traditional cheese, an investigation was conducted; with families that are living in the territory where exists *Bouhezza's* manufacturing practice, in the *Chaouia* and *Aures* area in the Northern of Algeria. In general, manufacturing of the cheese is carried out in a goat-skin or sheep-skin (*Chekoua*) for about 2 or 3 months until achieving the final state of preparing the cheese. The objective of this study was to characterize the chemical composition, proteolysis, and volatile compounds of the *Bouhezza* cheese during ripening. The specific cheese manufacturing process was studied, as well as the evolution of some parameters, which are proteolysis and aromatic profile. This is the first study on the aromatic profile compounds in the Algerian traditional *Bouhezza* goats' milk cheese.

Materials and methods

Cheese making

Bouhezza is a local Algerian traditional cheese produced and consumed in the *Chaouia* region to the Northeast of the country. It is made with raw milk from cows, goats, or their mixture. Its manufacture requires the specific use of the skin of goat or sheep, treated called "Chekoua" used as a container for drainage and refining. The goat-skin is treated with salt and juniper. Before starting fabrication of *Bouhezza*, a volume of *Lben* (2 to 3 L) is introduced into the *Chekoua* during overnight (12–24 h) to allow at the skin-bag to have a good smell, to adapt the bag to the characteristics of the milk product, remove any skin odor, and eliminate the bad smell. This amount of *Lben* is removed from the *Chekoua*. Then the *Bouhezza* preparation begins widely with a volume of salty *Lben* between the half or three quarts of the *Chekoua*.

This quantity undergoes biochemical transformations during 3 to 4 days. Then, a further amount of 3 L of salty *Lben* is added on the 4th day into the *Chekoua*, and mixed with the cheese. The addition of *Lben* continuous for 7 weeks (or more). Finally, 2 weeks before the end of the ripening, raw whole milk is added at 4 d intervals (2 at 3 L per *Chekoua*) until the end, where the cheese is collected and seasoned with red hot pepper. The traditional diagram of *Bouhezza*, the preparation of the *Chekoua* and of *Lben*, were obtained such as a result of the survey conducted among families in the *Chaouia* region where the *Bouhezza* cheese is commonly manufactured.

Goat-skin bag preparation

Goat-skin bags (*Chekouates*) are prepared according to the following steps: The age of goats were between 6-months- and 1-year-old. Skins obtained are left in a nylon bag for 5 to 6 d at ambient temperature, then they are washed and depilated. After washing them with the tap water, they are dried under the shade, and preserved with salt and juniper (*Arâar*) for 4 to 8 d until their uses. The juniper is used for its antiseptic and antifungal properties,^[12] and due to having its special deodorant effects. Therefore, it eliminates undesired odors of the skin. The skins are then rinsed and turned out (the side hairs takes the interior face). They are tied up to avoid air entrance and the resultant bag is called "Chekoua" in Algeria. *Chekouates* are used immediately or conserved for future uses. The *Chekouates* prepared for this work were used directly; their volume was between 10 to 15 L.

Lben preparation

The *Lben* used for the manufacturing of *Bouhezza* was obtained according to the following steps: raw milk (3 L) undergoes the fermentation and coagulation processes during 24 to 36 h at ambient temperature (25–30°C). The coagulated milk named “Rayeb” was churned for 30 to 45 min and some warm water (20–25°C); a level of 0.25 L was added to this mixture. Water is added in *Rayeb*, to maintain a fresh temperature of 20–25°C, which promotes gathering of butter grains, and so, facilitates the skimming operation. After, a partial skimming, the recovered *Lben* is employed in the manufacturing of *Bouhezza*.

Cheese manufacturing

Two cheeses were produced at Boukhadra (Fabrications, F1 and F2) and the third one in Cheria (F3), two localities in the town of Tebessa, in the Northeast of Algeria. The goat’s milk is provided from a small farm located at Boukhadra and from the local city of Cheria. Three liters of salted *Lben* (20 to 25 g NaCl per L of *Lben*) were put into each *Chekoua* (three *Chekouates*). Successive additions of salted *Lben* were carried out each 4 d for several weeks (7 weeks). During cheese making (Fig. 1), the *Chekoua* is placed in a well-ventilated place and is cleaned every day and after each addition of raw material. Cleaning is done by scarping the outsider of *Chekoua* and rinsing with water to avoid any accumulation of whey and/or soluble phase. The whole raw milk (2 L per each *Chekoua*) was added after 54 d until the end of the production (72 d) at four intervals. Adding the whole raw goat milk directly into the *Chekoua* and mixed with curd, contribute to bring the fat, and regulate the final acidity and final salt level of the cheese. At the end of cheese making process, the hot pepper powder was blended with the raw milk, and homogenized with the cheese paste; the quantities are added according to the taste and the food habit of each family. The analysis for *Lben* was done at the first day and cheese analysis was done in eight intervals.

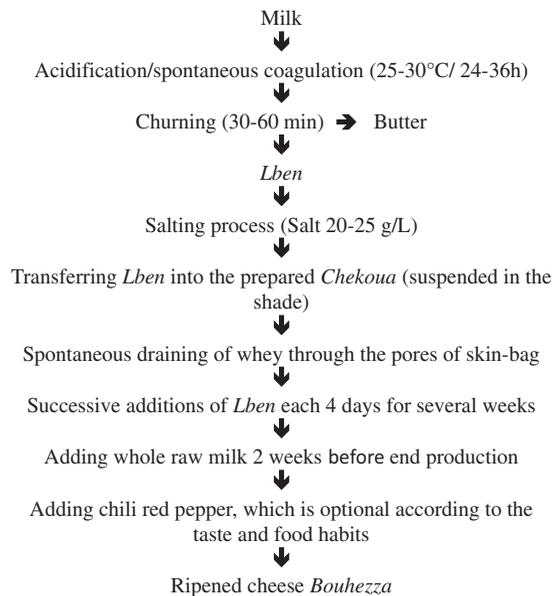


Figure 1. Flow diagram of traditional manufacture of *Bouhezza* goat’s raw milk cheese (re-arranged by the data from Aissaoui Zitoun et al. (2011) and Aissaoui Zitoun [2014]).

Chemical analysis

Sampling

Samples were taken at regular intervals of eight days (0, 8, 15, 22, 30, 42, 54, 64, and 72 d) during ripening of *Bouhezza* to follow any changes in physicochemical parameters. *Lben* and cheese samples of *Bouhezza* were analyzed in duplicate for moisture or dry matter (DM) by the oven drying method at 102°C,^[13] fat by the Van Gulik method^[14] and total nitrogen (TN) by the micro-Kjeldahl method.^[15] The pH was measured using a digital pH meter (model Seven Compact S220K, Mettler-Toledo, Greifensee, Switzerland). Titratable acidity of samples was measured according to AOAC,^[16] the results were expressed as the percentage of lactic acid. The ash rate was also determined.^[17]

Proteolysis

Nitrogen Fractions

Water-soluble nitrogen (WSN) and 12% trichloroacetic acid soluble nitrogen (TCA-SN), as the percentage of the TN, and the total free amino acid (FAA) levels in the WSN fraction of the cheeses were determined by the methods described by Hayaloglu et al.^[18]

Urea polyacrylamide gel electrophoresis (urea-PAGE) of caseins

Water-insoluble fractions of the cheeses were freeze-dried and then analyzed by urea-PAGE using a Protean II XI vertical slab gel unit (Bio-Rad Laboratories Ltd, Watford, UK) according to the method of Andrews^[19] and the gels were stained directly by the method of Blakesley and Boezi^[20] with Coomassie Brilliant Blue G-250. After detaining using the pure water, gel slabs were digitized using a scanner (HP Scan Jet software, Scan Jet G4010, Hewlett Packard, Palo Alto, CA).

Reverse-phase-high-performance liquid chromatography (RP-HPLCs) of peptides

The WSN fraction of the cheeses were freeze-dried and analyzed by a RP-HPLC as described in Sulejmani et al.^[21] using a Shimadzu LC 20 AD Prominence HPLC system (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan). A Phenomenex Jupiter C18 column 250 × 4.6 mm × 5 μm, 300 Å pore size (Phenomenex Co, Torrance, CA, USA) was used. The solvents were as follows: (A) 0.1% (v/v) trifluoroacetic acid (TFA, sequencing grade; Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH, Seelze, Germany) in deionized HPLC-grade water (Milli-Q system; Waters Corp., Molsheim, France) and (B) 0.1% (v/v) TFA in acetonitrile (HPLC grade; Merck KGaA, Darmstadt, Germany) at a flow rate of 0.75 mL/min. A 10 mg WSN fraction was dissolved in solvent A (10 mg/mL), filtered through a 0.45 μm cellulose acetate filter (Sartorius GmbH, Gottingen, Germany) and an aliquot (60 μL) of filtrate was injected into the column. The samples were eluted initially with 100% solvent A for 5 min, then with a gradient from 0 to 50% solvent B over 55 min, maintained at 50% solvent B for 6 min, followed by a linear gradient from 50 to 60% solvent B over 4 min and finally with 60% solvent B for 3 min. The elute was monitored at 214 nm.

Volatile analysis

Lben as a raw material (d 0) and cheese samples (from 30 to 72 d of ripening in the goat-skin bag) and one sample farm of cow's milk cheese (>30 d ripened) were sliced into small granules and placed immediately in glass bottles in a freezer at -20°C. Volatiles were determined by solid-phase microextraction (SPME) method using gas chromatography-mass spectrometry system (GC-MS; Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan), as described in Sulejmani et al.^[21] The results were calculated by the comparison of the peak area of the internal standard and the unknown compounds. The standards used for confirmation in the GC analysis were: Benzyl alcohol, 1-hexanol, 2-octanol, 2-heptanol, 2-ethyl-1-butanol, 1-pentanol, pentanoic acid, nonanoic acid, phenyl acetaldehyde, isopropyl butanoate, methyl octanoate, 2-pentanone, propyl butanoate, 2-methyl butyl acetate, 2-heptanone, 1-octanol, 2,5-dimethyl pyrazine, isovaleric acid, hexanoic

acid, octanoic acid, methyl hexanoate, proyl hexanoate, acetaldehyde, ethanol, 2-butanone, nonanol, 2-heptanone, 2-butanol, 1-hexanal, 2-nonanone, ethyl acetate, and octyl acetate, etc. Each compound was expressed in a microgram per L of *Lben* and per kg of cheese.

Statistical analysis

The analysis of variance (ANOVA) was performed and a multiple comparison test was used to compare the means in chemical composition of the three-cheese making. The relationship between the chemical parameters were examined by correlations with the different age of ripening. The least significant difference of the data were reported. The level of significance of differences between treatments was determined ($p < 0.05$, $p < 0.01$, and $p < 0.001$). The logical Costat 6.400, CoHort Software 1998–2008 was used for ANOVA analysis. The relationship between variables in volatiles was assessed by the principal component analysis (PCA). The statistical treatment was performed using the XLSTAT version 2009.1.02 (Copyright Addinsoft 1995–2009)^[22] for Windows for the PCA volatiles analysis.

Results and discussions

Chemical composition

Physico-chemical results are given in Table 1. The pH of *Lben* was 4.70 ± 0.15 ; this result was similar with those of cow's milk (4.84) found by Aissaoui Zitoun et al.^[11] and slightly higher than the results of the *Lben* that is obtained from the fermented traditional cow's milk (4.45).^[23] The dry matter was $13.5 \pm 2.49\%$, higher than those of Aissaoui Zitoun et al.^[11] ($9.06 \pm 1.2\%$) and Samet-Bali et al.^[23] (7.05%).

A variation of the mean pH value of the three cheese making trials was observed during ripening. Its value ranged from 3.64 to 4.44 (Table 1). The pH decreased to 3.64 and increased until 4.24 at the end of the ripening process (d 53 and 72, respectively). This result was in accordance with those obtained by Aissaoui Zitoun et al.,^[11] slightly different with the soft goat cheese which had pH values 4.12 and 4.27,^[8] and lower than in Gokceada goat cheese (pH 4.71)^[9] and Darfiyeh (pH 4.87 to 5.10).^[24] The titratable acidity increased from 0.99% for *Lben* to 1.15% for cheese at the 72 d. This is probably due to the continuous activity of LAB which are brought with raw materials (*Lben* and the whole raw milk). The same trend and also with a high final acidity was observed by Aissaoui Zitoun et al.^[11] in *Bouhezza* cow's milk (from 0.84 to 3.08 g/100 g). The level of dry matter increased from 13.50 % (*Lben*) to 51.95% at the end of ripening of cheese (72 d). The level of ash in dry matter decreased from 7.63% (*Lben*) to 6.03% (72 d; level of ash increased from 1.03% in *Lben* to 3.13 % in the ripened cheese at 72 d. The results of dry matter were higher than those of referred by Aissaoui Zitoun et al.,^[11] when the level in *Bouhezza* cheese from cow's milk ripened for 10 weeks, ranged from 9.06% (in *Lben*) to 35.86% (at the 10th week). The fat in DM increased from 14.81% in *Lben* to 28.87% in the 72 d-old cheese (final phase in the ripening). The addition of *Lben* every 4 d during 7 weeks and the whole raw milk, from the 54th d until the end of cheese ripening, contribute at this evolution. This is probably due to the draining of whey (soluble phase), where minerals are lost through the pores of *Chekoua* which generates the increase of the cheese's DM and decreasing ash in DM. Aissaoui Zitoun et al.^[11] have reported the same allegations. At 72 d of the ripening, *Bouhezza* goat's milk is classified, according to FAO,^[25] with moisture in non-fat substance (MNFS) and fat-in-DM (FDM) about 67.55% and 28.87% respectively, as soft and mid-fat cheese. This result is similar as those reported by Aissaoui Zitoun et al.,^[11] for 10-week-old *Bouhezza*. The ANOVA results during ripening of *Bouhezza* cheese showed that there is a very strongly significant effect of the ripening time factor, on evolution of measured parameters; such as pH; acidity/DM, and DM ($p < 0.001$). Unlike the rate of ash and protein in the dry matter where, there is no significant effect of maturation time factor in their evolution ($p > 0.05$). Between the three manufacturing the acidity in the dry matter and ash content in

Table 1. Chemical composition (in %) and pH of traditional Algerian *Bouhezza* goat's milk cheese ($n = 3$).

Parameters	Ripening time (day)							
	0 (<i>Lben</i>)	8	15	30	38	45	53	72
pH	4.70 ± 0.15	4.44 ± 0.13	4.21 ± 0.02	4.06 ± 0.09	3.97 ± 0.08	3.78 ± 0.07	3.64 ± 0.26	4.24 ± 0.37
Dry matter (DM)	13.50 ± 2.49	23.07 ± 4.70	31.32 ± 4.21	30.23 ± 1.96	28.21 ± 6.26	39.66 ± 3.56	49.70 ± 3.51	51.95 ± 2.19
Acidity/DM	73.78 ± 0.55	42.52 ± 0.70	30.62 ± 0.25	33.44 ± 0.35	29.88 ± 0.30	27.38 ± 1.20	22.68 ± 1.45	22.25 ± 0.90
Fat-in-DM	14.81 ± 0.00	ND	10.85 ± 0.90	10.58 ± 0.80	ND	31.77 ± 6.90	ND	28.87 ± 1.00
Ash-in-DM	7.63 ± 0.11	9.10 ± 0.94	7.12 ± 0.66	10.16 ± 1.52	6.22 ± 0.19	8.57 ± 1.49	7.53 ± 1.43	6.03 ± 0.42
Protein-in-DM	10.42 ± 1.78	ND	31.13 ± 5.14	42.09 ± 3.23	ND	36.64 ± 3.62	28.27 ± 6.96	33.75 ± 0.92

Mean ± standard deviation, nd: not determined.
Medjoudj et al.

the dry matter, showed very significant differences ($p < 0.001$), between the two manufacturing F1 and F2 with F3. This is because both F1 and F2 fabrications was carried out simultaneously with the same raw materials and under the same conditions. Conversely, F3 was produced with other raw materials which come from a different place where feed goat's is different with the fabrications F1 and F2.

Proteolysis

Changes of protein fractions during ripening

The total proteins in DM and the TN increase in all cheeses, reaches an appreciable value in final cheese (72 d), $33.75 \pm 0.92\%$ and $2.75 \pm 0.11\%$ cheese, respectively. The levels of WSN decreased during 45 d of ripening. At the end of the ripening, there was an increase from 7.89% until 14.44% of TN at 64 and 72 d (Table 2), respectively. These results are lower than those of the results presented by Aissaoui Zitoun et al.^[11] in final *Bouhezza* cow' cheese, in Gokceada goat cheese,^[9] and then Darfiyeh.^[24] Also, slightly higher than those obtained in Xinotyri goat cheese.^[26] The same evolution was observed for TCA-SN, a decrease from the beginning of the production to 45 d. Also, at the end of ripening, there was an increase 10.27% of TN. These results are slightly higher than those of Gokceada goat cheese^[9] and Xinotyri goat cheese^[26] at the end of ripening, but the same rate was obtained at 45 d in both of cheeses *Bouhezza* and Xinotyri. The level of this fraction was higher in Darfiyeh at 60 d,^[24] than in *Bouhezza* goat cheese at the end of ripening.

Table 2 showed that there is an increase of the content in FAAs during the ripening, from 0.24 at $1.10 \text{ mg Leu.g}^{-1}$ *Bouhezza* cheese (at 8 and the 45 d) and reaches 0.70 and $1.38 \text{ mg Leu.g}^{-1}$ cheese, respectively, at 64 and 72 d. These results are higher than Xinotyri goat cheese after 45 d until the end of ripening,^[26] and then in Kashar cheese made with raw goat milk at 90 d of ripening.^[27] The mean square of the variance of the measured parameters of the protein fractions showed that the significant effect of ripening time factor on these parameters is different, where the effect on the evolution of TN, is very strongly significant ($p < 0.001$), the effect on the evolution of amino acids is highly significant ($p < 0.01$) and finally on the TCA-SN/TN is significant ($p < 0.05$). No effect was

Table 2. Evolution of protein fraction (Mean ± SD); total nitrogen (TN); water-soluble nitrogen (WSN/% of TN); 12% Trichloroacetic acid-soluble nitrogen (TCA-SN/% of TN) and total free amino acids (FAA) during ripening of Algerian traditional *Bouhezza* goat's milk cheese ($n = 3$).

Parameters	Ripening time (days)				
	8	30	45	64	72
TN, %	1.28 ± 0.36	1.86 ± 0.05	2.24 ± 0.13	2.77 ± 0.02	2.75 ± 0.11
WSN/TN. %	8.97 ± 2.96	5.38 ± 0.45	5.38 ± 1.46	7.89 ± 2.51	14.44 ± 6.20
TCA SN/TN. %	7.01 ± 1.95	4.78 ± 0.66	4.80 ± 1.06	7.26 ± 0.00	10.27 ± 0.10
Total FAA, mg Leu.g ⁻¹ cheese	0.24 ± 0.01	0.41 ± 0.01	1.10 ± 0.02	0.70 ± 0.08	1.38 ± 0.03

Medjoudj et al.

observed on the development of WSN/TN and also between the three different productions during cheese ripening of *Bouhezza*.

Urea-PAGE of caseins (CN)

Figure 2 showed the urea-PAGE of the water-insoluble fractions of the cheese *Bouhezza* from goat's milk. It has been established from highest to lowest molecular weight; γ -CN, β -CN, α s-CN, and Pre- α s-CN.^[28,29] These four areas of electrophoretic bands showed that there is a proteolysis in the water-insoluble fraction of cheese. In cheese making of the Algerian traditional *Bouhezza* made with goat's milk, neither coagulant nor starter were used to coagulate the milk. The process takes place spontaneously by indigenous proteinase and LAB's enzymes, consequently the proteolysis and the hydrolysis of β -CN fraction is certainly due to the action of plasmin. The intermediate size of peptides are degraded subsequently by the enzymes from non-starter microflora existing in the cheese and originate from raw milk. The extracellular proteinase of lactococci contribute to the formation of small peptides in cheese by hydrolyzing the larger peptides produced from α s1-CN or from β -CN. While the peptidases (intracellular) are released after lysis of bacterial cells, these are responsible for the degradation of short peptides and the production of FAAs.

The profile of the urea-PAGE gel shows two main bands with different electrophoretic mobility, which corresponds to native CN; the groups α s-CN and the β -CN. Little bands with lower mobility appear under β -CN fraction, which are released under action of plasmin on this fraction. As reported by Sousa et al.^[30] and other previous studies, the cleavage of the plasmin on β -CN be happens at the level of three sites; at Lys28-Lys29, Lys105-His106, and Lys107-Glu108 which gives three peptide fractions as β -CN (f29–209; γ 1-CN), β -CN (f106–209; γ 2-CN), and β -CN (f108–209; γ 3-CN). The same profile was reported by Aissaoui Zitoun et al.^[31] in *Bouhezza* cheese made with cow's milk. The intensity of these γ -CN bands (peptides of β -CN), appeared with high intensity at 15 and 30 d, and

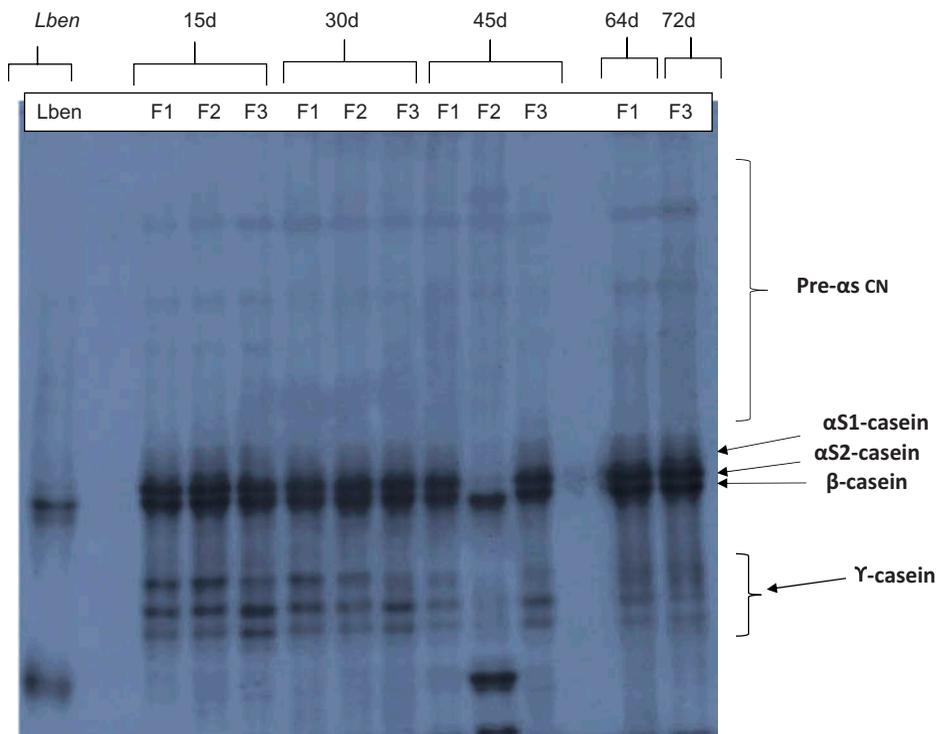


Figure 2. Urea-polyacrylamide gel electrophoresis (urea-PAGE) of the water-insoluble nitrogen fractions *Lben* and 15, 30, 45, 64, and 72 d-old *Bouhezza* cheese. F1, F2, or F3 refer to fabrications (trials) of *Bouhezza* cheese.

decreased at 45 d until 64 and 72 d, but not completely disappeared. It is probably due to the cleavage of those peptides with the enzymes liberated from cells of the lactic bacteria, also because there is an adding of first matter continuously until the fourth days before recovery of cheese.

Hayaloglu et al.^[18] have also found that the cheese without starter had a slightly higher concentration of γ -CN because of plasmin activity. The proteolysis involved in the *Bouhezza* goat's cheese has two sources. Indigenous proteinases in milk; the plasmin and cathepsin, with proteinases enzymes from the native microflora of the milk. In addition, non-starter lactic bacteria contribute to the production of short peptides and FAAs.^[30,32] Aissaoui Zitoun et al.^[31] have reported the same allegations, where the native enzymes of the milk and the endogenous proteinases brought by the indigenous bacteria which are the source of proteolysis in *Bouhezza* made with cow's milk.

Three bands with different higher electrophoretic mobilities corresponded to the peptides released during proteolysis of α s1-CN, probably by cathepsin D with formation of α s1-CN (24-199) which is attributed to the acid milk proteinase.^[33] The three bands appear at the first step of ripening at 15 d and two bands disappearing at 30 and 45 d, probably by a cleavage by peptidases of LAB, and appearing at the end of ripening after adding goat's raw milk, at 64 and 72 d, where indigenous enzymes plays their role of primary proteolysis. These bands are showed as α s1-CN (24-199), α s1-CN (102-199), and α s1-f (*-*).^[31] Also, the plasmin had an action on α s2-CN in solution at the level of eight sites.^[30]

RP-HPLCs of water-soluble fractions

Figure 3 indicated the peptide profiles of the WSN fractions of the cheeses. The peptides eluted between 10 and 35 min, were hydrophilic (HI) peptides, whereas the peptides eluted from 35 to 80 min were considered as hydrophobic (HO) peptides. It has been reported that RP-HPLC chromatograms of soluble fractions at pH 4.6, can be divided into three areas; when the FAAs are eluted between 0 to 10 min, HI and HO peptides are then eluted in the previous order.^[34-36]

The RP-HPLC chromatogram was rich in some FAAs with the first 15 min for all cheeses productions (F1, F2, and F3). It was appeared that the HI peptides eluted between 15 and 35 min. It was an abundance and diversity of peaks representing the different peptides released by proteolysis and casein degradation. As shown in Fig. 2, urea-PAGE of the cheeses revealed some fractions obtained following the proteolysis of β - and α s-CN giving those bands of peptides, which are liberated in the water-soluble phase. The more interesting is that the intensity of the peaks, which represents the concentration, increases during the ripening time, after 30 d of ripening, there is an increase of the number of peaks, which means that new peptides are generated. At 45 d, there is a profusion of HI peptides, which stills appeared to enrich the *Bouhezza*. The peptide fractions following proteolysis may, in turn, be metabolized into amino acids, which helps to provide the specific sensory properties to the cheese.

Finally, the third step of the chromatogram shows that this phase from 35 to 80 min emerging from the HO peptides which are important as the HI ones. The new peaks, emerging represent new peptides, which mean that the proteolysis continues to take place in enriching cheese with new molecules. Proteolysis of the CN to a range of small- and intermediate-sized peptides and FAAs probably only contributes to the flavor of most cheese varieties, but FAA are important precursors for a volatile compounds.^[33] In *Bouhezza* cheese, the initial hydrolysis of CN is caused by the plasmin, which results in the formation of large and intermediate-sized peptides, which are degraded subsequently by the enzymes from the non-starter microflora of the cheese. In addition, it is going to be very rich with aromatic substances, which may derive from proteolysis.

Volatile composition

A total of 109 volatile compounds were determined in the different samples analyzed. In *Lben*, 55 compounds found, and during the manufacture of the Algerian traditional cheese *Bouhezza* made from raw goat's milk, 87 volatile compounds at 30 d, 92 compounds at 72 d, and in the sample of

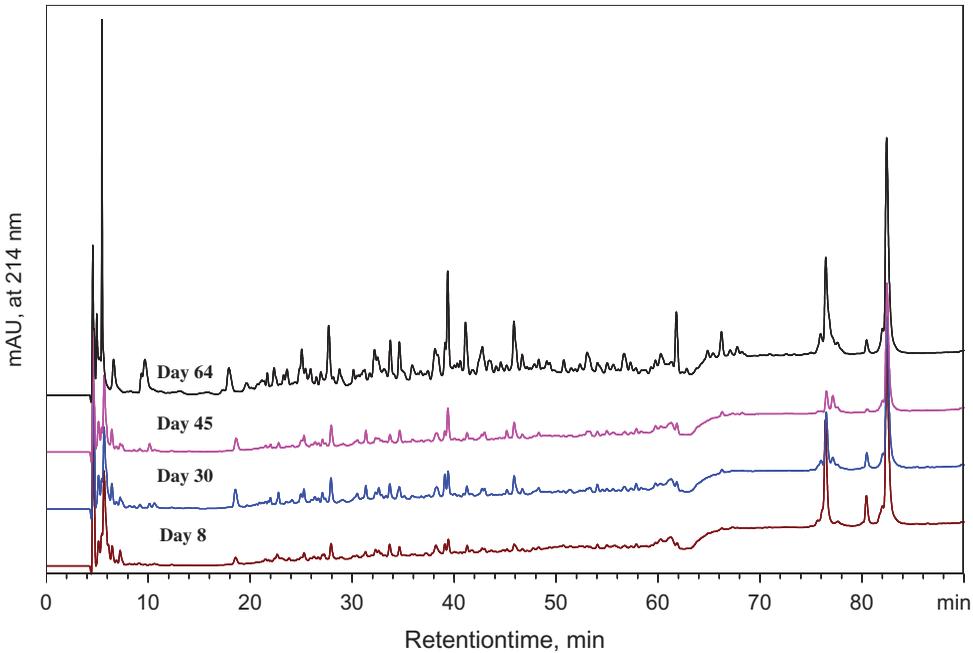


Figure 3. RP-HPLC profile of water-soluble nitrogen fraction of *Bouhezza* raw goat's milk cheese during ripening. Eluted at 214 nm (arbitrary units).

cow's milk *Bouhezza* cheese, whose age is greater than 30 d, 69 volatile compounds was detected. The relative concentrations of volatile compounds including 31 esters, 14 carboxylic acids, 14 alcohols, 8 ketones, 8 aldehydes, 21 terpenes, and 13 miscellaneous compounds detected in *Bouhezza* cheese were given in Tables 3 through 9.

Esters

The major esters found in *Bouhezza* cheese (Table 3) were ethyl esters (14; ethyl acetate, butanoate, haxanoate, octanoate and decanoate, and 2-phenethyl acetate), which are determined in the *Lben* with appreciable levels (4.670, 4.65, 14.97, 15.83, 8.12, and 0.90 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectively) and in the *Bouhezza* cheese. The others were methyl (5), propyl (7), butyl (3), and isoamyl and isopentyl esters (2). Their concentrations increased during the ripening, in particular, after 30 and 72 d. The butanoate ($65.95 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$), haxanoate ($345.87 \mu\text{g kg}^{-1}$), octanoate ($625.37 \mu\text{g kg}^{-1}$), and decanoate ester ($594.72 \mu\text{g kg}^{-1}$), appeared at the highest levels after 72 d, except for ethyl acetate, when the level was higher ($59.53 \mu\text{g kg}^{-1}$) at the first step of ripening in the d 30 and it decreases ($20.81 \mu\text{g kg}^{-1}$). The levels of these compounds in *Bouhezza* goat's cheese were higher than those found in *Bouhezza* cheese of the cow's milk (age >30 d of the ripening) and, than those reported by Aissaoui Zitoun.^[37] Propyl and butyl esters have low levels or they were absent in *Lben*, at d 30, and they increased in the d 72. Hayaloglu et al.^[9] reported that the most important esters encountered in the goat's cheese were ethyl haxanoate, octanoate, decanoate in Turkish cheeses of the goat's milk Gokceada and Saanen. Ethyl acetate is an important flavor compound in many cheeses; it is formed from lactose by lactic bacteria; citrate and lactate metabolism, or as a product of the catabolism of amino acids.^[33]

Table 3. Esters (Mean \pm SD $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for *Lben* and $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ for cheese) in *Lben* from goat milk and *Bouhezza* raw goat's milk cheese.

Esters	Ri	<i>Lben</i>	30d	72d	Cow cheese
Ethyl acetate	838	4.7 \pm 1.3	59.5 \pm 43.8	20.8 \pm 13.3	12.4 \pm 0.4
Ethyl propanoate	915	ND	7.5 \pm 6.7	0.4 \pm 0.0	0.3 \pm 0.0
Methyl butyrate	960	ND	0.2 \pm 0.0	1.5 \pm 0.5	0.6 \pm 0.0
Ethyl butanoate	1028	4.6 \pm 1.8	10.6 \pm 0.5	65.9 \pm 37.4	14.1 \pm 0.9
Ethyl pentanoate	1085	0.3 \pm 0.0	0.5 \pm 0.2	2.2 \pm 0.6	1.0 \pm 0.1
Isoamyl acetate	1112	ND	2.4 \pm 0.7	1.4 \pm 0.9	4.7 \pm 1.7
2-Methylpropyl butanoate	1136	ND	0.4 \pm 0.0	0.7 \pm 0.0	2.1 \pm 0.4
Methyl hexanoate	1167	ND	0.2 \pm 0.2	7.1 \pm 2.7	7.1 \pm 0.8
Butyl butanoate	1220	0.2 \pm 0.0	0.2 \pm 0.0	ND	0.1 \pm 0.0
Ethyl hexanoate	1205	15.0 \pm 3.8	15.8 \pm 9.5	345.9 \pm 215.5	71.2 \pm 10.6
3-Methylbutyl butanoate	1247	0.5 \pm 0.0	0.3 \pm 0.0	8.7 \pm 5.3	3.4 \pm 0.4
Pentyl 2-methylpentanoate	1284	0.5 \pm 0.0	2.1 \pm 2.1	1.9 \pm 0.0	ND
Hexanoic acid, 1,1-dimethylpropyl ester	1285	1.3 \pm 0.8	4.6 \pm 2.7	6.4 \pm 0.1	10.3 \pm 2.2
Ethyl heptanoate	1316	0.7 \pm 0.0	0.9 \pm 0.0	13.6 \pm 8.5	2.0 \pm 0.3
Propyl hexanoate	1320	ND	0.5 \pm 0.0	5.5 \pm 4.3	0.4 \pm 0.0
2-Methylpropyl hexanoate	1337	0.2 \pm 0.0	ND	2.0 \pm 1.0	2.8 \pm 0.0
Ethyl lactate	1342	ND	0.3 \pm 0.0	4.6 \pm 0.0	5.6 \pm 0.4
Methyl octanoate	1376	ND	0.2 \pm 0.0	25.7 \pm 13.0	5.5 \pm 1.0
Ethyl octanoate	1423	15.8 \pm 2.5	23.4 \pm 4.5	517.6 \pm 107.8	50.2 \pm 9.0
Ethyl decanoate	1626	8.1 \pm 4.0	16.2 \pm 4.0	491.8 \pm 102.9	24.9 \pm 3.3
Isopentyl hexanoate	1446	0.2 \pm 0.0	0.2 \pm 0.0	4.1 \pm 0.0	2.2 \pm 0.4
Propyl octanoate	1508	ND	ND	3.4 \pm 2.3	ND
Ethyl nonanoate	1525	ND	1.0 \pm 0.0	17.7 \pm 11.9	1.7 \pm 0.3
2-Methylpropyl octanoate	1540	ND	ND	1.5 \pm 0.6	0.6 \pm 0.1
Methyl decanoate	1583	ND	ND	22.4 \pm 13.5	2.2 \pm 0.4
Ethyl 9-decenoate	1694	ND	0.6 \pm 0.1	24.8 \pm 17.0	5.5 \pm 0.6
Propyl decanoate	1720	ND	ND	3.0 \pm 2.3	ND
2-Phenethyl acetate	1814	0.9 \pm 0.4	15.6 \pm 11.0	73.0 \pm 51.7	27.8 \pm 2.3
Ethyl dodecanoate	1830	ND	1.1 \pm 0.5	67.5 \pm 47.1	4.4 \pm 0.4
3-Methylbutyl decanoate	1864	ND	ND	0.7 \pm 0.0	ND
Phenethyl propionate	1880	ND	ND	5.1 \pm 4.0	0.3 \pm 0.0

Ri: retention index, ND: not detected.

Medjoudj et al.

Carboxylic acids

The carboxylic acids were found at high concentrations in the *Bouhezza* cheese of the goat's milk (Table 4), as reported in other works on cheeses made with goat's milk (raw or pasteurized milk).^[8,9,33,38] The acetic (59.9 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), hexanoic (51.5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), octanoic (111.2 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), and decanoic (60.1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) acids are the most abundant acids in *Lben*, compared with other carboxylic acids. Butyric acid has a high content (7.8 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) compared to the rest of other acids but it remains below these four mentioned acids. In the *Lben* of cow's milk and the *Bouhezza* cheese, the acids; butyric, caproic and capric are presented with a highest level.^[37] The level of low-chain carboxylic acids (i.e., C₂-C₁₀ acids) in goat's milk *Bouhezza* cheese increased during ripening. At the d 72, the increase of the levels of short-chain carboxylic acids was very important for all carboxylic acids, ranging from three to over twenty fold than at d 30. The five principal acids including acetic (606.3 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$), butanoic (778.9 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$), hexanoic (2,063.7 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$), octanoic (1,660.3 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$), and decanoic (1,054.2 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) acids are shown in the Table 4. Among those acids, the hexanoic was present at the highest level in the final cheese, followed by octanoic, decanoic, butanoic, and acetic acids. Those were the principal acids presented in many goat cheeses made using raw or pasteurized milk.^[8,9,38,40] The reason of this increase is probably due to the contribution of fat by the addition of the whole raw milk during the manufacturing of *Bouhezza* from d 54. Hayaloglu et al.^[9] have obtained similar results, and demonstrated that acetic, decanoic, hexanoic, and octanoic acids were the most abundant acids in cheese, especially after d 90 of the ripening. The increase in hexanoic acid, which is formed by lipolysis and contributes to the goat cheese odor, was noticeable in the cheeses from Turkish Gokceada goat's milk that having higher levels during the ripening.^[9] Acetic acid was the most abundant carboxylic acid in a Greek Xinotyri cheese of the goat's milk.^[26]

Table 4. Carboxylic acids (Mean \pm SD $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for *Lben* and $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ for cheese) in *Lben* from goat milk and *Bouhezza* raw goat's milk cheese.

Name of compounds	RI	<i>Lben</i>	30 d	72 d	Cow cheese
Acetic acid	1439	59.9 \pm 3.8	99.1 \pm 47.3	606.3 \pm 70.4	590.3 \pm 380.3
Propanoic acid	1541	ND	1.2 \pm 0.0	49.6 \pm 6.1	8.3 \pm 6.2
2-Methyl-1-propanoic acid	1551	ND	3.2 \pm 1.9	321.6 \pm 239.3	68.2 \pm 52.8
Butanoic acid	1609	7.8 \pm 1.7	31.0 \pm 10.4	778.9 \pm 3.4	385.2 \pm 296.0
3-Methyl butanoic acid	1652	1.0 \pm 0.0	5.3 \pm 3.3	67.5 \pm 67.5	51.1 \pm 39.2
Pentanoic acid (CAS) Valeric acid	1653	0.5 \pm 0.0	0.6 \pm 0.2	1071.9 \pm 802.8	ND
Hexanoic acid	1825	51.5 \pm 6.8	108.6 \pm 41.4	2063.7 \pm 135.2	1038.2 \pm 796.8
Heptanoic acid	1930	1.9 \pm 0.1	2.1 \pm 1.0	67.3 \pm 1.7	10.8 \pm 8.6
Octanoic acid	2034	111.2 \pm 4.7	87.0 \pm 38.0	1660.3 \pm 89.5	570.7 \pm 441.2
Nonanoic acid	2133	ND	1.9 \pm 0.6	30.3 \pm 2.5	7.5 \pm 5.8
Decanoic acid	2229	60.1 \pm 20.2	62.9 \pm 34.1	1054.2 \pm 40.8	221.4 \pm 167.4
Dec-9-enoic acid	2286	1.5 \pm 0.6	1.1 \pm 0.0	27.2 \pm 2.3	23.0 \pm 17.9
Benzoic acid	2409	ND	20.8 \pm 14.1	33.6 \pm 10.6	8.3 \pm 0.0
Dodecanoic acid	2437	3.3 \pm 0.9	4.9 \pm 3.9	73.8 \pm 14.8	23.3 \pm 16.6

RI: retention index, ND: not detected.
Medjoudj et al.

In *Bouhezza* cheese produced with cow milk (age >30 d), the same acids were present with lower levels. The order of these acids is hexanoic followed by acetic, octanoic, butanoic, and decanoic with lower concentrations. In the *Bouhezza* cheese at d 75, the level of hexanoic acid was the most abundant, followed by octanoic, the lowest level was the decanoic.^[37] The content of short-chain FA had a significant impact on the development of the aroma characteristics of Lebanese Darfiyeh cheese; the acids C6-C12 concentrations were significantly higher throughout the ripening.^[24] The concentrations of caprylic and capric acids were significantly higher in Teleme cheese made from goats' milk than in cheeses made from ewes' milk at the ripening.^[41] Butyric acid is also an important component of Greek Feta cheese, which contributes greatly to its flavor and piquant taste.^[42] In semi-hard Spanish goat's cheese, fatty acids (FAs) were the predominant compounds. Decanoic acid was present at the highest concentrations followed by octanoic and hexanoic acids.^[43] The short- and medium-chain FAs, contribute directly to cheese flavor, are released into the cheese by lipolysis.^[44] They are also precursors of molecules of flavor and aroma compounds (methyl-ketones, lactones, esters, alkanes and the secondary alcohols).^[43,45] According to Le Qu  r  t et al.,^[39] some FAs including hexanoic, octanoic, nonanoic, decanoic, 3-methylbutanoic, 4-methyloctanoic, and 4-ethyloctanoic acids were identified in a traditional soft goat cheese, and the cheese characterized as goaty aroma.

Alcohols

Fourteen alcohols were determined in the *Bouhezza* cheese made from goat's raw milk (Table 5) during 72 d of ripening. In *Lben*, the most abundant alcohol was ethanol (12.1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), followed by 3-methyl-1-butanol (2.8 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) and 1-hexanol (1.1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). Ethanol was also a principal component in the Tunisian traditional *Lben* of the cow's milk.^[23] The other compounds were of lower levels; including 2-nonanol, 1-octanol, benzyl alcohol and phenethyl alcohols. Table 5 showed the variation of ethanol, 3-methyl-butanol, phenethyl-alcohol, 2-nonanol, and 1-octanol at all the stages of the cheese ripening (in *Lben*, to the end of the ripening at d 72). Also, in *Bouhezza* cheese made using cow's milk (after 30 d) except the last two, where the 2-methyl-1-propanol which was present.

Large quantities of ethanol were detected in Majorero cheeses of the goat milk^[34] and in Greek Xinotyri goat cheese.^[26] Ethanol has a limited aromatic role in cheeses, but it is the precursor of several esters and the conditions in the cheese can promote the rapid reduction of aldehydes and ketones to their primary and secondary alcohols.^[38] The concentrations of 3-methyl-1-butanol decreased from d 30 to d 72; they were lower than in the *Bouhezza* of cow's milk (age of sample >30 d) and in that reported by Aissaoui Zitoun.^[37] at 75 d. The level of 3-methyl-1-butanol was higher in the Teleme cheeses of the goat milk than in a ewe's milk cheeses as reported by Massouras et al.^[46] The phenethyl alcohol increases at d

Table 5. Alcohols (mean \pm SD $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for *Lben* and $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ for cheese) in *Lben* from goat milk and *Bouhezza* raw goat's milk cheese.

Alcohols	RI	<i>Lben</i>	30d	72d	Cow cheese
Ethanol	894	12.1 \pm 2.8	36.8 \pm 24.7	66.9 \pm 56.8	14.8 \pm 5.2
2-Butanol	1022	ND	1.7 \pm 0.0	ND	ND
2-Methyl-1-propanol	1086	ND	0.3 \pm 0.0	0.5 \pm 0.1	1.2 \pm 0.1
3-Methyl-1-butanol	1205	2.8 \pm 1.8	16.4 \pm 0.2	6.2 \pm 0.1	15.6 \pm 0.3
2,6-Dimethyl-4-heptanol	1480	ND	0.2 \pm 0.0	ND	ND
4-Methyl-2-pentanol	1301	ND	0.7 \pm 0.0	0.5 \pm 0.0	ND
1-Hexanol	1341	2.2 \pm 0.0	1.4 \pm 0.7	ND	ND
2-Methyl-2-propanol	1340	ND	ND	0.5 \pm 0.0	ND
2,3-Butanediol	1338	ND	0.3 \pm 0.0	ND	ND
2-Nonanol	1491	0.2 \pm 0.0	0.5 \pm 0.0	0.2 \pm 0.0	ND
1-Octanol	1542	0.5 \pm 0.1	0.9 \pm 0.7	1.9 \pm 0.0	ND
2-Furanmethanol	1727	ND	1.6 \pm 0.0	ND	ND
Benzyl alcohol	1846	0.1 \pm 0.0	2.5 \pm 1.9	ND	ND
Phenethyl alcohol	1905	0.2 \pm 0.1	2.7 \pm 2.0	28.8 \pm 7.1	2.0 \pm 0.2

RI: retention index. ND: not detected.

Medjoudj et al.

30, and higher at d 72, its content is lower in the *Bouhezza* cheese of the cow's milk (age of sample > 30 d), and it was found by Aissaoui Zitoun.^[37] at 75 d. Some compounds appeared at d 30 of ripening and then disappeared, such as 2-butanol, 2,6-dimethyl-4-heptanol, 2,3-butanediol, and 2-furanemethanol. Benzyl alcohol were present in *Lben*, increased in *Bouhezza* cheese at d 30 and then disappeared at d 72. The other compounds found are, 4-methyl-2-pentanol (absent in the *Lben*), 1-hexanol (absent at d 72), 2-nonanol, and 1-octanol (present at 30 and 72 d). The most abundant alcohols were 1-phenylethanol, octanol, 3-methylbutanol and 1-propanol in Darfiyeh cheese which is ripened in the goat-skin bag^[24] and alcohols were the main group of the chemicals found in the volatile fraction of Greek Xinotyri, a goat's cheese.^[26] Ethanol, pentan-1-ol and 3-methyl-1-butanol contributed to the aroma of Turkish Gokceada and Saanen goat's milk cheese.^[9]

The sample of *Bouhezza* made with the goat's milk was richer with alcoholic aromatic compounds than the *Bouhezza* from the cow's milk. Probably, the whole raw milk added at d 54 of manufacture, have an effect on aromatic alcohols profile in the final cheese *Bouhezza* goat's milk. Aissaoui Zitoun^[37] reported that the profile of alcohols in *Bouhezza* made with cow's milk could be due to the addition of the raw milk at the end of the manufacturing process of the cheese or due to the use of the raw milk in the production process.^[26]

Aldehydes

Eight aldehydes were identified in *Bouhezza* cheeses produced with goat's milk, and six in the cheese produced with cow's milk (Table 6). Hexanal, was the principal one, and nonanal were found in *Lben* and at all the stages of manufacturing of *Bouhezza* goat's cheese. The high concentration was at d 30, for hexanal (from 3.2 decreased to 2.0 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ at d 72) and for heptane (from 3.0 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ disappeared at 72 d). Hayaloglu et al.^[9] reported that aldehydes are not the major volatile compounds of goat milk cheeses; however, hexanal was abundant in all the samples of Gokceada and Turkish Saanen. 3-Methyl-1-butanal, appeared at d 72 of ripening (1.1 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) which, provided malt, oil, or aroma butter to cheese^[24] and it was main aldehyde in Gokceada and Turkish Saanen cheeses.^[9] The aldehyde compounds identified in Darfiyeh cheese ripened in goat-skin including octanal and 3-methyl-1-butanal. The latter was the major aldehyde found and it plays an important role in the flavor's development because of its low perception threshold.^[24] The aroma compounds identified in the Majorero goat's milk cheese included 3-methyl-1-butanal (which was the major aldehyde), hexanal, and heptanal. Those three compounds would provide malty and green aroma notes.^[38]

Table 6. Aldehydes (mean \pm SD $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for *Lben* and $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ for cheese) in *Lben* from goat milk and *Bouhezza* raw goat's milk cheese.

Name of compounds	RI	<i>Lben</i>	30d	72d	Cow cheese
3-Methylbutanal	881	ND	ND	1.1 \pm 0.8	0.2 \pm 0.0
Pentanal	979	ND	1.1 \pm 0.7	ND	0.2 \pm 0.0
Hexanal	1025	1.8 \pm 0.8	3.2 \pm 2.1	2.0 \pm 1.2	1.4 \pm 0.2
Heptanal	1153	1.0 \pm 0.0	3.0 \pm 1.5	ND	ND
Octanal	1269	0.6 \pm 0.1	0.8 \pm 0.0	ND	0.4 \pm 0.0
Nonanal	1383	0.9 \pm 0.2	0.6 \pm 0.4	1.3 \pm 0.8	0.4 \pm 0.0
Furfural	1494	ND	ND	3.3 \pm 0.1	0.5 \pm 0.1
Benzaldehyde	1525	0.5 \pm 0.0	ND	1.8 \pm 0.9	ND

RI: retention index. ND: not detected.

Medjoudj et al.

Ketones

Eight ketones were detected in the *Bouhezza* cheese from goat's milk (Table 7). In *Lben*, there were only four ketones including 2-pentanone, 2-heptanone, 4-octanone, and 2-nonanone and their levels were between 0.2 and 0.8 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. The same compounds were also identified in *Bouhezza* cheese during the ripening. Their respective levels were 2.3, 4.2, 0.2, and 5.1 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ of cheese at the end of the ripening, respectively. These values are higher than those obtained at d 30, except the 4-octanone. 2-Propanone was found to be a high level (3.6 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) at the end of the ripening, and the levels of 3-methyl-2-pentanone and butyrolactone were 2.8 and 1.7 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, respectively. Ketones contribute to the aromatic properties of goat's cheese such as 2-heptanone (mushroom), 2-nonanone (sour), and 3-hydroxy-2-butanone (buttery) with appreciable concentrations.^[43] 3-hydroxy-2-butanone was identified in the goat cheese varieties,^[39] fresh goat cheese,^[8] artisanal fresh goat's cheese.^[40] The methyl-ketones detected in *Bouhezza* cheese, are probably formed by the degradation of lipids and followed a metabolic pathway of β -oxidation.^[45] When the corresponding FAs have been released in cheese,^[39] the FAs are oxidized into β -ketoacids^[43] and decarboxylated to alkan-2-ones.^[33]

Terpenes

Twenty terpenes were identified in *Bouhezza* cheese from goat's milk and 12 terpenes in *Lben* (Table 8). The volatiles appear or disappear at different stages of ripening. dl-Limonene is the product with the highest content in the *Lben* reaching 131.7 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, followed by β -myrcene with 4.2 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, and then α -pinene and β -phellandrene at levels of 2.3 and 0.9 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively. Levels of linalool (0.7 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) was higher than other compounds (sabinene, delta-3-carene, cymol, para-cymene, alpha-terpinolene, (+)-2-carene and gamma-cadinene) and their levels were lower than 0.5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. The group of terpenes is widely varied in *Bouhezza* cheese. As the level of β -pinene ranged from 0.5 to 0.9 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ at d 72. dl-Limonene decreased to 5.6 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ at d 30 and increases until 45.0 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ at d 72 and as well as gamma-terpinene (0.4 to 5.9 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ at 30 and

Table 7. Ketones (mean \pm SD $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for *Lben* and $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ for cheese) in *Lben* from goat milk and *Bouhezza* raw goat's milk cheese.

Ketones	RI	<i>Lben</i>	30 d	72 d	Cow cheese
2-Propanone	761	ND	ND	3.6 \pm 3.4	ND
3-Methyl-2-pentanone	999	ND	ND	2.8 \pm 0.3	ND
2-Pentanone	951	0.4 \pm 0.0	0.4 \pm 0.1	2.3 \pm 1.6	0.4 \pm 0.0
2-Heptanone	1151	0.6 \pm 0.6	0.2 \pm 0.2	8.3 \pm 0.2	ND
4-Octanone	1210	0.8 \pm 0.0	0.6 \pm 0.1	0.5 \pm 0.0	0.5 \pm 0.0
3-Hydroxy-2-butanone	1280	ND	0.2 \pm 0.2	ND	2.3 \pm 0.0
2-Nonanone	1378	0.2 \pm 0.1	0.3 \pm 0.1	10.1 \pm 0.0	ND
Butyrolactone	1610	ND	ND	3.3 \pm 0.0	ND

RI: retention index. ND: not detected.

Medjoudj et al.

Table 8. Terpenes (mean \pm SD $\mu\text{g.L}^{-1}$ for *Lben* and $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ for cheese) in *Lben* from goat milk and *Bouhezza* raw goat's milk cheese.

Terpenes	RI	<i>Lben</i>	30 d	72 d	Cow cheese
Camphene	982	ND	3.5 \pm 2.9	ND	ND
Alpha-pinene	1005	4.6 \pm 0.0	38.1 \pm 29.2	6.7 \pm 3.2	ND
Beta-pinene	1085	ND	1.1 \pm 0.0	1.7 \pm 0.0	ND
Sabinene	1097	0.4 \pm 0.0	ND	1.8 \pm 0.9	0.2 \pm 0.0
Pinocarvone	1114	ND	5.0 \pm 4.9	2.2 \pm 0.0	0.6 \pm 0.0
Delta-3-carene	1121	0.4 \pm 0.0	4.6 \pm 1.5	1.3 \pm 0.0	0.3 \pm 0.0
Beta-myrcene	1132	4.2 \pm 2.1	2.4 \pm 1.0	1.5 \pm 0.6	ND
Beta-phellandrene	1170	1.8 \pm 0.0	11.2 \pm 7.4	4.2 \pm 0.0	ND
dl-limonene	1171	131.7 \pm 24.5	5.6 \pm 2.9	45.0 \pm 6.9	8.3 \pm 0.0
Beta-ocymene	1242	ND	1.0 \pm 0.0	ND	ND
Styrene	1244	ND	21.8 \pm 15.5	7.6 \pm 4.6	4.3 \pm 0.8
Cymol	1248	0.6 \pm 0.0	3.1 \pm 2.1	1.9 \pm 0.0	0.3 \pm 0.0
Para-cymene	1252	0.3 \pm 0.0	ND	1.7 \pm 0.0	0.8 \pm 0.1
Gamma-terpinene	1261	ND	0.4 \pm 0.0	5.9 \pm 0.9	0.8 \pm 0.0
Alpha-terpinolene	1262	0.9 \pm 0.0	0.6 \pm 0.0	0.5 \pm 0.0	ND
(+)-2-Carene	1268	0.2 \pm 0.0	ND	ND	ND
Linalool L	1530	0.7 \pm 0.2	1.3 \pm 0.9	ND	ND
Alpha-humulene	1603	ND	3.3 \pm 2.4	0.3 \pm 0.0	ND
Terpinen-4-ol	1616	ND	1.3 \pm 1.1	ND	ND
Terpinyl acetate	1700	ND	1.9 \pm 0.8	ND	ND
Gamma-cadinene	1761	0.7 \pm 0.0	0.6 \pm 0.0	0.3 \pm 0.0	ND

RI: retention index, ND: not detected.
Medjoudj et al.

72 d, respectively). Aissaoui Zitoun^[37] has reported the presence of d-limonene and α -pinene in *Bouhezza* cheese from the cow milk at 75 d.

Miscellaneous compounds

Among the identified benzenes (Table 9); toluene, 1,4-dimethylbenzene, 1,2-dimethylbenzene are present at low quantities in the *Lben* and continue to appear during the manufacturing. The high level of toluene at d 72 in *Bouhezza* cheese was the same as that which has been found by Hayaloglu et al.^[9] in goat's milk Gokceada cheese at d 90 of the ripening. Benzene, ethyl benzene,-1,3,5-trimethylbenzene, and m-chlorotoluene either they are absent in *Lben*, and appear at d 30 or at the end of ripening. The same compounds (benzene, dimethylbenzene, trimethylbenzene, and toluene) were found in the Camembert cheese.^[45] Methyl groups are present at d 72. Dimethyl sulfone was present with a stable level at d 30 to 72. Eight various compounds were present in the *Bouhezza* cow's milk (age >30 d); the group of identified benzenes with moderate levels, exception of toluene which is present with a high level.

PCA of volatiles

Two principal components are used in most cases of PCA analysis, which is sufficient to explain a great proportion of the variation into the original parameters. A biplot of sample scores is shown in Fig. 4, where the most important loadings and the percentage accounted by the two-first principal components (PC1 and PC2) after analysis. The variability of 77 and 12% were explained respectively by PC1 and PC2. The total variance explained 89% of the GC-MS data. A biplot showed that carboxylic acids contribute strongly as flavoured to the principal components such as octanoic, decanoic, hexanoic, acetic, butanoic and pentanoic acids which are grouped in the positive side of the PC1 axis, they represent the most important acids with high levels in the different samples of *Bouhezza* cheese goat's milk (72 d) and in sample made with cow's milk (>30 d; Table 4). The ethyl esters of octanoate, decanoate, hexanoate, acetate, and ethanol are also grouped in the positive side of the PC1 axis and in the negative side of the PC2 axis except the

Table 9. Miscellaneous (mean \pm SD $\mu\text{g.L}^{-1}$ for *Lben* and $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ for cheese) in *Lben* from goat milk and *Bouhezza* raw goat's milk cheese.

Miscellaneous compounds	RI	<i>Lben</i>	30 d	72 d	Cow cheese
2-Methyl-pentane	560	ND	0.1 \pm 0.1	0.3 \pm 0.0	ND
2-Methylhexane	650	ND	ND	0.7 \pm 0.0	ND
3-Methyl-hexane	679	ND	ND	1.3 \pm 0.1	0.2 \pm 0.0
Benzene	913	ND	ND	0.7 \pm 0.3	0.5 \pm 0.0
Toluene	1024	1.7 \pm 0.2	4.4 \pm 3.2	9.1 \pm 7.0	2.4 \pm 0.3
1,4-Dimethyl-benzene	1091	0.2 \pm 0.0	0.5 \pm 0.0	3.6 \pm 0.1	ND
1,2-Dimethyl benzene	1095	0.4 \pm 0.0	0.2 \pm 0.0	0.8 \pm 0.0	0.8 \pm 0.3
Ethyl benzene	1122	ND	0.4 \pm 0.2	0.4 \pm 0.0	ND
Octylacetylene	1215	ND	ND	1.0 \pm 0.0	0.2 \pm 0.0
2-Amylfuran	1221	ND	0.2 \pm 0.0	0.2 \pm 0.0	ND
1,3,5-Trimethylbenzene	1288	ND	ND	1.3 \pm 0.0	0.4 \pm 0.0
m-Chlorotoluene	1291	ND	0.3 \pm 0.1	0.2 \pm 0.0	0.5 \pm 0.1
Dimethyl sulfone	1896	ND	0.5 \pm 0.0	0.5 \pm 0.0	0.4 \pm 0.2

RI: retention index, ND: not detected.

ethanol who is in the positive side of the PC2, their contribution is important but lesser than the acids. The rest of compounds are grouped together around the center of bi-plot, the most of them are in the negative side of PC1 and on the line zero of the PC2 and then the contribution to the principal component is smaller than the two groups of the acids and their esters. All the samples are grouped in Fig. 4, on the positive side of the PC1 but samples of *Lben* are grouped on the positive side of the PC2 while the samples of *Bouhezza* cheese are grouped in the negative side of the PC2 and their contribution is strongly than those of *Lben* because the high levels of flavored compounds were found in the samples of cheese.

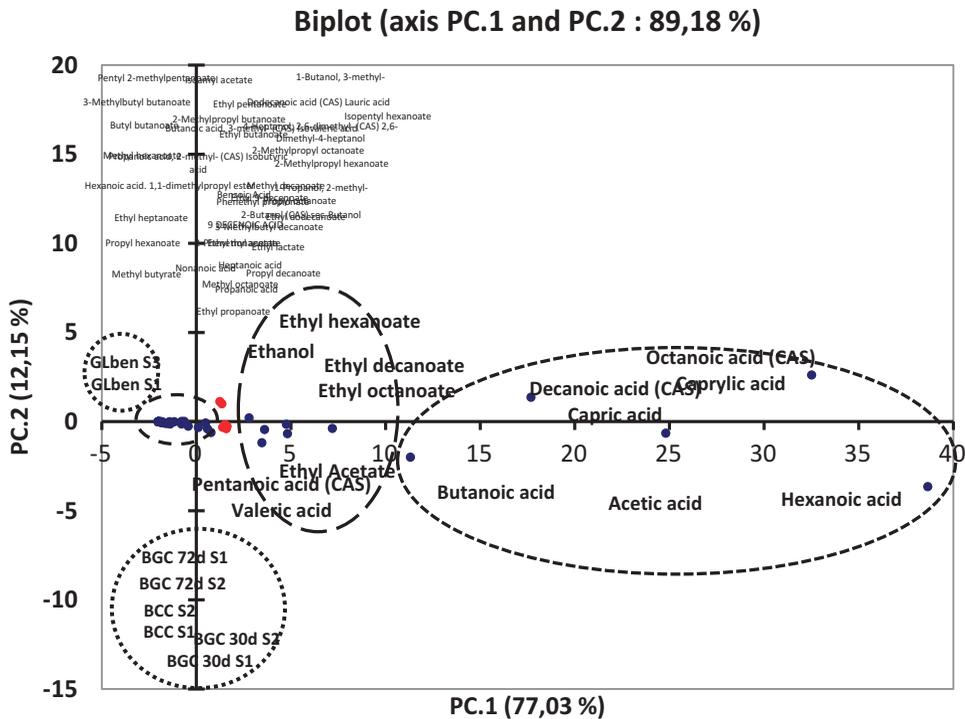


Figure 4. Score plot of the first two principal components of the volatile data from GC-MS analysis of *Bouhezza* raw goat's milk cheese.

Conclusion

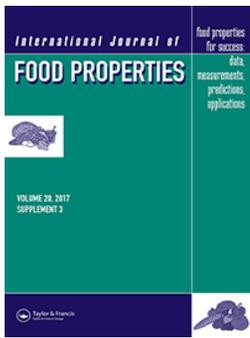
Bouhezza cheese is an Algerian traditional product, which represents many years of tradition from a rural civilization. This first characterization of *Bouhezza* cheese produce from the goat's raw milk, allowed its classification as soft and mid-fat cheese, and showed a proteolysis and volatile profile of the cheese. The level of proteolysis is limited, in *Bouhezza* cheese made with raw goat's milk. Thus, a lower level of the rate of proteolysis occurs in *Bouhezza* cheese in comparison to the other cheeses made with raw goat's milk and/or ripened in goat's-skin bag. However, it was interesting by the liberation of fractions such as peptides and FAAs in the cheese matrix. The volatile profile was rich in carboxylic acids (released by lipolysis) and their esters, which are precursors of other aromatic compounds as well as the volatile compounds derived from the degradation of proteins. It was determined in this cheese, the essential of volatile compounds (levels are higher at d 72 than at d 30), divided into seven groups that constitute the basis of the flavor and the taste of the obtained cheese from raw milk.

References

- Licitra, G. Worldwide Traditional Cheeses: Banned for Business? *Dairy Science & Technology* **2010**, *90*, 357–374.
- Dagdemir, E.; Ozdemir, S. Technological Characterization of the Natural Lactic Acid Bacteria of Artisanal Turkish White Pickled Cheese. *International Journal of Dairy Technology* **2008**, *6*, 133–140.
- Beuvier, E.; Berthaud, K.; Cegarra, S.; Dasen, A.; Pochet, S.; Buchin, S.; Duboz, G. Ripening and Quality of Swiss-Type Cheese Made from Raw, Pasteurized or Microfiltered Milk. *International Dairy Journal* **1997**, *7*, 311–323.
- Fox, P.F. Proteolysis During Cheese Manufacture and Ripening. *Journal of Dairy Science* **1989**, *72*, 1379–1400.
- El-Ghaish, S.; Dalgalarondo, M.; Choiset, Y.; Sitohy, M.; Ivanova, I.; Haertlé, T.; Chobert, J.-M. Screening of Strains of Lactococci Isolated from Egyptian Dairy Products for Their Proteolytic Activity. *Food Chemistry* **2010**, *120*, 758–764.
- Cogan, T.M.; Barbosa, M.; Beuvier, E.; Bianchi-Salvadore, B.; Coconcelli, P.H.; Fernandez, P.S.; Gomez, I.; Kalantzopoulos, G.; Ledda, A.; Medina, M.; Rea, M.C.; Rodriguez, E. Characterization of the Lactic Acid Bacteria in Artisanal Dairy Products. *Journal of Dairy Research* **1997**, *64*, 409–421.
- Medina, M.; Nuñez, M. Cheeses Made from Ewes' and Goats' Milk. In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Vol. 2 Major Cheese Groups*, 3rd Ed; Patrick, F.; Fox, P.; McSweeney, L.H.; Cogan, T.M.; Guinee, T.P.; Eds.; Elsevier Ltd., Elsevier Academic Press: Italy, 2004; 279–299, 469.
- Carunchia Whetstine, M.E.; Karagul-Yuceer, Y.; Avsar, Y.K.; Drake, M.A. Identification and Quantification of Character Aroma Components in Fresh Chevre-Style Goat Cheese. *Journal of Food Science* **2003**, *68*, 2441–2447.
- Hayaloglu, A.A.; Tolu, C.; Yasar, K.; Sahingil, D. Volatiles and Sensory Evaluation of Goat Milk Cheese Gokceada As Affected by Goat Breeds (Gokceada And Turkish Saanen) and Starter Culture Systems During Ripening. *Journal of Dairy Science* **2013**, *96*, 2765–2780.
- Smit, G.; Smit, B.A.; Engels, W.J.M. Flavour Formation by Lactic Acid Bacteria and Biochemical Flavour Profiling of Cheese Products. *FEMS Microbiological Review* **2005**, *29*, 591–610.
- Aissaoui Zitoun, O.; Benatallah, L.; Ghennam, El-H.; Zidoune, M.N. Manufacture and Characteristics of the Traditional Algerian Ripened Bouhezza Cheese. *Journal of Food, Agriculture & Environment* **2011**, *9*, 96–100.
- Mazari, K.; Bendimerad, N.; Bekhechi, C.; Fernandez, X. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils Isolated from Algerian *Juniperus Phoenicea* L. and *Cupressus Sempervirens* L. *Journal of Medicinal Plants Research* **2010**, *4*, 959–964.
- International Dairy Federation (IDF). *Determination of the Total Solid Content (Cheese and Processed Cheese)*. IDF Standard 4A. International Dairy Federation: Brussels, Belgium, 1982.
- Ardo, Y.; Polychroniadou, A. *Laboratory Manual for Chemical Analysis of Cheese COST 95, Luxembourg*. Office for Official Publications of the European Communities: Luxembourg, 1999.
- International Dairy Federation (IDF). *Standard Method 20B: Milk. Determination of Nitrogen Content, Part 1 and 2*. International Dairy Federation: Brussels, Belgium, 1993.
- AOAC. *Official Methods of Analysis. Vol. II*, 16th Ed; Association of Official Chemists International: Arlington, VA, 1995.
- AFNOR. Collection of French Standards. Product quality control food: Milk and dairy products. *Physicochemical analysis*. Afnor-dgccrf. 4th Ed. Paris: La Défense, 1993, 562.

18. Hayaloglu, A.A.; Guven, M.; Fox, P.F.; McSweeney, P.L.H. Influence of Starters on Chemical, Biochemical, and Sensory Changes in Turkish White-Brined Cheese During Ripening. *Journal of Dairy Science* **2005**, *88*, 3460–3474.
19. Andrews, A.T. Proteinases in Normal Bovine Milk and Their Action on the Caseins. *Journal of Dairy Research* **1983**, *50*, 45–55.
20. Blakesley, R.W.; Boezi, J.A. A New Staining Technique for Proteins in Polyacrylamide Gels Using Comassie Brilliant Blue G250. *Analytical Biochemistry* **1977**, *82*, 580–581.
21. Sulejmani, E.; Rafajlovska, V.; Guneseer, O.; Karagul-Yuceer, Y.; Hayaloglu, A.A. Volatile Compounds and Proteolysis in Traditional Beaten (Bieno Sirenje) Ewe's Milk Cheese. *International Journal of Dairy Technology* **2014**, *67*, 584–593.
22. XLSTAT, version 2009.1.02 for Windows. Copyright Addinsoft 1995–2009. <https://www.xlstat.com>. (accessed on 17 March 2016)
23. Samet-Bali, O.; Bellila, A.; Ayadi, M.A.; Marzouk, B.; Attia, H. A Comparison of the Physicochemical, Microbiological and Aromatic Composition of Traditional and Industrial Leben in Tunisia. *International Journal of Dairy Technology* **2010**, *63*, 98–104.
24. Serhan, M.; Linder, M.; Hosri, C.; Fanni, J. Changes in Proteolysis and Volatile Fraction During Ripening of Farfiyeh, a Lebanese Artisanal Raw Goat's Milk Cheese. *Small Ruminant Research* **2010**, *90*, 75–82.
25. FAO. *Milk and dairy products*. Codex Alimentarius. FAO and WHO, Rome, 2007, 258.
26. Bontinis, T.G.; Mallatou, H.; Pappa, E.C.; Massouras, T.; Alichanidis, E. Study of Proteolysis, Lipolysis and Volatile Profile of a Traditional Greek Goat Cheese (Xinotyri) During Ripening. *Small Ruminant Research* **2012**, *105*, 193–201.
27. Temizkan, R.; Yasar, K.; Hayaloglu, A.A. Changes During Ripening in Chemical Composition, Proteolysis, Volatile Composition and Texture in Kasha Cheese Made Using Raw Bovine, Ovine Or Caprine Milk. *International Journal of Food Science and Technology* **2014**, *49*, 2643–2649.
28. Tejada, L.; Abellan, A.; Cayuela, J.M.; Martinez-Cacha, A.; Fernandez-Salguero, J. Proteolysis in Goats' Milk Cheese Made with Calf Rennet and Plant Coagulant. *International Dairy Journal* **2008**, *18*, 139–146.
29. Pino, A.; Prados, F.; Galán, E.; McSweeney, P.L.H.; Fernández-Salguero, J. Proteolysis During the Ripening of Goats' Milk Cheese Made with Plant Coagulant Or Calf Rennet. *Food Research International* **2009**, *42*, 324–330.
30. Sousa, M.J.; Ardo, Y.; McSweeney, P.L.H. Advances in the Study of Proteolysis During Cheese Ripening. *International Dairy Journal* **2001**, *11*, 327–345.
31. Aissaoui Zitoun, O.; Pediliggieri, C.; Benatallah, L.; Lortal, S.; Licitra, G.; Zidoune, M.N.; Carpino, S. Bouhezza, a Traditional Algerian Raw Milk Cheese, Made and Ripened in Goatskin Bags. *Journal of Food, Agriculture & Environment* **2012**, *10*(2), 289–295.
32. McSweeney, P.L.H.; Fox, P.F. Chemical Methods for Characterization of Proteolysis in Cheese During Ripening. *Lait* **1997**, *77*, 41–76.
33. McSweeney, P.L.H.; Sousa, M.J. Biochemical Pathways for the Production of Flavour Compounds in Cheeses During Ripening: A Review. *Lait* **2000**, *80*, 293–324.
34. De Llano, D.G.; Polo, C.M.; Ramo, M. Study of Proteolysis in Artisanal Cheeses: High Performance Liquid Chromatography of Peptides. *Journal of Dairy Science* **1995**, *78*, 1018–1024.
35. Laborda, M.A.; Rubiolo, A.C. Proteolysis of Fynbo Cheese Salted with NaCl/KCl and Ripened at Two Temperatures. *Journal of Food Science* **1999**, *64*, 33–36.
36. Hayaloglu, A.A.; Guven, B.M.; Fox, C.P.F.; Hannonc, J.A.; McSweeney, P.L.H. Proteolysis in Turkish White Brined Cheese Made with Defined Strains *Lactococcus*. *International Dairy Journal* **2004**, *14*, 599–610.
37. Aissaoui Zitoun, O. ép. Hamama. Manufacture and characterization of a traditional Algerian cheese "Bouhezza". Doctoral Thesis in Science, Specialty: Food Science. Institute of Nutrition, Food and Agro-Food Technology (INATA-A), Constantine University 1-Algeria, 2014, 160.
38. Castillo, I.; Calvo, M.V.; Alonso, L.; Juares, M.; Fontech, J. Changes in Lipolysis and Volatile Fraction of a Goat Cheese Manufactured Employing a Hygienized Rennet Paste and a Defined Strain Starter. *Food Chemistry* **2007**, *100*, 590–598.
39. Le Quéré, J.-L.; Pierre, A.; Riaublanc, A.; Demaizères, D. Characterization of Aroma Compounds in the Volatile Fraction of Soft Goat Cheese During Ripening. *Lait* **1998**, *78*, 279–290.
40. Guillen María, D.; Ibargoitia María, L.; Sopolana, P.; Palencia, G. Components Detected by Headspace-Solid Phase Microextraction in Artisanal Fresh Goat's Cheese Smoked Using Dry Prickly Pear (*Opuntia Ficus Indica*). *Lait* **2004**, *84*, 385–397.
41. Mallatou, H.; Pappa, E.; Massouras, T. Changes in Free Fatty Acids During Ripening of Teleme Cheese Made with Ewes', Goats', Cows' Or a Mixture of Ewes' and Goats' Milk. *International Dairy Journal* **2003**, *13*, 211–219.
42. Georgala, A.; Moschopoulou, E.; Aktypis, A.; Massouras, T.; Zoidou, E.; Kandarakisand, I.; Anifantakis, E. Evolution of Lipolysis During the Ripening of Traditional Feta Cheese. *Food Chemistry* **2005**, *93*, 73–80.

43. Poveda, J.M.; Sanchez-Palomo, E.; Perez-Coello, M.S.; Cabezas, L. Volatile Composition, Olfactometry Profile and Sensory Evaluation of Semi-Hard Spanish Goat Cheeses. *Dairy Science and Technology* **2008**, *88*, 355–367.
44. Collins, Y.F.; McSweeney, P.L.H.; Wilkinson, M.G. Lipolysis and Free Fatty Acid Catabolism in Cheese: A Review of Current Knowledge. *International Dairy Journal* **2003**, *13*, 841–866.
45. Molimard, P.; Spinnler, H.E. Review: Compounds Involved in the Flavor of Surface Mold-Ripened Cheeses: Origins and Properties. *Dairy Food. Journal of Dairy Science* **1996**, *79*, 169–184.
46. Massouras, T.; Pappa, E.C.; Mallatou, H. Headspace Analysis of Volatile Flavour Compounds of Teleme Cheese Made from Sheep and Goat Milk. *International Journal of Dairy Technology* **2006**, *59*, 250–256.



Proteolysis, microbiology, volatiles and sensory evaluation of Algerian traditional cheese Bouhezza made using goat's raw milk

Hacène Medjoudj, Lamia Aouar, Mohammed Nasreddine Zidoune & Ali Adnan Hayaloglu

To cite this article: Hacène Medjoudj, Lamia Aouar, Mohammed Nasreddine Zidoune & Ali Adnan Hayaloglu (2018) Proteolysis, microbiology, volatiles and sensory evaluation of Algerian traditional cheese Bouhezza made using goat's raw milk, International Journal of Food Properties, 20:sup3, S3246-S3265, DOI: [10.1080/10942912.2017.1375515](https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1375515)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1375515>



© Hacène Medjoudj, Lamia Aouar, Mohammed Nasreddine Zidoune, and Ali Adnan Hayaloglu



Published online: 08 Feb 2018.



Submit your article to this journal [↗](#)



Article views: 85



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)



Proteolysis, microbiology, volatiles and sensory evaluation of Algerian traditional cheese *Bouhezza* made using goat's raw milk

Hacène Medjoudj^{a,b}, Lamia Aouar^b, Mohammed Nasreddine Zidoune^a, and Ali Adnan Hayaloglu^c

^aLaboratoire de Nutrition et de Technologie Alimentaire, Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires (I.N.A.T.A-A.). Université Mentouri Constantine 1., Constantine, Algérie; ^bDépt. Sci. Nat.Vie-Fac.Sc.Exact. et S.N.V. Université Larbi Ben Mhidi, Oum-El-Bouaghi, Algérie; ^cDepartment of Food Engineering, Inonu University, Malatya, Turkey

ABSTRACT

The objective of this work was to characterize the traditional cheese, *Bouhezza* made with raw goat's milk. There were three cheese making performed; two at the laboratory scale (FH1, FH2) and one in a farm (FH3). The evaluation consisted in the determination of physico-chemical characteristics, proteolysis, microbiological and sensory status. The microbiological characterization was performed during cheese ripening with identification of lactic acid bacteria by 16S rDNA sequencing using PCR-TTGE. The sensory analysis and volatile profile were determined by GC-MS. The pH decreased during cheese ripening from 4.69 to 3.99. The moisture in defatted cheese was 79.05% and fat-in-dry matter 34.77%, which allowed its classification according to the *Codex alimentarius* as ripened soft and mid-fat cheese. The urea-PAGE pattern of caseins showed a fast proteolysis, which started from the first day of ripening. The sensory evaluation showed that *Bouhezza* cheese was salty, spicy and intense in odour and aroma. A total, of 100 volatile compounds were identified, where the main components were carboxylic acids (14 compounds) followed by their esters (32) and alcohols (13), aldehydes (5), ketones (8), terpenes and miscellaneous compounds. This study showed that *Bouhezza* cheese was considered as a product of satisfactory microbiological quality and rich in LABs whose contribute to its ripening, where many of identified strains were the same as those found in other dairy products. The main sensory descriptors as flavour and odor, was lactic flavor and lactic acid odor. The products of proteolysis gives to *Bouhezza* a richness in volatiles and fragrance characteristics, which reflect the uniqueness of this cheese of terroir. Finally, an identity card of the *Bouhezza* cheese was achieved following results of this study.

ARTICLE HISTORY

Received 29 May 2017

Accepted 31 August 2017

KEYWORDS

Traditional cheese *Bouhezza*; PCR-TTGE; Lactic acid bacteria; Proteolysis; Sensory properties; Aromatic profile

Introduction

Bouhezza is a traditional cheese manufactured from different types of milk (cow or goat) in the *Chaouia* regions of Eastern Algeria. Its manufacture is carried out in a permeable skin bag called "Chekoua or Jeld of *Bouhezza*". This cheese is made without rennet, suffers no heat treatment; the self-regulation of manufacturing is based on the salt and the acid produced by the indigenous microflora of milk. They contribute to protect the product regarding the contamination flora and pathogenic germs, and thus keep cheese safely.

CONTACT Hacène Medjoudj ✉ medjoudjh@yahoo.com 📧 Laboratoire de Nutrition et de Technologie Alimentaire, Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires (I.N.A.T.A-A.). Université Mentouri Constantine 1., Constantine, Algérie

Color versions of one or more of the figures in the article can be found online at www.tandfonline.com/ljfp.

© Hacène Medjoudj, Lamia Aouar, Mohammed Nasreddine Zidoune, and Ali Adnan Hayaloglu

Before manufacture of *Bouhezza*, *Rayeb* and *Lben* are prepared. The raw milk was undergone a spontaneous fermentation during 24–36 h at ambient temperature (25–30°C) until gelation; the curd obtained is called “Rayeb”. This last is vigorously churned during 30–60 min and some warm water is added (0.1 L/liter of the mixture) which promotes gathering a butter grains and facilitate the skimming operation. After a partial skimming the product obtained, called “Lben” is used as a prime matter for *Bouhezza* manufacturing. Cheese manufacturing begins with the salted *Lben* (amount of salt was 20–25 g/L of raw material). Some quantity fill the *Chekoua* (half or 3/4 the volume) and followed by several additions (2 at 3 liters) at 3–4 days interval of *Lben* and finally whole raw milk (2 at 3 L at the same interval), two weeks before recover the ripened cheese. The *Chekoua* is suspended in a ventilated area or in the shade. During *Bouhezza* preparation (in average 2 at 3 months), the cheese is subjected to ripening in the *Chekoua*, where draining is occurred through the skin bag pores. Cleaning the *Chekoua* from the outside was done every day. At the end, the cheese was spicy with a red hot pepper to give a specific taste to *Bouhezza* according to the habits of consumers.

Proteolysis and lipolysis are the important processes, which take place during the ripening. This biochemical catalysis of substrates (proteins and fats) is the process that leads to the production of metabolites and aromatic compounds, which contribute to the organoleptic properties of cheeses, such as taste, aroma, appearance and texture.

Proteolysis can occurs in cheeses made with raw milk without starter culture; through indigenous milk enzymes, adventitious non-starter microflora and enzymes from secondary flora. Proteolysis contributes to textural changes of the cheese matrix, due to breakdown of the protein network.^[1] Traditional cheeses produced with raw milk, are known only in a limited geographical area, and are consumed locally in small quantities. Dagdemir and Ozdemir^[2] have reported that the enzymatic system of indigenous microflora in raw milk is much more complex than starter-bacteria used in cheese manufacture. Also, it has been established that indigenous microflora plays an important role in proteolysis.^[3]

Several studies have focused on the comparison of sensory characteristics of cheese varieties prepared from raw milk, pasteurized or micro-filtered milk. Beuvier et al.^[4] have demonstrated that microflora in the raw milk has an important role on biochemical and sensory characteristics of cheese. In addition, the enzymes of LAB (proteolytic or peptidolytic) contribute to the ripening and sensory properties of the final products.

Traditional cheeses in Algeria are few, little known and studied, but they begin to have a re-newed interest in the last two decades by the scientific community. Characterization studies on the traditional cheese *Bouhezza* cow's milk were carried out by Aissaoui Zitoun et al. [5; 6]; and on *Bouhezza* goat milk by Medjoudj et al.^[7] Characterization of the traditional cheese *Mechouna* by Derouiche and Zidoune.^[8] Other products were also of interest and were characterized, most notably; *Djben* and *Klila*^[9] in eastern Algeria.

The objective of this work was to characterize the Algerian traditional cheese, *Bouhezza* made with goat's raw milk. Cheese production was carried out in order to characterize *Bouhezza* in microbiological point of view by the research and identify of the microbial ecosystem and showing its biodiversity. The identification of lactic acid bacteria, which have an influence on ripening process to highlight the eventual presence of the pathogenic and contamination flora. The physicochemical characterization allowing to classify the cheese, determination and highlighting the proteolysis what undergoes the cheese during the process of ripening. The aim was also to perform a sensory analysis of the final products and volatile profile as a result of enzymes activity and of indigenous microflora action giving the aromatic components, of the flavour, aroma and odor of this product of the terroir. At the end, establishing the first technical card identifying cheese *Bouhezza* made with goat's raw milk.

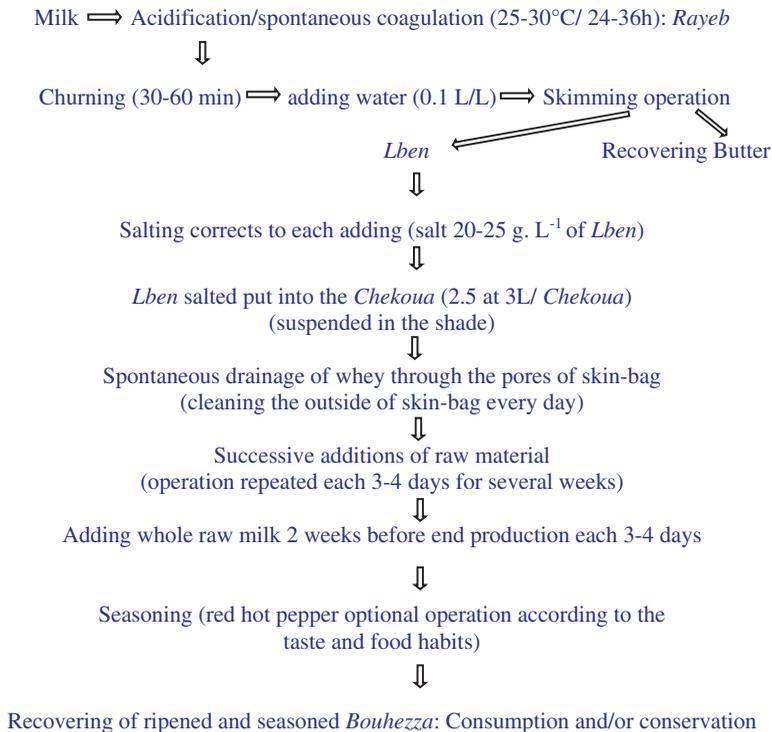


Figure 1. Diagram of traditional cheese manufacture *Bouhezza* made with goat's raw milk according to the survey in *Chaouia* region and the process described by Medjoudj et al.^[7].

Materials and methods

Cheese manufacturing

Three cheese making of *Bouhezza* (FH1, FH2, and FH3) were prepared with goat's milk according to the survey in *Chaouia* region and to the traditional process described by Medjoudj et al.^[7] (Figure 1). The manufacture requires use of fermented milk called *Lben*. Three liters of salted *Lben* (25 g of NaCl per L of *Lben*) were put into each *Chekoua* (3 *Chekouates*). *Lben* was continuously added during six weeks for FH1 and FH2, and for eight weeks for the FH3 (3 L to start on day 1, and then every three days from 2 to 2.5 L until the day 34 for the FH1 and FH2, and 56 day for FH3). After, the process was completed with the additions of whole raw milk every three days (2 to 2.5 L/ *Chekoua*) to correct the acidity and salt level, and to provide fat. At the end (at 50th day for FH1 and FH2 and at 72nd day for FH3), a part of the cheese produced was spiced with red chili pepper.

Chemical analysis

Sampling

Analyses were performed on *Lben* (3 samples) at the first day, 3rd and 6th weeks of *Lben* addition. Samples of goat's raw milk (3 samples) and cheese at different ripening age were analyzed. The volume levied for *Lben* and milk was 60–70 mL in a sterile bottle (three bottles for one sampling thus about 200 mL in total by sample). To evaluate the cheese microbiological and physicochemical parameters, sampling was carried out as follows: FH1, FH2 at 1, 7, 15, 28, 34, 42, 50 and FH3 at 1, 15, 30, 45, 56, 64 and 72 days. The cheese quantity levied was 55–60 g of cheese in three sterile bottles for each sample, thus between 175–180 g per sampling. Each bottle was used to perform a group of analyzes; one for microbiological analysis which were performed on fresh samples, the second one

for physico-chemical and the third bottle was stored at -20°C until analysis for the urea- PAGE, PCR-TTGE, GC-MS. For urea-PAGE and PCR-TTGE analyses, two samples of traditional cheese-making of *Bouhezza* made with cow's milk were used for comparison. These samples were obtained from Hammamet (Tebessa) and Ain Fakroun (Oum El-Bouaghi) with a ripening time more than 30 days.

Chemical analysis

Milk, *Lben* and cheese samples were analyzed in duplicate for moisture by the oven drying method at $102^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ [9a], salt by Volhard method^[10], fat by the Van Gulik method and ash.^[11] The pH was measured using a digital pH meter.^[12] Titratable acidity according to AOAC^[13]; and the results were expressed as the percentage of lactic acid. Protein was determined by the Lowry method.^[14] All these analyses were performed in triplicate. The yield of fresh or ripe cheese was calculated for FH1 and FH2 samples.

Proteolysis analysis

Nitrogen fractions

Proteolysis was analysed by determining the water-soluble nitrogen content in acetate buffer at pH 4.6 (pH 4.6-SN) and total nitrogen, at different ripening times by the micro-Kjeldahl method.^[15]

Urea polyacrylamide gel electrophoresis (urea-page) of caseins

The pH 4.6-insoluble N content (pH 4.6-IN) of *Bouhezza* cheese was determined as described by Fallico et al.^[16] This fraction was analysed by urea-PAGE using a Protean II xi vertical slab gel unit (BioRad Laboratories Ltd., Watford and Herts, United Kingdom) according to the method described by Andrews.^[17] The gels were stained using a modified method of Blakesley and Boezi^[18] using the dye, Coomassie Brilliant Blue G250.

Microbiological analysis

Ten grams (10 g) of cheese were, aseptically sampled, mixed in 90 mL of sterile 2% trisodium citrate buffer, pH 7.5. Cheese, milk and *Lben* decimal dilutions were mixed with sterile 1/4 strength Ringer's solution.^[19] Total aerobic mesophilic bacteria (TAMB) count on PCA; incubated at 30°C for 3 days (72 h). Presumptive lactococci counts were enumerated on M17 agar after incubation at 37°C for 48h. Presumptive lactobacilli were enumerated on de Man Rogosa Sharpe (MRS) agar after an anaerobic incubation at 37°C for 48h. Yeasts and moulds were enumerated on Oxytetracycline Glucose Agar after incubation at 25°C for 5 days. Total and fecal coliforms were counted on Desoxycholate agar at 0.1% at 37°C and 44°C for 48 h and 24 h, respectively. Fecal streptococci were counted in liquid medium Rothe, incubated at 37°C for 48 h and confirmed in Litsky medium at 37°C for 24 to 48 h. Sulphite-reducing *Clostridium* were grown on Meat-Liver media which were incubated at 37°C for 72 h. The pathogenic bacteria in the cheese samples were analyzed with Salmonella Shigella (SS) and Baird Parker agars for *Salmonella* and *Staphylococcus aureus*, respectively. An enrichment, in the selenite of natrium and Giollitti Cantoni respectively, for 48 hours at 37°C . The respective media were inseminated from a positive tube of broth, and incubated at 37°C for 24 and 48 hours. For the control samples of cow's milk cheese, enumerations of pathogens (*Salmonella*, *S. aureus*, *Listeria* and *E. coli* O157 H7) were performed, using the BAX® System (DuPont Qualicon, UK) after enrichment. The BAX System was used only on the samples of cow's milk used for comparison with those of goat's milk cheese. Because no microbiological analysis have not been done on these samples.

PCR-TTGE identification

The method adopted in our work for identification of microbial biodiversity and ecosystem of *Bouhezza* cheese, was PCR-Temporal Temperature Gel Electrophoresis (PCR-TTGE). DNA extraction from cheese samples and amplification of the V3 region (16S rRNA gene) were performed as described by Licitra et al.^[20] Amplification according to the protocol proposed by Parayre et al.^[21], in the region of the DNA V3 gene encoding 16S ribosomal RNA (16S rDNA) by PCR using universal primers V3P3- GC-Clamp (5'GCCCCCGCGCGCGGGCGGGGCGGGGCGGGGGCGGGGGGCCTCGGGAGGCAGCAG-3') and V3P2 (5'-ATTACCGCGGCTG CTGG-3 ') (Sigma, Italy). These primers give the PCR products about 233 base pairs. A DCode universal mutation detection system was used to separate the V3 region PCR product from total genomic DNA. The reaction mixture of the primers was composed of 50 µL into each PCR tube with 40 µL of PCR Mix and 10 µL of the extract of bacterial DNA obtained from the cheese matrix.

Thermocycler cyclist Thermal cycler (BioRad Laboratories, Hercules, CA) amplifies samples by incubation at 94°C/2min, followed by 35 cycles. A cycle was the succession of three steps: 30 s denaturation at 95°C, 60 s hybridization at 63°C and elongation for 1 min at 72°C following a final extension of 5 min at 72°C and at the end stabilization of the temperature reaction at 4°C.

Temporal temperature gel electrophoresis (TTGE) analyzes were performed with the universal mutation detection system (BIO-RAD Laboratories, Hercules, CA, USA). The gel used was composed of 10% acrylamide, 40% bisacrylamide (37.5: 1) and 7 M urea (10.5 g) for the Resolving gel, and 8% acrylamide for the Stacking gel.

Ten µL of the amplifier (PCR product) of each sample were mixed with 5µL of loading buffer (0.05% of bromophenol blue, 0.05% of xylene cyanol and 70% of glycerol). The mixture of each sample was then deposited in a well of the Stacking gel. The marker was used with 12 strains (*Lactobacillus plantarum* CNRZ211T, *Lactobacillus fermentum* CNRZ209T, *Enterococcus faecium* LMG 8149, *Lactobacillus helveticus* CNRZ 137, *Enterococcus faecalis* CNRZ137 13; *Lactococcus lactis* CNRZ105T, *Streptococcus thermophilus* CIP102303T, *Corynebacterium moorparkenese* CIP107183T, *Lactobacillus paracasei* LMG9192; *Arthrobacter nicotianae* CIP82.107T, *Brevibacterium casei* CIP102111T, *Propionibacterium cyclohexanicum* TL1365T), 30 µL of marker were deposited per well (the marker was obtained from INRA-Agrocompus laboratories in Rennes, France).

Migration was performed on a urea polyacrylamide gel under a tension of 41 V for 16 h with a temperature gradient of 63°C to 70°C (rate of 0.4°C h⁻¹) for bacteria low-level GC. After staining with ethidium bromide (0.6 µg of ethidium bromide per mL of buffer TAE 1.25X) for 15 min. The gel was then immersed in distilled water for 30 min. The bands were finally visualized and photographed on a UV transillumination table (E-Box 1000/26M, Euroclone, Siziano, Italy) and analysed using Gel Compare software.

The bands were analysed using the TTGE species database developed by Parayre et al.^[21] using the BioNumerics program, version 4.6 (Applied Maths, Kortrijk, Belgium). The data base compares the bands to the 56 most common species in cheeses and dairy products belonging to the 18 genera (*Arthrobacter*, *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Brachybacterium*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Enterobacterium*, *Kocuria*, *Microbacterium*, *Propionibacterium*, *Staphylococcus*, *Hafnia*, *Escherichia*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* and *Streptococcus*). In order to specifically identify the main microorganism detected by TTGE profiles, a species-specific PCR assay was performed using specific primers. Nineteen colonies were isolated from M17 plate at 37°C of *Bouhezza* cheese sample at 7 days. The *Lactococcus lactis* specific assay was carried out using 1RL and LacreR primers with conditions recommended by Ogier et al.^[22]

Volatile analysis

Bouhezza cheese prepared in the goat-skin bag were sliced into small granules and, placed immediately in glass bottles in a freezer at -20°C. Volatiles were determined by solid-phase

microextraction (SPME) method using gas chromatography-mass spectrometry system (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan), as described in Sulejmani et al.^[23] Concentrations were calculated by the comparison of the internal standard peak area and the unknown compounds. Each compound was expressed in a microgram per kg of cheese.

Sensory analysis

This analysis provides sensory description of three spiced samples, two from the experimental cheese making in the laboratory (FH1 and FH2 removed at 50 d of ripening) and the third Farmhouse 1 (FH3 sampled at 72 d). According to Bérodiér et al.^[24], the sensory characteristics of the cheese can be obtained and clarified through tasting and visual observations. A panel of ten trained persons (students of final year of Engineer in Agri-Food Sciences in INATAA (Institute of Nutrition, Food and Agro-Food Technologies) University of Constantine 1). The subjects were trained in sensory evaluation before test. They studied the sensory analysis and organoleptic properties of foods (courses are given for students during their education). The group evaluated the spicy cheeses for texture, odour, aroma, flavour and persistence taste in mouth. According to the guidelines of the V09-001 standard (AFNOR)^[25], the tests were conducted. Sensory evaluation was carried out with scoring test, on a point scale from 1 (low) to 7 (high).

Statistical analysis

Analysis of chemical parameters at different stage of ripening was examined by ANOVA (Costat 6.400, CoHort Software 1998–2008) followed by the least significant difference (LSD) test. The relationship between variables in volatiles was assessed by the principal component analysis (PCA). The data of sensory description were analyzed, with the Student test at threshold of 5%. Both tests were performed using XLSTAT^[26] version 2009.1.02 (Copyright Addinsoft 1995–2009) for Windows.

Results and discussions

Chemical composition

Physico-chemical characterization of the raw material

The pH of milk was 6.3 ± 0.19 corresponding to 1.85 ± 0.02 g/L of lactic acid. The *Lben* used in this manufacturing was more acid taste (pH 3.8 ± 0.70 and $8.65 \pm 0.06\%$ of lactic acid) than that used by Medjoudj et al.^[7] which was pH 4.70. The total solids of milk ($13.05 \pm 0.75\%$) were close to values reported in the literature (12.5–13.0%). The rate of total dry solid of *Lben* was $7.44 \pm 0.04\%$, chlorides content of milk and *Lben* were $0.24 \pm 0.04\%$ and $0.2 \pm 0.02\%$, respectively.

Fat in cheese plays a decisive role on the organoleptic quality, especially on the taste and flavor. The level of fat obtained for *Lben* was 2.1%, which was lower than that cited in literature (4.03%).

According to the literature, goat milk contains between 2.8 and 3.5% of protein. It depends on the feed supply, the period of lactation and the health of the animal. The milk used contains $3.87 \pm 0.06\%$ of protein, this content increased slightly in the *Lben* ($4.25 \pm 0.07\%$). The ash level of milk was $0.42 \pm 0.0\%$ which increased in the *Lben* to $2.94 \pm 0.14\%$, due to the converting of milk into *Lben*, where minerals are released into the curd (Rayeb) after coagulation.

Physico-chemical properties bouhezza cheese

During cheese manufacturing, total solid, fat, protein contents and titratable acidity increased. The same trend was reported for Tulum^[27], Xinotyri^[28] and *Bouhezza* cow's milk^[5] cheeses. The pH of the cheeses decreased during ripening, its values were 4.69 for day 7 and 3.99 for day 50. No significant difference was observed in pH value of FH1 and FH2 cheeses. The same notes were observed for goat cheese *Bouhezza*.^[7] The levels of titratable acidity ranged from 0.85 to 1.59% and

no significant difference was recorded between the three-cheese makings. The dry matter (DM) content increased and reached 30.60% at the end of ripening. Difference in DM between the FH1 and FH2, and FH2 and FH3 cheese making were significant. The rate of fat and protein also increased proportionally with DM. This increase was due to the water drainage through the pores of *Chekoua*. The salt and ash content exhibited the same changes during ripening and no statistical differences were observed ($P > 0.05$).

The different characteristics of FH1 and FH2 compared to FH3 are probably due to the difference in the origin of raw milk and the difference in the goats' grazing. The *codex alimentarius* standard (2006) issued a classification table in which the cheeses were classified according to three criteria. The first one is the firmness expressed as moisture content in the defatted cheese (MDC) with an interval between 69 to 51% of the extra soft to hard paste (soft paste = MDC > 67%), *Bouhezza* has a MDC of 79.05%. The second criterion was that of the fat relative to the dry matter (FDM), the ranges of values for classifying the cheeses according to content of fat in the dry matter, the value of FDM obtained for *Bouhezza* was an average of 34.77% (mid-fat = FDM between 25–45%). The third criterion was that of cheese ripening characteristics (on the surface, inside the paste, ripened on surface or mass with molds, and fresh cheese). According to the *Codex Alimentarius* (2006), these results allowed their classification among the ripened cheeses soft, mid-fat. Medjoudj et al.^[7] classified *Bouhezza* goat's milk cheese, as ripened cheese soft, mid-fat. The dry cheese yields of FH1 and FH2 were 40.62% and 40.67% and, 15.09 and 13.9% for fresh cheese yield, respectively.

Proteolysis

Protein fractions

Protein fractions in *Bouhezza* goat's cheese are shown in Table 1. The total protein level was 15.65% in the samples of the final product. The proteolysis rate expressed by water-soluble nitrogen (WSN or SN at pH 4.4) in total nitrogen was 13.04% as the average of the three cheese making trial. These results were slightly lower than that of Medjoudj et al.^[7] in *Bouhezza* goat's cheese with 14.44% at 72 d. However, lesser than that of Tulum cheese ripened in goat-skin bag.^[29] The obtained data was similar to those reported by Aissaoui Zitoun et al.^[6] and higher than in Xinotyri cheese from goat's milk obtained at 45 and 60 days of ripening.^[30]

Urea-page electrophoresis of insoluble fraction of proteins in *bouhezza* cheese

Urea-PAGE profiles (Figure 2) showed two main bands at different electrophoretic mobility, corresponded to native caseins. The casein group with low mobility corresponds to β -casein, while the one with higher mobility was α_s -casein.^[31] Three peptides with a low electrophoretic mobility were detected, given the general profile of the caseins. These were identified in *Bouhezza* cow cheese^[6] and goat's cheese^[7] with β -CN f29-209 (γ_1 -CN), β -CN f106-209 (γ_2 -CN), β -CN f108-209 (γ_3 -CN). These peptides appear as a result of the early action milk indigenous enzyme as plasmin on β -casein.

Some peptides moving slower than γ -CN, (βf^{*}) were detected at each stage of ripening. Fallico et al.^[16] reported that these fragments were probably produced from β -casein by the action of plasmin or microbial proteinases with a trypsin-like activity. A fragment between α_s -casein and β -casein bands was also detected. Some authors identified this band as α_{s1} (f80-199) (α_s -PL1), may be allowed in *Bouhezza* cheese from a further action of plasmin on α_s -casein.^[32] The bands found just above α_s -casein, these had the position of α_s -casein (f24-199) and α_s -casein (f102-199), fragments produced probably by cathepsin D. The latter, have similarity of chymosin, which is the most active acid proteinase in cheese on α_s -casein stimulated with increasing salt content in cheese.^[33] Although the manufacture of *Bouhezza* cheese does not contain the addition of rennet, detection of these peptides could be due to an enzymatic activity of cathepsin D on caseins, in particular α_{s1} -casein. Few differences were detected in comparing casein profiles of cheeses, but in the α_s -casein region resulted in another bands in the experimental samples (FH1-FH2). Furthermore,

Table 1. Chemical composition and pH of traditional Algerian *Bouhezza* goat milk cheese. Total Nitrogen (TN) and Water Soluble Nitrogen (WSN/TN %) expressed as average \pm standard deviation. Acidity was expressed as % of lactic acid.

Parameters	7	15	21	28	34	49	64
pH (n = 3)	4.69 \pm 0.50	3.73 \pm 1.02	3.88 \pm 0.86	3.62 \pm 0.92	3.58 \pm 0.81	4.07 \pm 0.40	3.99 \pm 0.16
Acidity , % (n = 3)	0.85 \pm 0.06	0.87 \pm 0.05	1.02 \pm 0.03	1.25 \pm 0.18	1.23 \pm 0.17	1.41 \pm 0.21	1.59 \pm 0.32
DM , % (n = 3)	14.32 \pm 0.70	16.59 \pm 1.52	18.46 \pm 3.06	19.86 \pm 2.91	21.29 \pm 3.49	27.42 \pm 1.71	30.60 \pm 0.92
Prot/DM , % (n = 2)	9.92 \pm 0.44	9.52 \pm 0.56	12.46 \pm 0.52	16.41 \pm 0.31	17.94 \pm 0.10	17.03 \pm 0.14	15.65 \pm 0.08
Ash , % (n = 3)	2.30 \pm 0.72	2.44 \pm 0.84	2.51 \pm 1.12	2.36 \pm 1.61	1.93 \pm 1.31	1.98 \pm 0.45	1.24 \pm 0.09
Fat/DM , % (n = 3)	22.69 \pm 0.20	28.93 \pm 1.13	34.24 \pm 2.25	39.33 \pm 3.41	43.54 \pm 4.51	38.55 \pm 5.57	35.62 \pm 5.83
Chlorides , % (n = 2)	2.73 \pm 0.04	3.12 \pm 0.01	3.54 \pm 0.04	3.89 \pm 0.01	1.61 \pm 0.09	1.24 \pm 0.01	1.22 \pm 0.01
TN , %	ND	1.00 \pm 0.22	ND	1.18 \pm 0.07	ND	1.56 \pm 0.54	2.04 \pm 0.50
WSN/TN , %	ND	17.29 \pm 5.34	ND	12.47 \pm 0.73	ND	ND	13.04 \pm 4.20

ND: not determined.

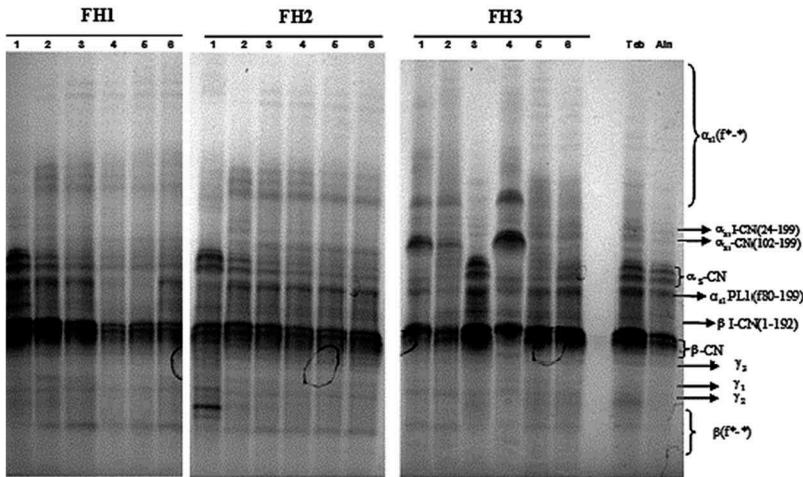


Figure 2. Urea-PAGE of the pH 4.6 insoluble N from *Bouhezza* cheese samples made with goat milk derived from two different experimental cheese making (FH1- FH2): 1.cheese after 1 day of ripening, 2.cheese after 14d, 3.cheese after28d, 4.cheese after 42d, 5.cheese after 50d without pepper and 6.cheese after 50 d with pepper. Experimental cheeses were compared with *Bouhezza* cheese samples made with goat milk derived from traditional cheese making (FH3: 1.cheese after 1 day of ripening, 2.cheese after 15d, 3. Cheese after 30d, 4.cheese after 45d, 5.cheese after 64d without pepper and 6.cheese after72d with pepper) and with two *Bouhezza* cheese samples >30d made with cow milk (Teb-Ain).

Table 2. Results of the count of microbial flora in the raw material as log cfu/mL (milk and *Lben*) and evolution of the microbial population in cheese *Bouhezza* goat's milk during ripening, in log cfu/g of three samples, F1, F2 and F3.

Bacteria	Raw milk n = 3	<i>Lben</i> n = 3	1d	7d	15d	21d	28d	34d	42d	49d (n.spicy)	64d (spicy)
TAMB	9.81	9.65	8.84	9.23	8.21	8.60	8.46	8.47	7.97	8.23	7.51
<i>Lactococci</i>	8.40	9.99	9.54	9.70	9.40	8.50	9.47	8.41	8.03	7.82	7.67
<i>Lactobacilli</i>	8.51	8.68	8.37	8.41	8.36	8.59	8.58	8.63	7.52	6.92	7.31
Total coliforms	2.50	2.68	2.48	2.70	3.21	2.08	2.54	2.50	2.09	3.09	2.68
Fecal coliforms	0.00	1.08	1.03	1.83	3.19	3.24	2.22	1.11	2.03	2.03	1.22
Yeast Moulds	5.17	6.36	4.44	3.95	4.03	4.39	6.45	5.65	5.01	5.29	6.53

casein bands in FH3 at 30 d resulted in a little difference from the others. The addition of raw milk allowed further enzymatic activity resulting in increasing of hydrolysis as demonstrated by the disappearance of the peptide positioned just under β -CN f106-209 (γ_2 .CN) band.

Microbiological analysis

Table 2 summarized the microbiological data. The counts for TAMB in milk and *Lben* varied from 9.81 to 9.65 log cfu/mL, but decreased in cheese from 9.23 log cfu/g (7days) to 7.51 log cfu/g (at the end of ripening process). Lactic acid bacteria (LAB) in milk presented an average of 8.40 log cfu/mL (lactococci) and 8.51 log cfu/mL (lactobacilli). They increased after processing of milk into *Lben* with the level of 9.99 and 8.68 log cfu/g, respectively. Ouadghiri et al.^[34] observed the same counts of lactic acid bacteria with 7 log cfu/mL in raw milk, which amounted to 9 log cfu/mL in Moroccan fermented skim milk (*Lben*). Those results can be explained by the low pH and high content of lactic acid thus the LABs increased in *Lben* because acidity is one of the favourable factor for growth of these bacteria.

Lactic flora showed some fluctuations during manufacturing with a large load of the LAB about 7 to 9 log cfu/g consisting essentially strains: *Lc. lactis subsp. cremoris* and *S. gallolyticus subsp.*

macedonicus. Lactobacilli are present with a low load of 6 to 8 log cfu/g containing *Lb. plantarum*, *Lb. johnsonni*, *Lb. gasseri*, *Lb. fermentum*, *Lb. helveticus*, *Lb. acidophilus* and *Lb. crispatus*.

LAB in *Bouhezza* cheese were stable with slight decreasing from 1st to 42nd day

from 9.54 to 8.03 log ufc/g and from 8.37 to 7.52 log ufc/g respectively for lactococci and lactobacilli. These counts decreased to 7.67 and 7.31 log cfu/g respectively at the last 15 days of ripening for the two genus. The decreasing of LABs at the end production of cheese was probably due to lyse of bacteria cells and their disappearing when releasing their enzymes into the cheese matrix during ripening.

Total and fecal coliforms in milk and *Lben*, total coliform (TC) were 1.4 log cfu/mL (and Fecal coliform (FC) were not found with exception for one sample at the first production where it was found 3.15 and 1.55 log cfu/mL of TC and FC, respectively. TC in milk, increased slightly in the *Lben* to 2.50 log cfu/mL and 2.68 log cfu/mL and then decrease slightly in the non-spicy cheese 2.68 log cfu/g. The FC were absent in milk and present at very low levels in the *Lben* (Table 2). Aissaoui Zitoun et al.^[6] found a higher numbers of TC and FC in cows *Lben*, which decreased in spicy and non-spicy *Bouhezza*.

The presence of fecal coliforms in *Lben* and cheese and their absence in milk can be explained by the fact that milking is carried out under hygienic conditions and irreproachable cleanliness. However, during the preparation of the *Lben*, there is addition of non-sterile lukewarm tap water before skimming, which might contaminate of faecal coliforms and thus contaminate the *Lben* and consequently the cheese. The successive additions of *Lben* to which water was added, can probably be a source of coliforms. During the manufacture of *Bouhezza*, the number of CF increases from the beginning of manufacture of 1.03 log cfu/g on the first day to 3.24 log cfu/g on the 21st day. Then there was a gradual decrease to 1.22 log cfu/g at end of ripening. This final value was below the health quality standards (Official Journal N ° 35 of 27th May 1998 of the People's Democratic Republic of Algeria) which require a CT number of <30 cfu/g for soft cheeses, which considers *Bouhezza* as a satisfactory microbiological quality product, thus can be safely consumed. Also for the raw material used; compared with CF standards in raw milk (<3.10⁴ cfu/mL) and *Lben* (acidified milk <90 cfu/mL), they are aligned as a satisfactory microbiological quality products. A precision can be brought, to explain the presence of TC in the samples of *Bouhezza*; those of the laboratory's experimental manufacture, the presence was in the *Lben* and in cheese *Bouhezza*, only at the first day for the two manufacturing and in the 7days sample in the F1 with 90 cfu/g. Then they disappeared of all samples until final product. On the other hand, for the traditional farm manufacture F3 the conditions of preparation which were non-rigorous there is always a risk of contamination. Either, by the tap water added during churning or through the various manipulations during manufacture were probably the cause of the presence of CF in the *Lben*, and in cheese from the beginning to the end of manufacture.

Enumerations of fungal flora of cheese ranged from 3 to 6 log cfu/g. Thus, Yeasts and Moulds were 5.17 and 6.36 log cfu/mL in milk and *Lben* respectively. In *Bouhezza* cheese, the fungal flora was stable during 4 weeks with levels between 3 and 4 log cfu/g. This flora reached 6.45 log cfu/g at the 4th week, then decreased during the three following weeks and finally reached 6.53 log cfu/g at the 8th week. This increasing was probably due to the favourable acidic conditions (low pH and high acidity) and salt contents for yeasts. The level in Tulum at 60 days was 5.79 and 6.95 log cfu/g at 90 days.^[27] Faecal Streptococci are absent in raw milk but present in *Lben*, there was 1.70 log cfu/mL. At the first week, there was 2.04 and 2.48 log cfu/mL in F1 and F2, respectively. Moreover, they disappeared in the following stages of manufacture. The pathogenic microorganisms were not present in the raw material (milk and *Lben*), nor in cheese.

PCR-TTGE identification

The TTGE electrophoretic profil (Figure 3) showed eight bands corresponding to species of lactic acid bacteria, found in *Bouhezza* cheese samples made using goat's raw milk. These species identified, according to Parayre et al.^[21], as; *Lb. plantarum*/*Lb. johnsonni*/*Lb. gasseri* (band a), *Lb.*

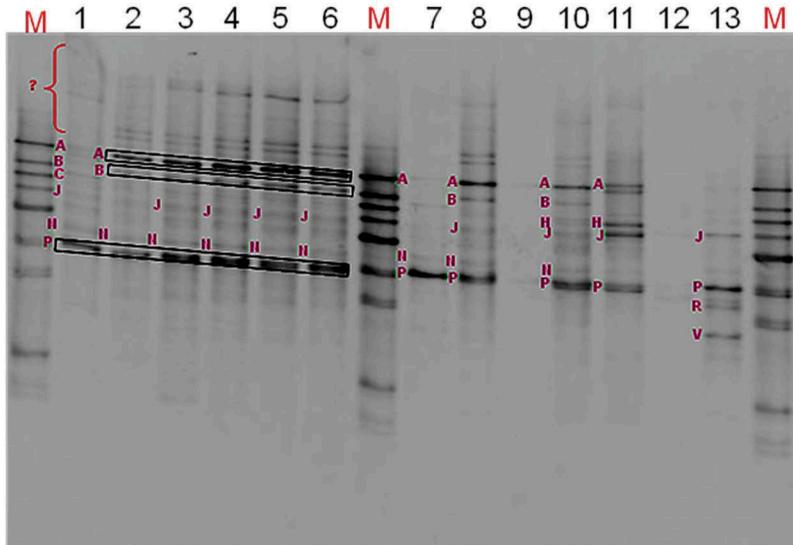


Figure 3. TTGE (Temporal Temperature Gradient Electrophoresis) of *Bouhezza* cheese made with goat milk after DNA extraction of samples derived from two cheese making in Laboratory (FH1); 1. Cheese after 1day ripening, 2. After 14 days ripening, 3. Cheese after 28d ripening, 4.after 42 d ripening, 5. After 50 d ripening without Red pepper and 6. After 50 days of ripening with red pepper. FH2; 7.after 1 day ripening; 8.after 14d ripening and 9.after 50d ripening without red pepper. The two experimental cheese making are compared to the traditional cheese making at farm:FH3; 10.after 64days ripening without red pepper and 11. after 72d ripening with red pepper, and two samples farm making teb+RP;12.cheese >30d ripening with red pepper; AinFak:13. >30d ripening with red pepper. M: genomic DNA marker.

Band: Specie assignate to database: A. *Lb. plantarum/Lb. johnsonni/Lb. gasseri*; b. *Lb. Fermentum*; h *S. xylosus*; j. *Lb. helveticus/Lb. acidophilus/Lb. crispatus*; n. *S. gallolyticus* subsp. *macedonicus*; p. *Lc. lactis* subsp. *cremoris*; r. *Lb. buchneri*; v. *B. breve/Hafnia alvei*.

fermentum (band b), *Lb. helveticus/Lb. acidophilus/Lb. crispatus* (band j); appear from 28 until 50 d for FH1 and at 14 d for FH2. *S. gallolyticus* subsp. *macedonicus* (band n) and *Lc. lactis* subsp. *cremoris* (band p) were present in *Lben* (1d) and in all cheese samples, including control cheese sample made with cow's milk, from Ain Fakroun (Figure3). On the other hand, *S. xylosus* (band h) was present only in FH3 after 64 and 72 days of ripening. *Lb. buchneri* (band r) and the band v correspond to *B. breve/Hafnia alvei* are present in control cheese sample (from Ain Fakroun).

The variety of goat milk used in cheese making, the difference in animal diet, and possibly the climate of the region have given this difference in the bacterial composition between experimental (FH1, FH2) and farm (FH3). No band was shown in samples 9 and 12. The detection of three (possibly five) unknown bands with a lower percentage of G + C in the FH1 and FH2 samples was noted.

Among the lactic acid bacteria found in cheese samples from goat's milk, the genus *Lactobacillus* was predominant, due to their resistance to acidity and salt in cheese. The same species were found in Lebanese Darfiyeh cheese made with goat's raw milk; such as *Lb. plantarum* and *Lc. lactis* subsp. *cremoris*.^[35] Aissaoui Zitoun et al.^[6] reported that the major species found in *Bouhezza* cheese made with cow's milk, *Lc. lactis*, *Lb. plantarum*, *Leuconostoc cremoris/Leu. mesenteroides*. *Lc. lactis* was the major species identified by TTGE and is the one of the most common species found in cheese ecosystems.^[36]

Enzymatic system of LABs play a vital role during cheese manufacture, because amino acids resulting from proteolysis of casein are the major precursors of specific flavor compounds, such as various alcohols, aldehydes, acids, esters, and sulfur compounds.^[37] Microbial diversity has a great influence on hygienic and sanitary quality, and thus on the nutritional, organoleptic and sensorial aspects. Fermented dairy products generally contain complex microbiota, particularly when they are made from raw milk^[21] such as *Bouhezza*. The cheese making from raw milk has shown its beneficial effect on several levels. The acidity developed during the lactic fermentation with the amount of lactic acid released in the cheese mass, which

Table 3. Esters (mean \pm sd. $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ of Cheese) in the Bouhezza cheese making with goat milk.

Esters	RI	F1F2 50d	F3 72d
Methyl acetate	773	3.54 \pm 0.40	2.95 \pm 2.21
Ethyl acetate	838	13.44 \pm 7.36	23.28 \pm 10.87
Ethyl propanoate	915	0.35 \pm 0.00	0.38 \pm 0.00
Methyl butyrate	960	0.54 \pm 0.06	0.76 \pm 0.22
Ethyl butanoate	1028	7.11 \pm 3.05	67.01 \pm 16.37
Ethyl Pentanoate	1085	0.74 \pm 0.00	2.18 \pm 0.60
Isoamyl acetate	1112	6.38 \pm 3.10	2.87 \pm 1.17
2-Methylpropyl butanoate	1136	0.78 \pm 0.42	0.35 \pm 0.35
Methyl hexanoate	1167	6.58 \pm 0.40	4.36 \pm 0.00
Ethyl hexanoate	1205	23.48 \pm 2.37	348.31 \pm 169.17
Butyl butanoate	1220	0.12 \pm 0.00	nd
3-Methylbutyl butanoate	1247	7.09 \pm 0.83	10.59 \pm 3.45
Pentyl 2-methylpentanoate	1284	4.20 \pm 0.00	4.20 \pm 0.83
Hexanoic acid. 1.1-dimethylpropyl ester	1285	2.78 \pm 0.99	3.09 \pm 0.10
Ethyl heptanoate	1316	0.36 \pm 0.16	13.67 \pm 8.40
Propyl hexanoate	1320	2.53 \pm 0.21	3.44 \pm 2.21
2-Methylpropyl hexanoate	1337	1.09 \pm 0.47	3.32 \pm 0.05
Ethyl Lactate	1342	0.25 \pm 0.00	2.29 \pm 2.29
Methyl octanoate	1376	4.04 \pm 0.87	28.90 \pm 9.78
Ethyl octanoate	1423	25.33 \pm 2.96	642.87 \pm 392.26
Isopentyl hexanoate	1446	4.03 \pm 0.60	4.12 \pm 0.00
Propyl octanoate	1508	1.55 \pm 0.19	3.43 \pm 1.25
Ethyl Nonanoate	1525	nd	17.99 \pm 6.68
2-Methylpropyl octanoate	1540	0.10 \pm 0.10	1.47 \pm 0.08
Methyl decanoate	1583	2.16 \pm 0.07	22.66 \pm 12.94
Ethyl decanoate	1626	21.20 \pm 0.60	599.22 \pm 384.37
ethyl 9-decanoate	1694	1.28 \pm 0.81	24.62 \pm 16.68
Propyl decanoate	1720	0.54 \pm 0.06	2.99 \pm 2.25
2-Phenylethyl acetate	1814	27.35 \pm 4.94	76.95 \pm 43.70
Ethyl dodecanoate	1830	0.69 \pm 0.09	67.32 \pm 18.85
3-Methylbutyl decanoate	1864	0.87 \pm 0.00	0.43 \pm 0.26
Phenethyl propionate	1880	1.91 \pm 0.23	5.11 \pm 1.99

has an antiseptic effect as well as its advantages in the intestinal absorption of the calcium. Then the residual lactose that is degraded to give the molecules of the flavor and the cheese taste. The proteolysis and lipolysis that occur during ripening process are also advantages, on the cheese texture, products of hydrolyze released, which are peptides and essential fatty acids. These latter will in turn be hydrolyzed by the enzymes such as peptidases and lipases of the original bacterias (LABs), that results in a variety of flavoring molecules giving diversified more intense and more pronounced sensory and aromatic profiles, to the cheese. Biochemical events where the microbial enzymatic system involved during ripening are very important for the development of the various volatile aromatic products until the end of manufacture. Some of the flavoring components released have antiseptic and antimicrobial effects. The secreting of bacteriocins by the LABs in the matrix of the cheese will complete the sanitization or protection of the cheese with regard to the contamination germs and the pathogenic germs.

Volatile composition

Esters

The major esters found in *Bouhezza* cheese (Table 3) were ethyl esters (14) (ethyl acetate, butanoate, hexanoate, octanoate and decanoate and 2-phenethyl acetate), which were determined at 72 d. Others esters were methyl (5), propyl (7), butyl (3), isoamyl and isopentyl esters (2). Their concentrations changed during ripening.

The highest levels of some esters (ethyl butanoate, hexanoate, octanoate, decanoate and acetate) were determined after 72 d. The levels of these compounds were higher in the FH3 sample than those

Table 4. Carboxylic acids (mean \pm sd. $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ of Cheese) in the Bouhezza cheese making with goat milk.

Acids	RI	F1F2 50d	F3 72d
Acetic acid	1439	363.95 \pm 123.20	606.30 \pm 70.42
Propanoic acid	1541	661.97 \pm 311.01	49.59 \pm 6.10
2-Methy-1-propanoic acid	1551	336.18 \pm 178.93	292.67 \pm 268.18
Butanoic acid	1609	1420.52 \pm 728.98	967.53 \pm 185.24
3-Methyl butanoic acid	1652	3.76 \pm 0.00	67.52 \pm 67.52
Pentanoic acid (CAS) Valeric acid	1653	1533.34 \pm 837.25	1006.95 \pm 867.74
Hexanoic acid	1825	2614.67 \pm 1396.85	2342.84 \pm 143.94
Heptanoic acid	1930	39.95 \pm 21.59	67.25 \pm 1.65
Octanoic acid	2034	1727.88 \pm 878.06	1854.41 \pm 104.56
Nonanoic acid	2133	13.74 \pm 13.74	30.30 \pm 2.52
Decanoic acid	2229	1272.77 \pm 260.09	1186.52 \pm 91.50
Dec-9-enoic acid	2286	25.86 \pm 6.05	27.19 \pm 2.26
Benzoic Acid	2409	75.88 \pm 13.28	33.63 \pm 10.64
Dodecanoic acid	2437	67.09 \pm 12.43	75.76 \pm 12.92

found in FH1 and FH2 at 50 d. While, propyl and butyl esters were low levels at d 50, but increased at d 72. As reported by Hayaloglu et al.^[38], the most important esters in the goat's cheese were ethyl hexanoate, ethyl octanoate and ethyl decanoate in Turkish cheeses of the goat's milk Gokceada and Saanen. Ethyl acetate formed from lactose by lactic bacteria (LAB); citrate and lactate metabolism, or as a product of the catabolism of amino acids is an important flavor compound in many cheeses.^[39]

Carboxylic acids

The carboxylic acids characterized in this study were more concentrated in cheese samples (Table 4). The most abundant carboxylic acids at 50 or at 72 d were acetic, propanoic, butanoic, pentanoic, hexanoic, octanoic and decanoic acids. However, 3-methylbutanoic, heptanoic, nonanoic, dec-9-enoic, benzoic and dodecanoic acids have lower levels in *Bouhezza* cheese. At the 50 d, the increase of the short-chain carboxylic acids concentrations (363.95 to 2,614.67 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) was very important, slightly more than those observed at 72 d.

Among carboxylic acids, hexanoic was present at the highest level, followed by octanoic, pentanoic, decanoic, butanoic and acetic acids. Medjoudj et al.^[7] reported the same level and order of carboxylic acids in *Bouhezza* cheese made with goat's milk, ripened at 72 d. These acids were the main acids presented in many goat cheeses made using raw or pasteurized milk.^[7,38,40–42] This high level is probably due to the contribution of fat brought by the adding of the whole raw milk during the manufacturing of *Bouhezza* from 34 and 56d. The short and medium-chain fatty acids (FAs), released into the cheese by lipolysis, contribute directly to cheese flavor.^[43] They are also precursors of molecules of flavor and aroma compounds.^[44,45] FAs were identified in soft goat cheese, and characterized as goaty aroma.^[40]

Alcohols

Thirteen alcohols were identified in the cheese (Table 5) during 50 d of ripening and only five alcohols were found in farm sample ripened at 72 d. Ethanol, 1-octanol and phenethyl alcohols presented a higher level in cheese at 72 d. In contrast, 3-methyl-butanol and 2-nonanol were higher at 50 d than at 72 d.

Ethanol has a limited aromatic role in cheeses, but it is the precursor of several esters and the conditions in the cheese can promote the rapid reduction of aldehydes and ketones to their primary and secondary alcohols.^[46] The concentrations of 3-methyl-1-butanol decreased from 50 d to 72 d. Some compounds were present at d 50 of ripening and absent at 72 d, such as 2,6-dimethyl-4-heptanol, 2-propyl-1 heptanol, 4-methyl-2-pentanol, 1-hexanol, 2-methyl-2-propanol, 2,3-butane-diol, linalool L and 2-furanemethanol.

Benzyl alcohol was not present in all cheese samples at 50 and 72 d. The whole raw milk added at d 34 and 56 of manufacture; have probably, an effect on aromatic alcohols profile in the final cheese. The most

Table 5. Alcohols (mean \pm sd. $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ of heese) in the Bouhezza cheese making with goat milk.

Alcohols	RI	F1F2 50d	F3 72d
Ethanol	894	13.10 \pm 7.17	61.81 \pm 36.10
3-Methyl-1-butanol	1205	13.50 \pm 2.48	8.20 \pm 2.12
2,6-Dimethyl-4-heptanol	1480	0.19 \pm 0.08	nd
2-Propyl-1-heptanol	1194	0.46 \pm 0.13	nd
4-Methyl-2-pentanol	1301	0.49 \pm 0.00	nd
1-Hexanol	1341	0.45 \pm 0.00	nd
2-Methyl-2-propanol	1340	0.16 \pm 0.00	nd
2,3-Butanediol	1338	0.10 \pm 0.10	nd
2-Nonanol	1491	1.40 \pm 0.20	0.25 \pm 0.00
Linalool L	1530	0.43 \pm 0.11	nd
1-Octanol	1542	0.36 \pm 0.00	0.95 \pm 0.95
2-Furanmethanol	1727	0.36 \pm 0.07	nd
Phenethyl alcohol	1905	51.44 \pm 7.15	67.07 \pm 45.29

Table 6. Aldehyds and Ketones (mean \pm sd. $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ of Cheese) in the Bouhezza cheese making with goat milk.

Aldehyds	RI	F1F2 50d	F3 72d
3-Methylbutanal	881	nd	2.26 \pm 0.36
Hexanal	1025	0.76 \pm 0.00	1.99 \pm 1.25
Nonanal	1383	0.39 \pm 0.02	1.31 \pm 0.80
Furfural	1494	0.39 \pm 0.04	1.65 \pm 1.65
Benzaldehyde	1525	0.25 \pm 0.25	0.89 \pm 0.00
Ketones			
2-Propanone	761	3.78 \pm 0.66	3.82 \pm 3.14
3-Methyl-2-pentanone	999	0.36 \pm 0.36	1.51 \pm 1.24
2-Pentanone	951	1.56 \pm 0.05	2.68 \pm 1.20
2-Heptanone	1151	0.99 \pm 0.26	5.59 \pm 2.70
4-Octanone	1210	0.52 \pm 0.00	nd
3-Hydroxy-2-butanone	1280	0.82 \pm 0.82	nd
2-Nonanone	1378	0.64 \pm 0.39	5.07 \pm 5.07
Butyrolactone	1610	0.38 \pm 0.03	1.65 \pm 1.65
Aldehyds			
	RI	F1F2 50d	F3 72d
3-Methylbutanal	881	nd	2.26 \pm 0.36
Hexanal	1025	0.76 \pm 0.00	1.99 \pm 1.25
Nonanal	1383	0.39 \pm 0.02	1.31 \pm 0.80
Furfural	1494	0.39 \pm 0.04	1.65 \pm 1.65
Benzaldehyde	1525	0.25 \pm 0.25	0.89 \pm 0.00
Ketones			
2-Propanone	761	3.78 \pm 0.66	3.82 \pm 3.14
3-Methyl-2-pentanone	999	0.36 \pm 0.36	1.51 \pm 1.24
2-Pentanone	951	1.56 \pm 0.05	2.68 \pm 1.20
2-Heptanone	1151	0.99 \pm 0.26	5.59 \pm 2.70
4-Octanone	1210	0.52 \pm 0.00	nd
3-Hydroxy-2-butanone	1280	0.82 \pm 0.82	nd
2-Nonanone	1378	0.64 \pm 0.39	5.07 \pm 5.07
Butyrolactone	1610	0.38 \pm 0.03	1.65 \pm 1.65

abundant alcohols found, were phenethyl alcohol followed by ethanol and 3-methyl-1-butanol. In Darfiyeh cheese, the most abundant were 1-phenylethanol, octanol, 3-methylbutanol and 1-propanol.^[47]

Aldehydes

Five aldehydes were identified in cheese samples at 72 d, and four at 50 d (Table 6). The highest component was 3-methyl-1-butanol at 72 d (not detected at 50 d). The level of Hexanal was higher at 72 d than at 50 d, followed by furfural, nonanal and benzaldehyde. The levels of these compounds were found higher in FH3 than FH1 and FH2. Hayaloglu et al.^[38] reported that hexanal was abundant in all the samples of Gokceada and Turkish Saanen. The 3-Methyl-1-butanol was identified in Darfiyeh cheese as

Table 7. Terpenes and Miscellaneous compound (mean \pm sd. $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ of Cheese) in the Bouhezza cheese making with goat milk.

Terpenes	RI	F1 F2 50d	F3 72d
Alpha-pinene	1005	3.84 \pm 0.31	5.81 \pm 2.23
Sabinene	1097	0.40 \pm 0.10	1.75 \pm 0.95
Beta-Pinene	1085	1.34 \pm 0.09	2.22 \pm 0.00
Delta-3-Carene	1121	1.41 \pm 0.00	0.62 \pm 0.62
Beta-Myrcene	1132	3.65 \pm 0.28	2.16 \pm 0.13
dl-Limonene	1171	69.45 \pm 6.85	65.05 \pm 27.00
.beta.-Phellandrene	1170	0.21 \pm 0.06	4.17 \pm 0.00
.gamma.-Terpinene	1261	3.56 \pm 0.44	5.77 \pm 0.79
Beta-Ocymene	1242	2.48 \pm 0.00	nd
Styrene	1244	0.59 \pm 0.06	7.92 \pm 4.31
Para-Cymene	1252	1.38 \pm 0.33	1.42 \pm 0.30
Alpha-Terpinolene	1262	0.47 \pm 0.00	nd
(+)-2-Carene	1268	0.46 \pm 0.08	nd
Alpha-Humulene	1603	0.41 \pm 0.00	0.75 \pm 0.42
Terpinyl acetate	1700	0.81 \pm 0.00	nd
Miscellaneous compound			
2-Methyl-Pentane	560	0.33 \pm 0.00	0.26 \pm 0.00
2-Methylhexane	650	1.97 \pm 0.29	0.59 \pm 0.05
3-Methyl-hexane	679	4.64 \pm 0.41	1.16 \pm 0.06
Benzene	913	0.50 \pm 0.12	0.37 \pm 0.02
Toluene	1024	3.46 \pm 0.40	9.13 \pm 6.96
1.4-Dimethyl-benzene	1091	0.81 \pm 0.01	0.48 \pm 0.00
1.2-Dimethyl benzene	1095	0.87 \pm 0.49	1.98 \pm 1.16
Ethyl benzene	1122	0.20 \pm 0.12	1.42 \pm 1.01
Octylacetylene	1215	1.05 \pm 0.26	nd
2-Amylfuran	1221	0.65 \pm 0.00	0.18 \pm 0.00
1.3.5-Trimethylbenzene	1288	0.66 \pm 0.15	0.90 \pm 0.39
m-Chlorotoluene	1291	0.26 \pm 0.00	0.19 \pm 0.00
Dimethyl sulfone	1896	0.21 \pm 0.00	0.15 \pm 0.15

the major aldehyde found and it plays an important role in the flavor's development because of its low perception threshold. It provides to cheese; malt, oil or aroma butter.^[47]

Ketones

In FH1 and FH2, eight ketones were characterized and only six ones in FH3 (Table 6), 4-octanone and 3-hydroxy-2-butanone, were detected only at 50 d. Ketones levels were higher at 72 d than in samples at 50 d of ripening. Poveda et al.^[45] reported that ketones contribute to the aromatic properties of goat's cheese such as 2-heptanone (mushroom), 2-nonanone (sour), 3-hydroxy-2-butanone (buttery). According to Le Qu  r  t et al.^[40], 3-hydroxy-2-butanone was identified in goat cheese varieties and in artisanal fresh goat's cheese.^[42] When the fatty acids are released in cheese, by lipids degradation the corresponding methyl-ketones are also released.^[44] Fatty acids are oxidized into α -keto-acids.^[45]

Terpenes

Fifteen terpenes were characterized in cheese samples at 50 d and eleven terpenes appeared at 72 d (Table 7). dl-Limonene was the highest compounds in both samples (at 50 and 72 d), followed by α -pinene, gamma-terpinene and then β -myrcene. Levels of sabinene, β -pinene, delta-3-carene and para-cymene were higher at 72 d than in 50 d. Terpinyl acetate were present at 50 d and absent in the sample farm at 72 d. The group of terpenes is widely varied in *Bouhezza* cheese goat's milk, as reported by Medjoudj et al.,^[7] which obtained all of these compounds, with a level close to the farm sample at 72 d.

Miscellaneous compounds

Thirteen miscellaneous compounds were found in *Bouhezza* goat's cheese at 50 d and twelve at 72 d (Table 7). Toluene and 1.2-Dimethyl benzene were found with high levels in both samples of cheese. Methyl groups such as 3-Methyl-hexane and 2-Methylhexane are present at d 50 with higher levels

than at 72 d, unlike toluene, which was more concentrated at 72 d. Relative to toluene; **Hayaloglu et al.**^[38] reported that they have obtained similar results with the Gokceada goat's milk cheese at 90 d. The levels of compounds found in farmhouse production were close to those reported by Medjoudj et al.^[7] for *Bouhezza* goat cheese at 72 d. It is possible that these similarities are due to the region where these cheeses were produced (wilaya of Tebessa), thus the same vegetation, climate and environmental conditions for the goats producing the raw matter.

PCA of volatiles

Two principal components are used in most cases of PCA analysis, which was sufficient to explain a great proportion of the variation into the original parameters. A bi-plot of sample scores was shown in [Figure 4](#), where the most important loadings and the percentage accounted by the two-first principal components (PC1 and PC2) after analysis. The variability of 90.08% and 4.25% were explained respectively by PC1 and PC2. The total variance explained 94.33% of the GC-MS data. A bi-plot showed that carboxylic acids contribute strongly to the cheese flavour such as octanoic, decanoic, hexanoic, acetic, butanoic and pentanoic acids which are grouped in the positive side of the PC1 axis. They represent the most important acids with high levels in the samples of *Bouhezza* cheese goat's milk (50 and 72 d) ([Table 4](#)). The ethyl esters of octanoate (caprylate), decanoate, hexanoate, propanoic acid and 2-methyl-1-propanoic acid are also grouped in the positive side of the PC1 axis and in the negative side of the PC2 axis. The contribution of these esters are second order to the cheese flavour than the acids. The rest of compounds are grouped together around the center of bi-plot. The most of them are in the negative side of PC1 and on the line zero of the PC2 and then the contribution to the principal component is smaller than the two groups of the acids and their esters.

Sensorial description of spicy bouhezza cheese

The spicy *Bouhezza* goat milk cheese has been described as white paste cheese, with medium consistency and some red-orange spots due to the red hot pepper. Texture is a spreadable paste, smooth, firm and sticky. Odor is quite strong with acidic lactic or more intense. In addition the *Lben* and goat odor was perceived in the FH1 and FH2.

The conclusion for assessment of flavors and trigeminal sensations is that *Bouhezza* cheese was moderately spicy and slightly salty with acid taste. The assessment of the overall persistence of *Bouhezza* goat cheese was intense in flavor (90% subjects), pleasant and very typical (30%) and rich aroma (70%). It was persistent in the mouth for longer than 30 seconds. According to the [Figure 5](#), sensory profile of *Bouhezza* is a soft cheese, with fairly medium to high-pronounced acidity. The cheese has a medium salty taste, characterized by its slightly spicy taste due to the addition of red pepper, intense in odor and aroma.

The test of the comparison between FH1 and FH2 showed that there is no significant difference ($P > 0.05$). The intensity and persistence of taste make difficult the distinction between the two cheeses. The Student test comparing two means of two samples matched between F1 and F2 showed no significant difference between their sensory tests ($P > 0.05$). However, the t-test between FH1 and FH3 manufacturing and between FH2 and FH3 at the 5% level showed a significant difference. FH3 was different from FH1 and FH2 ($P < 0.05$). This is probably due to the difference of environmental conditions during production. In addition, the nature and the quality of goat milk used in manufacture was obtained from localities situated at the great distance (about 200 km) with a different vegetation; therefore, a different feed goats. The difference between the aromatic compounds was showed between experimental and farm productions.

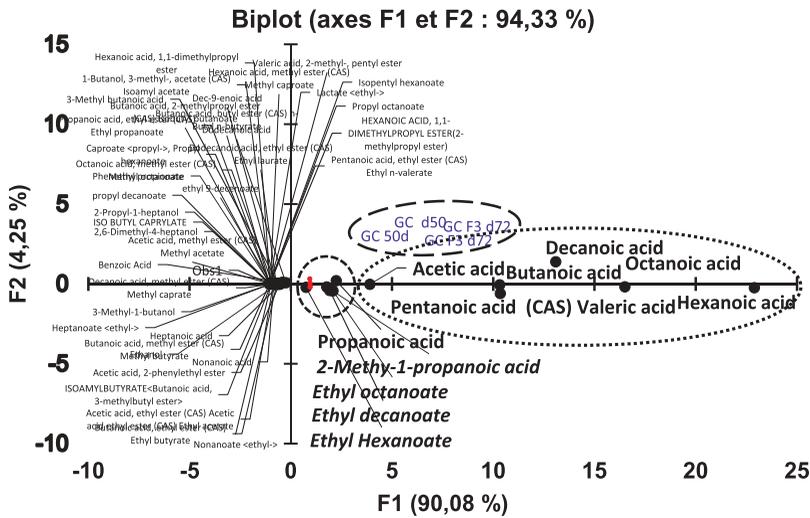


Figure 4. Score plot of the first two principal components of the volatile data from GC-MS analysis of Bouhezza cheese of raw goat's milk.

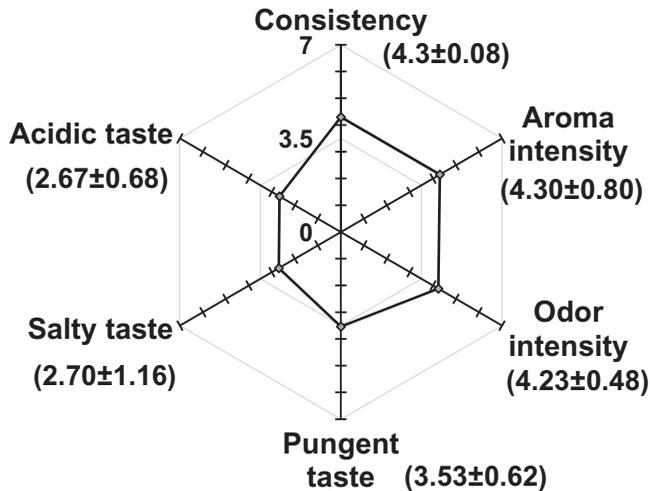


Figure 5. Mean results of sensorial description of Bouhezza goat's cheese spiced at 50 and 72 d of ripening (mean±sd).

Conclusion

Bouhezza cheese is prepared with salted *Lben* in a goatskin, with regular additions of *Lben* and raw milk at the end production during 2–3 months of cheese making. Lactic acid bacteria were the major microorganisms of the Bouhezza cheese microflora. The count of indigenous LAB, lactococcus and lactobacilli were stable at the first stage with slight decreasing till 42nd day and decreased at the end of ripening. The counts for lactococci were higher than lactobacilli during ripening. The main species identified were *Lb. plantarum*, *Lb. fermentum*, *Lb. helveticus* *Lb. acidophilus* and *Lc. lactis* subsp. *cremoris*. Fungal flora as yeasts and moulds increased from the 1st to the last day of cheese making (from 4.44 to 6.53 log ufc/g). The count of CT and CF showed that the cheese is a reliable product and of satisfactory microbiological hygienic quality with the absence of pathogenic flora. The protein profile was determined by urea-PAGE and the protein fractions involved in the cheese

Table 8. Technical data sheet (card) of traditional cheese Bouhezza made with goat's raw milk.

Country	Algeria
Name of cheese	<i>Bouhezza, Milh dhouaba, Boumellal, Bouazza, fromage arabe</i>
Geographical area	East of Algeria in <i>Chaouia</i> Regions Wilaya: Oum El-Bouaghi, Tébessa, Khenchela, Batna, Souk Ahras
CHARACTERISTICS	
Raw Material	Milk of goat, cow, or sheep (alone or a mixture).
Type	Fresh cheese coagulation to acid.
Weight-form	Weight and undefined form.
Aspect	Wet paste of white color with creamy red-orange after spicy with red hot pepper.
Fat	Cheese while-gras with rates of fat/DM of approximately 27 to 47.5%
dry extract	paste with a dry extract approximately 30% until 55% (average around 40%).
SPECIFICATIONS	
The preparation of a container; flexible bag permeable manufactured from the skins of goats or sheeps animals called ' <i>Chekoua</i> '.	
Ripening in masse, soft cheese, mid-fat to all-fat.	
CLASSIFICATION	
Technology	
a- first matter	Churning and creaming manual of the <i>Lben</i> of goat
-adjustment in fat matter	whole raw milk of goat.
b-coagulation	
-type	Exclusively coagulation acid.
auxiliary to temperature	Spontaneous natural acidification.
time of coagulation clotting	Ambient Temperature
c-Draining	12 to 24 hours till 72h
-type	Spontaneous through the pores of <i>Chekoua</i> .
d-salting	
-Type	In <i>Lben</i> or the Mass of cheese
-rate of salt	20–25 g/L of raw material
-Processing after salting	homogenization of the content of the <i>Chekoua</i>
e-refining	ripening not controlled
-Type	In mass (inside of the cheese paste)
-relative humidity of the air	Natural relative humidity
-Duration	1 to 5 months.
f-packaging and conservation	In the <i>Chekoua</i> or Jar in pottery.
-Type	Sold on plastic pots or food bags
-Duration of Conservation	During 5 months after manufacture
-Consumption	Spread or added to traditional dishes.

during maturation. The sensory analysis described *Bouhezza* as having two principal descriptors; aroma and odor, as lactic flavor and acidic lactic odor. The phenomenon such as proteolysis and lipolysis involved during ripening, where the breakdown of proteins and fats liberated their hydrolysis products which were the precursors of small size molecules which have contributed to the taste and flavor characteristics of this cheese made with goat's raw milk. The results of this study allowed establishing the first technical card of traditional goat's raw milk *Bouhezza* cheese. Further studies are needed to determine the main species having a crucial role in ripening, with those present in the skin-bag, which contribute to biochemical process involved in cheese. In addition, probiotic and species having antimicrobial role during ripening needs to be also researched. At the end, the synthesis of results was collected in the Table 8, which represent an identity card of the *Bouhezza* cheese achieved following results of this study.

Acknowledgments

The authors thank the responsible of CoRFiLac Laboratory (Ragusa, Italy) to have allowed carrying out the analysis of Urea-PAGE, TTGE-PCR and, Microbiological analysis using system BAX, out in their labs. The Professor Licitra G. Director of the CoRFiLac; Carpino S. research director, and Pediliggieri C. for her help in the performed analysis.

References

1. Sousa, M. J.; Ardo, Y.; McSweeney, P. L. H. Advances in the Study of Proteolysis during Cheese Ripening. *Int. Dairy J.* **2001**, *11*, 327–345.
2. Dagdemir, E.; Ozdemir, S. Technological Characterization of the Natural Lactic Acid Bacteria of Artisanal Turkish White Pickled Cheese. *Int. J. Dairy Technol.* **2008**, *6*, 133–140.
3. Fox, P. F.; Proteolysis during Cheese Manufacture and Ripening. *J. Dairy Sci.* **1989**, *72*, 1379–1400.
4. Beuvier, E.; Berthaud, K.; Cegarra, S.; Dasen, A.; Pochet, S.; Buchin, S.; Duboz, G. Ripening and Quality of Swiss-Type Cheese Made from Raw, Pasteurized or Microfiltered Milk. *Int. Dairy J.* **1997**, *7*, 311–323.
5. Aissaoui Zitoun, O.; Benatallah, L.; Ghennam, E.-H.; Zidoune, M. N. Manufacture and Characteristics of the Traditional Algerian Ripened Bouhezza Cheese. *J. Food Agric. Environ.* **2011**, *9*, 96–100.
6. Aissaoui Zitoun, O.; Pediliggieri, C.; Benatallah, L.; Lortal, S.; Licitra, G.; Zidoune, M. N.; Carpino, S. Bouhezza, a Traditional Algerian Raw Milk Cheese, Made and Ripened in Goatskin Bags. *J. Food, Agric. Environ.* **2012**, *10*, 289–295.
7. Medjoudj, H.; Zidoune, M. N.; Hayaloglu, A. A. Proteolysis and Volatile Profile in the Algerian Traditional Bouhezza Cheese Made Using Raw Goat's Milk. *Int. J. Food Properties.* **2016**, SN - 1532-2386. DOI: [10.1080/10942912.2016.1222588](https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1222588).
8. Derouiche, M.; Zidoune, M. N. *Caractérisation D'un Fromage Traditionnel, Le Michouna De La Région De Tébessa*; Livestock Research for Rural Development: Algérie, **2015**; Vol. 27, Article #229. Retrieved April 5, 2016, from <http://www.lrrd.org/lrrd27/11/meri27229.html>
9. Leksir, C.; Chemmam, M. *Contribution À La Caractérisation Du Klida, Un Fromage Traditionnel De L'est De L'Algérie*; Livestock Research for Rural Development; Fundación CIPAV: Cali, Colombia; **2015**; Vol. 27, Article #83. Retrieved June 22, 2015, from <http://www.lrrd.org/lrrd27/5/chem27083.html>
10. A.O.A.C. Association of Official Agricultural Chemists. *Official Methods of Analysis*, 17th ed.; USA: Washington, DC, **2000**.
11. AFNOR. *Recueils Des Normes Françaises, Contrôle De La Qualité Des Produits Alimentaires, Lait Et Produits Laitiers, Analyses Physico-Chimique. (A) (9a) Norme NF V04-282 (1985) - Fromages Et Fromages Fondus: Détermination De La Matière Sèche (Méthode De Référence). P.300-303. (B) Norme NF V04-287 (1972) Fromages: Détermination De La Teneur En Matière Grasse, Méthode Acido - Butyrométrique De Van Gulik. P. 323-327. (C) Norme NF V04-287 (1990) Lait: Détermination De La Teneur En Matière Grasse. Méthode Acido-Butyrométrique. P195-211. In: Recueil De Normes Françaises. Contrôle De La Qualité De Produits Alimentaires: Lait Et Produits Laitiers. Analyses physicochimiques. Afnor-dgccrf. (4ème Ed.); La Défense: Paris, **1993**; pp 562.*
12. AFNOR. *Collection of French Standards. Product Quality Control Food: Milk and Dairy Products. Physicochemical Analysis. Afnor-Dgccrf*, 4th ed.; La Défense: Paris, **1985**; pp 562.
13. A.O.A.C. *Official Methods of Analysis.*, 16th ed.; Association of official Chemists International: Airlington, VA, **1995**; Vol. II.
14. Lowry, O. H.; Rosebrough, N. J.; Farr, A. L.; Randall, R. J. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. *J. Biologie Chem.* **1951**, *193* (1), 265–275.
15. International Dairy Federation, (IDF). *Standard Method 20B: Milk. Determination of Nitrogen Content, Part 1 and 2*; International Dairy Federation: Brussels, Belgium, **1993**.
16. Fallico, V.; McSweeney, P. L. H.; Siebert, K. J.; Horne, J.; Carpino, S.; Licitra, G. Chemometric Analysis of Proteolysis during Ripening of Ragusano Cheese. *J. Dairy Sci.* **2004**, *87*, 3138–3152.
17. Andrews, A. T.; Proteinases in Normal Bovine Milk and Their Action on the Caseins. *J. Dairy Res.* **1983**, *50*, 45–55.
18. Blakesley, R. W.; Boezi, J. A. A New Staining Technique for Proteins in Polyacrylamide Gels Using Comassie Brilliant Blue G250. *Anal. Biochem.* **1977**, *82*, 580–581.
19. Guiraud, J. P.; *Microbiologie Alimentaire, Édition DUNOD*; Tec et Doc Lavoisier: Paris, **2003**; pp 652.
20. Licitra, G.; Ogier, J. C.; Parayre, S.; Pediliggieri, C.; Carnemolla, T. M.; Falentin, H.; Madec, M. N.; Carpino, S.; Lortal, S. Variability of the Bacterial Biofilms of the “Tina” Wood Vat Used in the Ragusano Cheese Making Process. *Appl. Environ. Microbiol.* **2007**, *73*, 6980–6987.
21. Parayre, S.; Falentin, H.; Madec, M. N.; Sivieri, K.; Le Dizes, A. S.; Sohier, D.; Lortal, S. Easy DNA Extraction Method and Optimisation of PCR-Temporal Temperature Gel Electrophoresis to Identify the Predominant High and Low GC-content Bacteria from Dairy Products. *J. Microbiol. Methods.* **2007**, *69*, 431–441.
22. Ogier, J. C.; Lafarge, V.; Girard, V.; Rault, A.; Maladen, V.; Gruss, A.; Leveau, J. Y.; Delacroix-Buchet, A. Molecular Fingerprinting of Dairy Microbial Ecosystems by Use of Temporal Temperature and Denaturing Gradient Gel Electrophoresis. *Appl. Environ. Microbiol.* **2004**, *70*, 5628–5643.
23. Sulejmani, E.; Rafajlovska, V.; Gunecer, O.; Karagul-Yuceer, Y.; Hayaloglu, A. A. Volatile Compounds and Proteolysis in Traditional Beaten (Bieno Sirenje) Ewe's Milk Cheese. *Int. J. Dairy Technol.* **2014**, *67*, 584–593.
24. Bérodiér, F.; Lavanchy, P.; Zannoni, M.; Casals, J.; Herrero, L.; Adamo, C. Guide Dévaluation Olfacto-Gustative Des Fromages À Pâte Dure Et Semi-Dure. *Lebensm. Wiss. Technol.* **1997**, *30*, 653–664.

25. AFNOR, Collection of French Standards. *General Standards for Methodology. Afnor-Dgccrf*, 5th ed.; La Défense, AFNOR: Paris, **1995**; pp 400.
26. XLSTAT, 2009 version 2009.1.02 for Windows. Copyright Addinsoft 1995-2009 <https://www.xlstat.com>. (accessed on 18 august **2016**).
27. Hayaloglu, A. A.; Cakmakci, S.; Brechany, E. Y.; Deegan, K. C.; McSweeney, P. L. H. Microbiology, Biochemistry, and Volatile Composition of Tulum Cheese Ripened in Goat's Skin or Plastic Bags. *J. Dairy Sci.* **2007a**, *90*, 1102–1121.
28. Bontinis, T. G.; Mallatou, H.; Alichanidis, E.; Kakouri, A.; Samelis, J. Physicochemical, Microbiological and Sensory Changes during Ripening and Storage of Xinotyri, a Traditional Greek Cheese from Raw Goat's Milk. *Int. J. Dairy Technol.* **2008**, *61* (3), 229–236.
29. Hayaloglu, A. A.; Fox Patrick, F.; Mehmet, G.; Songul, C. Cheeses of Turkey: 1. Varieties Ripened in Goat-Skin Bags. *Lait* **2007**, *87*, 79–95.
30. Bontinis, T. G.; Mallatou, H.; Pappa, E. C.; Massouras, T.; Alichanidis, E. *Study of Proteolysis, Lipolysis and Volatile Profile of a Traditional Greek Goat Cheese (Xinotyri) during Ripening*, *Small Ruminant Research*; Elsevier B.V.; **2012**; Vol. 105, pp 193–201.
31. Sousa, M. J.; Malcata, F. X. *Proteolysis of Ovine and Caprine Caseins in Solution by Enzymatic Extracts from Flowers of Cynara Cardunculus*; Elsevier Science Inc: **1998**; pp p10.
32. Addeo, F.; Garro, G.; Intorcchia, N.; Pellegrino, L.; Resmini, P.; Chianese, L. Gel Electrophoresis and Immunoblotting for the Detection of Casein Proteolysis in Cheese. *J. Dairy Res.* **1995**, *62*, 207–309.
33. Fox, P. F.; McSweeney, P. L. H. Rennets: Their Role in Milk Coagulation and Cheese Ripening. In *Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk*, 2nd ed.; Law, B. A.; Ed.; Chapman and Hall: London, UK; **1997**; pp 1–40, 363.
34. Ouadghiri, M.; Vancanneyt, M.; Vandamme, P.; Naser, S.; Gevers, D.; Lefebvre, K.; Swings, J.; Amar, M. Identification of Lactic Acid Bacteria in Moroccan Raw Milk and Traditionally Fermented Skimmed Milk 'Lben'. *J. Appl. Microbiol.*; The Society for Applied Microbiology, **2008**, *106*(2), 486–95 ISSN 1364–5072.
35. Serhan, M.; Catherine, C.-G.; Frederic, B.; Anne-Marie, R.-J.; Chadi, H.; Jacques, F. Bacterial Diversity of Darfiyeh, a Lebanese Artisanal Raw Goat's Milk Cheese. *Food Microbiol.* **2009**, *26*, 645–652.
36. Ogier, J.-C.; Lafarge, V.; Girard, V.; Rault, A.; Maladen, V.; Gruss, A.; Leveau, J.-Y.; Delacroix-Buchet, A. *Molecular Fingerprinting of Dairy Microbial Ecosystems by Use of Temporal Temperature and Denaturing Gradient Gel Electrophoresis, Applied and Environmental Microbiology*; *American Society for Microbiology*; **2004**; Vol. 70.9, pp 5628–5643.
37. Smit, G.; Smit, B. A.; Engels, W. J. M. Flavour Formation by Lactic Acid Bacteria and Biochemical Flavour Profiling of Cheese Products. *FEMS Microbiol. Rev.* **2005**, *29*, 591–610.
38. Hayaloglu, A. A.; Tolu, C.; Yasar, K.; Sahingil, D. Volatiles and Sensory Evaluation of Goat Milk Cheese Gokceada as Affected by Goat Breeds (Gokceada and Turkish Saanen) and Starter Culture Systems during Ripening. *J. Dairy Sci.* **2013**, *96*, 2765–2780.
39. McSweeney, P. L. H.; Sousa, M. J. Biochemical Pathways for the Production of Flavour Compounds in Cheeses during Ripening: A Review. *Lait* **2000**, *80* (2000), 293–324. © INRA, EDP Sciences.
40. Le Quéré, J.-L.; Pierre, A.; Riaublanc, A.; Demaizères, D. Characterization of Aroma Compounds in the Volatile Fraction of Soft Goat Cheese during Ripening. *Lait* **1998**, *78*, 279–290.
41. Carunchia Whetstine, M. E.; Karagul-Yuceer, Y.; Avsar, Y. K.; Drake, M. A. Identification and Quantification of Character Aroma Components in Fresh Chevre-Style Goat Cheese. *J. Food Sci.* **2003**, *68*, 2441–2447.
42. Guillen, M. D.; Ibargoitia María, L.; Sopelana, P.; Palencia, G. Components Detected by Headspace-Solid Phase Microextraction in Artisanal Fresh Goat's Cheese Smoked Using Dry Prickly Pear (*Opuntia Ficus Indica*). *Lait* **2004**, *84*, 385–397.
43. Collins, Y. F.; McSweeney, P. L. H.; Wilkinson, M. G. Lipolysis and Free Fatty Acid Catabolism in Cheese: A Review of Current Knowledge. *Int. Dairy J.* **2003**, *13*, 841–866.
44. Molimard, P.; Spinnler, H. E. Review: Compounds Involved in the Flavor of Surface Mold-Ripened Cheeses: Origins and Properties. *Dairy Food. J. Dairy Sci.* **1996**, *79*, 169–184.
45. Poveda, J. M.; Sanchez-Palomo, E.; Perez-Coello, M. S.; Cabezas, L. Volatile Composition, Olfactometry Profile and Sensory Evaluation of Semi-Hard Spanish Goat Cheeses. *Dairy Sci. Technol.* **2008**, *88*, 355–367.
46. Castillo, I.; Calvo, M. V.; Alonso, L.; Juarez, M.; Fontech, J. Changes in Lipolysis and Volatile Fraction of a Goat Cheese Manufactured Employing a Hygienized Rennet Paste and a Defined Strain Starter. *Food Chem.* **2007**, *100*, 590–598.
47. Serhan, M.; Linder, M.; Hosri, C.; Fanni, J. Changes in Proteolysis and Volatile Fraction during Ripening of Darfiyeh, a Lebanese Artisanal Raw Goat's Milk Cheese. *Small Rumin. Res.* **2010**, *90*, 75–82.

Résumés

Résumé

Bouhezza est un fromage traditionnel algérien, du terroir de *Chaouia* produit à partir de différents types de lait (chèvre, brebis et vache). Sa fabrication-affinage est réalisée dans une outre, sac préparé traditionnellement à partir de peau de chèvre ou de brebis, appelée *Chekoua* ou *Djeld* de *Bouhezza*.

L'objectif de l'étude était de contribuer à la caractérisation du fromage traditionnel *Bouhezza* à travers une enquête dans différentes régions de *Chaouia*, au nord-est de l'Algérie. Une caractérisation physico-chimique, biochimique et microbiologique de *Bouhezza* préparé avec du lait cru de chèvre.

L'enquête a été menée auprès de 617 familles en milieu urbain et 225 en milieu rural, afin d'établir le diagramme de fabrication du *Bouhezza* et de délimiter la zone géographique de sa pratique. Treize fabrications de *Bouhezza* au lait cru de chèvre ont été réalisées ; 2 expérimentales au laboratoire (LNTA-I.N.A.T.A-A) - Université de Constantine 1) et 11 en ferme (4 à Tébessa et 7 à Oum El-Bouaghi). Au cours de l'affinage, des analyses physico-chimiques et microbiologiques ont été réalisées. La détermination de la protéolyse au cours de la maturation, l'isolement et l'identification de bactéries lactiques protéolytiques trouvées dans le fromage ont été réalisés par électrophorèse SDS-PAGE et PCR. Les profils peptidiques ont été analysés par RP-HPLC. L'évaluation du taux de protéolyse, mise en évidence des profils lipidiques par CPG, aromatiques par GC-MS, avec une analyse sensorielle et profil de texture du fromage *Bouhezza*. La caractérisation microbiologique du fromage avec identification des bactéries lactiques par séquençage de l'ADNr 16S en utilisant la PCR-TTGE.

L'enquête a confirmé la pratique de *Bouhezza* dans différentes régions de *Chaouia* dans 5 wilayas ; Khenchela, Batna, Tébessa, Souk Ahras et Oum El Bouaghi. Sur 498 enquêtées 49,76% (247) connaissent et fabriquent *Bouhezza*. Il est aussi dénommé « Milh Dhouaba » à Tébessa.

L'analyse microbiologique a révélé un nombre élevé de bactéries lactiques, de l'ordre de 7,7 à 8,9 log ufc / g de fromage, l'absence de bactéries pathogènes, tandis que la flore de contamination était présente au début de la fabrication, mais diminuait avec le temps. Par conséquent, le fromage a une qualité hygiénique acceptable. La flore lactique a montré des fluctuations au cours de la fabrication avec une charge importante des Streptocoques lactiques constitués essentiellement des souches de : *Lc. lactis* subsp. *cremoris* et *S. gallolyticus* subsp. *macedonicus*. Les lactobacilles sont présents avec une moindre charge, composés de *Lb. plantarum*, *Lb. johnsonni*, *Lb. gasseri*; *Lb. fermentum*, *Lb. helveticus*, *Lb. acidophilus* et *Lb. crispatus*.

Bouhezza est un produit fermenté acide, avec un pH moyen de 3,88 et une acidité moyenne de 1,85 g / 100 g d'acide lactique. Le taux de protéines/EST était de 22,20%, la teneur en graisse/EST de 41,18% et le taux de cendres 3,54%. Les résultats ont montré que la matière sèche était en moyenne de 35,65%. La teneur en humidité dans le fromage dégraissé (TEFD) est de 68,55% et 79,05%, la matière grasse dans la matière sèche (MGES) de 47,65% et 34,77%.

Les fractions d'azote solubles dans l'eau et dans 12% de TCA ont diminué au début du processus de maturation, puis ont augmenté à la fin de la maturation. L'analyse par SDS-PAGE 12% sur des échantillons de *Bouhezza* a montré une protéolyse modérée, à partir de 30 jours de maturation. L'urée-PAGE des caséines a montré une protéolyse rapide. Six bactéries lactiques protéolytiques, dont quatre identifiées par séquençage de l'ADNr 16S étaient : deux souches d'*Enterococcus faecalis*, une *Enterococcus faecium* et une *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*.

L'analyse par RP-HPLC de la fraction soluble à pH 4,4 a montré les modifications qui se produisaient au cours du processus d'affinage où le profil peptidique confirmait la protéolyse pendant la maturation du fromage.

Un total de plus de Cent (100) composés volatils ont été identifiés dans le fromage *Bouhezza* de chèvre, dont les principales classes sont les acides carboxyliques, esters et alcools, suivis des aldéhydes, cétones, terpènes et composés divers.

Bouhezza de chèvre a été classé parmi les fromages affinés à pâte molle à demi molle et mi-gras à tout gras selon le *codex alimentarius*. *Bouhezza* est doté d'une bonne diversité microbienne qui contribuerait à son affinage et le pourvoirait de ses caractéristiques organoleptiques. L'évaluation sensorielle a montré que *Bouhezza* est salé, épicé et intense en odeur et en arôme. L'étude a montré que le fromage *Bouhezza* était riche en volatiles avec une diversité de composants odorants qui donnent au fromage ses particularités reflétant l'identité de ce fromage de terroir.

Mots-clés: *Chaouia*, *Chekoua* (*Djeld*), lait cru de chèvre, Fromage traditionnel *Bouhezza*, physico-chimie et microbiologie, Qualité Hygiénique, classification, bactéries lactiques, affinage, protéolyse, lipolyse, profil aromatique, profil de texture.

Abstract

Bouhezza is a traditional Algerian cheese, from *Chaouia* terroir produced from different types of milk (goat, sheep and cow). Its manufacture refining is carried out in a skin bag prepared traditionally from goatskin or sheepskin, called *Djeld* or *Chekoua* of *Bouhezza*.

The objective of the study was to contribute to the characterization of traditional cheese *Bouhezza* through a survey in different regions of *Chaouia*, in northeastern Algeria. A physicochemical, biochemical and microbiological characterization of *Bouhezza* prepared with goat' raw milk.

The survey was conducted among 617 families in urban areas and 225 in rural areas, in order to establish the production diagram of *Bouhezza* and delineate the geographical area of his practice. Thirteen cheese making of *Bouhezza* with raw goat milk were made; 2 experimental in laboratory (LNTA-I.N.A.T.A-A) - University of Constantine 1) and 11 in farms (4 in Tébessa and 7 in Oum El-Bouaghi). During ripening, physicochemical and microbiological analyzes were carried out. Determination of proteolysis during maturation, isolation and identification of proteolytic lactic acid bacteria found in the cheese were performed by SDS-PAGE electrophoresis and PCR. Peptide profile was analyzed by RP-HPLC. The evaluation of the proteolysis rate, highlighting profiles lipid by GC, and aromatic by GC-MS, with a sensory analysis and texture profile of *Bouhezza* cheese. The microbiological characterization of cheese with identification of lactic acid bacteria by sequencing of 16S rDNA using PCR-TTGE.

The investigation confirmed the practice of *Bouhezza* in different regions of *Chaouia* in 5 wilayas; Khenchela, Batna, Tebessa, Souk Ahras and Oum El Bouaghi. Of 498 respondents, 49.76% (247) know and manufacture *Bouhezza*. He is also called "Milh Dhouaba" at Tébessa.

The microbiological analysis revealed a high number of lactic acid bacteria, of the order of 7.7 to 8.9 log cfu / g of cheese, the absence of pathogenic bacteria, while the flora of contamination was present at the beginning of manufacturing, but decreased with time. Therefore, the cheese has an acceptable hygienic quality. The lactic flora showed fluctuations during manufacture with a heavy load of lactic Streptococci consisting essentially of strains of: *Lc. lactis subsp. cremoris* and *S. gallolyticus subsp. macedonicus*. Lactobacilli are present with a low charge, composed of *Lb. plantarum*, *Lb. johnsonni*, *Lb. gasseri*; *Lb. fermentum*, *Lb. helveticus*, *Lb. acidophilus* and *Lb. crispatus*.

Bouhezza is an acidic fermented product with an average pH of 3.88 and an average acidity of 1.85 g / 100 g of lactic acid. The protein / DM level was 22.20% and the fat / DM content 41.18%. The results showed that the dry matter averaged 35.65%. The moisture content in the defatted cheese is 68.55% and 79.05%, the fat-in-dry matter of 47.65% and 34.77%.

Nitrogen fractions soluble in water and in 12% TCA decreased at the beginning of the ripening process and then increased at the end of ripening. SDS-PAGE analysis on *Bouhezza* samples showed moderate proteolysis, from 30 days of maturation. Urea PAGE of caseins showed rapid proteolysis. Six proteolytic lactic acid bacteria (LABs), four of which have been identified by 16S rDNA sequencing, were two strains of *Enterococcus faecalis*, one *Enterococcus faecium* and one *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei*.

RP-HPLC analysis of the soluble fraction at pH 4.4 showed the changes that occurred during the refining process where the peptide profile confirmed proteolysis during cheese maturation.

A total of more than 100 volatile compounds have been identified in goat cheese *Bouhezza*, the main classes of which are carboxylic acids, esters and alcohols, followed by aldehydes, ketones, terpenes and various compounds.

Goat's milk cheese has been classified as ripened cheeses semi-soft to soft and semi-fat to all fat according to the *codex alimentarius*. *Bouhezza* has a good microbial diversity, which would contribute to its ripening and provide it with its organoleptic characteristics. The sensory evaluation showed that *Bouhezza* is salty, spicy and intense in smell and aroma. The study showed that *Bouhezza* cheese was rich in volatiles with a variety of odorous components that give the cheese its particularities reflecting the identity of this local cheese.

Keywords: *Chaouia*, *Chekoua* (*Djeld*), raw goat's milk, traditional *Bouhezza* cheese, physico-chemistry and microbiology, hygienic quality, classification, lactic acid bacteria, ripening, proteolysis, lipolysis, aromatic profile, texture profile.

ملخص

بوهزة هو الجبن التقليدي الجزائري، لمنطقه الشاوية المحلية ينتج من أنواع مختلفة من الحليب (الماعز والأغنام والبقر). تنفيذ إنتاجه ونضجه يتم في كيس الجلد تقليديا من جلد الماعز والأغنام ويعدى جلد أو شكوة بوهزة. كان الهدف من هذه الدراسة هو المساهمة في وصيف الجبن التقليدي بوهزة من خلال المسح في مناطق مختلفة من الشاوية، شمال شرق الجزائر وتحديد المنطقة الجغرافية من ممارسته. وصفه الفيزيوكيميائي، الكيمياء الحيوي والميكروبيولوجي خلال النضج لبوهزة. تم إجراء ثلاثة عشر إنتاج من جبن بوهزة أعدت من حليب الماعز الخام. 2 تجريبي بمختبر التغذية والتكنولوجيا الغذائية بمعهد التغذية والتغذية والتكنولوجيا الفلاحية الغذائية بجامعة منتوري قسنطينة 1 و 11 في مزارع بالريف (4 بنسبة و 7 بأم البواقي).

أجري الاستطلاع بين 617 أسرة في المناطق الحضرية و 225 في المناطق الريفية لإنشاء مخطط التحضير لبوهزة. تمت التحليل الفيزيوكيميائية والكيميائية الحيوية. أحرز تحديد التحلل البروتيني أثناء النضج، وعزل والتعرف على بكتيريا حمض اللاكتيك الموجودة PCR و SDS-PAGE. تم تحليل ملامح الببتيد من بواسطة HPLC RP في الجبن. تم تقييم معدل التحلل البروتيني، والتعرف على ملامح من المادة الدهنية مع التحليل الحسي والشخصي الملمس لجبن بوهزة. توصيف GC ب ، و العطرية، ب GC-MS S 16 الميكروبيولوجي للجبن مع التعرف على بكتيريا حمض اللاكتيك من تسلسل الحمض النووي المؤلف PCR-TTGE باستخدام.

وأكد التحقيق ممارسة بوهزة في مختلف مناطق الشاوية. ويؤكد في 5 ولايات. خنشلة، باتنة، تيبسة، سوق أهراس، أم البواقي. من 498 من "المستجيبين 49،76٪ (247) يعرفون ويصنعون بوحزة. ويسمى أيضا "ملح ذوابة" في تيبسة. وكشف التحليل الميكروبيولوجي عدد كبير من بكتيريا حمض اللاكتيك، حول 7،7-9،8 اللوغاريتم وحدة تشكل مستعمرة وتم / غرام من الجبن وعدم وجود البكتيريا المسببة للأمراض، في حين أن بكتيرية التلوث موجودة في وقت مبكر من التصنيع، ولكن انخفض مع مرور الوقت. ولذلك، فإن الجبن لديه نوعية صحية مقبولة. أظهرت البكتيريا اللاكتيك تقلبات أثناء الإنتاج، حمولة كبير تتكون من سلالات المكورات العنقودية اللاكتيك أساسا:

Lc. lactis subsp. cremoris et S. galloyticus subsp. macedonicus.

العصيات اللبنية موجودة بكمية منخفضة، تتألف من

Lb. plantarum, Lb. johnsonni, Lb. gasseri; Lb. fermentum, Lb. helveticus, Lb. acidophilus et Lb. crispatus.

بوهزة هو منتج مخمر حمضي، مع درجة الحموضة في المتوسط 3.88 ومتوسط حموضة 1.85 غرام / 10 غرام من حامض اللبنيك. وكان مستوى البروتين / المادة الجافة 22.20٪، والمحتوى الدهون / المادة الجافة 41.18٪. وأظهرت النتائج أن المادة الجافة بلغت هو، 35.65٪. محتوى الرطوبة في الجبن الخالية من الدهون 68،55٪ و 79،05٪ (TEFD) والدهون في المادة الجافة من 34،77 و 47،65٪ (FDM). أظهر الكسور النيتروجين في الماء وقابل للذوبان في تحليل على 12٪ TCA انخفضت في بداية عملية النضج ثم ارتفعت في نهاية النضج. أجري على عينات بوهزة

على الكازينات أظهرت التحلل SDS-PAGE التحلل البروتيني كان من المعتدل في الفترة من 30 أيام من النضج. ب ب أما التحليل السريع. وكانت ستة البكتيريا المحللة للبروتين حمض اللاكتيك بما في ذلك أربعة حدها Urée-PAGE البروتيني و *Enterococcus faecium* المعوية البرازية، المؤلف 16S سلالتين من المكورات الحمض النووي تسلسل RP-HPLC و واحدة الملينة تحليل من قبل *Enterococcus faecalis Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* واحدة، الكسر للذوبان في درجة الحموضة 4.4 أظهر التغييرات التي حدثت خلال عملية التكرير حيث أكد البيان الشخصي الببتيدي التحلل البروتيني أثناء نضج الجبن بوهزة.

وقد تم التعرف على ما مجموعه أكثر من مائة (100) مركبات طيارة في جبن الماعز بوهزة والطبقات الرئيسية هي الأحماض الكربوكسيلية، استرات والكيبتونات وتربين والمركبات المختلفة.

وقد صنف بوهزة الماعز كما الألبان نصف الطرية مع الجبن الطري ونصف الدهون و على الإطلاق دهني على حسب بوهزة لديه التنوع الدستور الغذائي. وأظهر أن التقييم الحسي أن بوهزة مالح وحار. الميكروبي جيدة تساهم في النضج ومن شأنه أن يوفر الخصائص الحسية. بوهزة مع مجموعة متنوعة من المكونات التي تعطي ومكثفة في الرائحة والرائحة. وأظهرت الدراسة أن الجبن كان غنيا بالمواد الطيارة الجبن رائحته الخاصة يعكس هوية ذلك الجبن.

كلمات البحث: الشاوية، الشكوة أو جلد بوهزة، حليب الماعز الخام، جبن بوهزة التقليدي، الكيمياء الفيزيائية وعلم الأحياء الدقيقة و، الجودة الصحية، والتصنيف، وبكتيريا حمض اللاكتيك، والتكرير، والملمس الشخصي

كلمات البحث: الشاوية، الشكوة أو جلد بوهزة، حليب الماعز الخام، جبن بوهزة التقليدي، الكيمياء الفيزيائية وعلم الأحياء الدقيقة و، الجودة الصحية، والتصنيف، وبكتيريا حمض اللاكتيك، والتكرير، والملمس الشخصي

Résumé

Bouhezza est un fromage traditionnel algérien, du terroir de *Chaouia* produit à partir de différents types de lait (chèvre, brebis et vache). Sa fabrication-affinage est réalisée dans une outre, sac préparé traditionnellement à partir de peau de chèvre ou de brebis, appelée *Chekoua* ou *Djeld* de *Bouhezza*.

L'objectif de l'étude était de contribuer à la caractérisation du fromage traditionnel *Bouhezza* à travers une enquête dans différentes régions de *Chaouia*, au nord-est de l'Algérie. Une caractérisation physico-chimique, biochimique et microbiologique de *Bouhezza* préparé avec du lait cru de chèvre.

L'enquête a été menée auprès de 617 familles en milieu urbain et 225 en milieu rural, afin d'établir le diagramme de fabrication du *Bouhezza* et de délimiter la zone géographique de sa pratique. Treize fabrications de *Bouhezza* au lait cru de chèvre ont été réalisées ; 2 expérimentales au laboratoire (LNTA-I.N.A.T.A-A) - Université de Constantine 1) et 11 en ferme (4 à Tébessa et 7 à Oum El-Bouaghi). Au cours de l'affinage, des analyses physico-chimiques et microbiologiques ont été réalisées. La détermination de la protéolyse au cours de la maturation, l'isolement et l'identification de bactéries lactiques protéolytiques trouvées dans le fromage ont été réalisés par électrophorèse SDS-PAGE et PCR. Les profils peptidiques ont été analysés par RP-HPLC. L'évaluation du taux de protéolyse, mise en évidence des profils lipidiques par CPG, aromatiques par GC-MS, avec une analyse sensorielle et profil de texture du fromage *Bouhezza*. La caractérisation microbiologique du fromage avec identification des bactéries lactiques par séquençage de l'ADNr 16S en utilisant la PCR-TTGE.

L'enquête a confirmé la pratique de *Bouhezza* dans différentes régions de *Chaouia* dans 5 wilayas ; Khenchela, Batna, Tébessa, Souk Ahras et Oum El Bouaghi. Sur 498 enquêtées 49,76% (247) connaissent et fabriquent *Bouhezza*. Il est aussi dénommé « Milh Dhouaba » à Tébessa.

L'analyse microbiologique a révélé un nombre élevé de bactéries lactiques, de l'ordre de 7,7 à 8,9 log ufc / g de fromage, l'absence de bactéries pathogènes, tandis que la flore de contamination était présente au début de la fabrication, mais diminuait avec le temps. Par conséquent, le fromage a une qualité hygiénique acceptable. La flore lactique a montré des fluctuations au cours de la fabrication avec une charge importante des Streptocoques lactiques constitués essentiellement des souches de : *Lc. lactis* subsp. *cremoris* et *S. gallolyticus* subsp. *macedonicus*. Les lactobacilles sont présents avec une moindre charge, composés de *Lb. plantarum*, *Lb. johnsonni*, *Lb. gasseri*; *Lb. fermentum*, *Lb. helveticus*, *Lb. acidophilus* et *Lb. crispatus*.

Bouhezza est un produit fermenté acide, avec un pH moyen de 3,88 et une acidité moyenne de 1,85 g / 100 g d'acide lactique. Le taux de protéines/EST était de 22,20%, la teneur en graisse/EST de 41,18% et le taux de cendres 3,54%. Les résultats ont montré que la matière sèche était en moyenne de 35,65%. La teneur en humidité dans le fromage dégraissé (TEFD) est de 68,55% et 79,05%, la matière grasse dans la matière sèche (MGES) de 47,65% et 34,77%.

Les fractions d'azote solubles dans l'eau et dans 12% de TCA ont diminué au début du processus de maturation, puis ont augmenté à la fin de la maturation. L'analyse par SDS-PAGE 12% sur des échantillons de *Bouhezza* a montré une protéolyse modérée, à partir de 30 jours de maturation. L'urée-PAGE des caséines a montré une protéolyse rapide. Six bactéries lactiques protéolytiques, dont quatre identifiées par séquençage de l'ADNr 16S étaient : deux souches d'*Enterococcus faecalis*, une *Enterococcus faecium* et une *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*.

L'analyse par RP-HPLC de la fraction soluble à pH 4,4 a montré les modifications qui se produisaient au cours du processus d'affinage où le profil peptidique confirmait la protéolyse pendant la maturation du fromage.

Un total de plus de Cent (100) composés volatils ont été identifiés dans le fromage *Bouhezza* de chèvre, dont les principales classes sont les acides carboxyliques, esters et alcools, suivis des aldéhydes, cétones, terpènes et composés divers.

Bouhezza de chèvre a été classé parmi les fromages affinés à pâte molle à demi molle et mi-gras à tout gras selon le *codex alimentarius*. *Bouhezza* est doté d'une bonne diversité microbienne qui contribuerait à son affinage et le pourvoirait de ses caractéristiques organoleptiques. L'évaluation sensorielle a montré que *Bouhezza* est salé, épicé et intense en odeur et en arôme. L'étude a montré que le fromage *Bouhezza* était riche en volatiles avec une diversité de composants odorants qui donnent au fromage ses particularités reflétant l'identité de ce fromage de terroir.

Mots-clés: *Chaouia*, *Chekoua* (*Djeld*), lait cru de chèvre, Fromage traditionnel *Bouhezza*, physico-chimie et microbiologie, Qualité Hygiénique, classification, bactéries lactiques, affinage, protéolyse, lipolyse, profil aromatique, profil de texture.