

Etude comparative des huiles essentielles de six variétés des nouvelles obtentions d'agrumes cultivées au Maroc

Houmy N.¹, Brahmi F.², Hasnaoui I.², Asehraou A.², Rokni Y.², Esegir L.³, Benyahya H.⁴ et Mokhtari O.².

nadia.houmy@inra.ma

1 : Centre Régional de la Recherche Agronomique d'Oujda, Institut National de la Recherche Agronomique, Oujda, Maroc.

2 : Departement de Biologie, Faculté des Sciences, Université Mohammed Premier, Oujda, Maroc.

3 : International Center for Agricultural Research in the Dry Areas, Rabat, Maroc.

4 : Centre Régional de la Recherche Agronomique de Kenitra, Institut National de la Recherche Agronomique, Kenitra, Maroc.

Résumé

Les huiles essentielles de six variétés d'agrumes obtenues de l'INRA du Maroc, et qui sont : les mandarines El Marzaka, El Mahdia, El Gharabaouia, El Hamra, El Maamoura et l'orange Shemsia ont été comparées et analysées. La comparaison a été effectuée en termes de rendement, de composition chimique, d'activité antioxydante et d'activité antimicrobienne de ces huiles essentielles. L'extraction a été effectuée par hydro-distillation. Le rendement en huile essentielle le plus élevé a été obtenu chez la variété Shemsia (5,63%/PS). Les principaux composants des huiles essentielles ont été identifiés par CPG-MS et leur activité antioxydante a été déterminée en testant la capacité de piégeage des radicaux libres par DPPH. Le composant majeur des huiles essentielles est le D-Limonène et la plus haute activité antioxydante a été obtenue pour l'huile essentielle d'El Maamoura (24,02%). L'activité antifongique a été détectée chez toutes les variétés et la valeur la plus élevée a été repérée chez El Maamoura, alors que l'activité antibactérienne n'a été détectée chez aucune variété. À partir des résultats obtenus, nous constatons que l'huile essentielle de la mandarine El Maamoura peut être valorisée sous forme de fongicide dans le domaine d'agriculture ou dans le domaine médical. En plus, la variété El Hamra peut être incorporée dans l'industrie de la fabrication des crèmes solaires.

Mots clés : Agrume, huile essentielle, activité antioxydante, activité antifongique, activité antibactérienne.

PS : Poids sec ; CPG-MS : Chromatographie en phase gazeuse couplé à la masse ; DPPH : Diphényl Picrylhydrazyle.

Comparative study of the essential oils of six new citrus varieties cultivated in Morocco

Abstract

In this research, the essential oils of six INRA's citrus varieties, which are mandarines El Marzaka, El Mahdia, El Gharabaouia, El Hamra, El Maamoura and orange Shemsia were compared and analyzed. For this purpose, the oil yield, chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity were investigated. The extraction was carried out by hydro-distillation. The highest essential oil yield was obtained for Shemsia (5,63%/DW). The main components of essential oils were identified by GC-MS and their antioxidant activity was determined by DPPH method. The major component of essential oils is D-Limonene, and the highest antioxidant activity was obtained for Shemsia essential oil (24.02%). Antifungal activity was detected in all varieties and the highest value was identified in El Maamoura, while antibacterial activity was not distinguished. From the obtained results, we note that the essential oils of El Maamoura can be valued as a fungicide in agriculture or in medical field. In addition, El Hamra, can be used in Solar cream industry.

Keywords: Citrus, essential oil, antioxidant activity, antifungal activity, antibacterial activity.

DW: Dry weight; GC-MS: Gas Chromatography coupled to mass spectrometer; DPPH: Diphenyl Picrylhydrazyle.

مقارنة للزيوت العطرية لستة أصناف جديدة من الحمضيات للمعهد الوطني للبحث الزراعي مزروعة في المغرب

هومي نادية¹، براهيم فاطمة²، حسناوي اسماعيل²، اصحراو عبد السلام²، يحيى ركني²، الصغير
لبنى³، بنيحيى حميد⁴، مختاري وفاء²

- 1-المركز الجهوي للبحث الزراعي، المعهد الوطني للبحث الزراعي، وجدة، المغرب
- 2-قسم العلوم البيولوجية، كلية العلوم، جامعة محمد الاول، وجدة، المغرب
- 3-المركز الدولي للبحث الزراعي في المناطق الجافة، الرباط، المغرب
- 4-المركز الجهوي للبحث الزراعي، المعهد الوطني للبحث الزراعي، القنيطرة، المغرب

ملخص

من خلال هذا البحث، تم تحليل الزيوت العطرية لستة أصناف منتقاة من مجموعة أصناف المعهد الوطني للبحث الزراعي، وهي: المرزاقية، المهدية، الغرباوية، الحمراء، المعمورة والشمسية، حيث تم إجراء المقارنة من الجوانب التالية: التركيبية الكيميائية، وكمية الزيت المستخلصة، ونشاط مضادات الأكسدة والنشاط المضاد للميكروبات. فتم الاستخراج بواسطة التقطير المائي، وتم الحصول على أعلى إنتاجية للزيوت الأساسية لـ 5,63% / م. ج). كما تم تحديد المكونات الرئيسية للزيوت الأساسية بواسطة GC-MS حيث ان المكون الرئيس للزيوت الأساسية هو D-Limonene وتم تحديد نشاط المكونات المضادة للأكسدة بواسطة طريقة DPPH، حيث تم الحصول على أعلى نشاط مضاد للأكسدة الزيت العطرية عند نوع المعمورة (24.02%). كما تم اكتشاف النشاط المضاد للفطريات في جميع الأصناف الأنواع وتم تحديد أعلى قيمة في المعمورة، في حين لم يتم الكشف عن أي نشاط مضاد للبكتيريا. ومن النتائج التي تم الحصول عليها كذلك، نلاحظ أن الزيوت العطرية لمعمورة) يمكن استعمالها كمبيد للفطريات في الزراعة أو في المجال الطبي بالإضافة إلى الصنف الحمراء التي يمكن استعمالها لصناعة كريمات أو مرهقات مضادة لأشعة الشمس.

الكلمات المفتاحية: حمضيات، زيت أساسي، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للفطريات، نشاط مضاد للبكتيريا

م. ج :مادة جافة ; GC-MS :كروماتوجرافيا الغاز المقترنة بالكتلة, DPPH ثنائي الفينيل بيكريل هيدرازيل

Introduction

Les agrumes sont parmi les cultures les plus cultivées dans le monde, qui jouent un rôle majeur dans le secteur agro-industriel. En effet le Brésil, la Chine, l'Inde, le Mexique, l'Espagne et les États-Unis produisent plus de deux tiers des agrumes du monde (Paggiola et al. 2016 ; Satari et Karimi, 2018). En 2016, plus de 124 millions de tonnes d'agrumes ont été produites. Au Maroc, le secteur des agrumes joue un rôle socio-économique de premier choix, ce qui permet de le classer parmi les filières les plus importantes de l'économie nationale. La filière agrumicole a connu ces deux dernières décennies un développement important grâce aux efforts déployés dans le cadre du Plan Maroc Vert. En effet, l'agrumiculture occupe une superficie d'environ 125 000 hectares avec une production moyenne de l'ordre de 2 millions de T/an, et des exportations estimées à une moyenne de 500 000 T, qui génèrent un chiffre d'affaires de 3 milliards de DH par an (MAROC Citrus, 2017).

Malgré ce développement, le secteur a connu de grands problèmes dans les deux dernières années. Suite au rapport annuel du ministère d'agriculture de pêche maritime, du développement rural et des eaux et forêts (2019), la production d'agrumes au Maroc pour la campagne agricole 2018/19 a atteint environ 2,6 millions de tonnes, soit une augmentation de 18 % par rapport à la précédente campagne commerciale, dont la plus importante élévation a été enregistrée dans les zones de Berkane et Beni Mellal, où la production a augmenté de 25 % et 18 % respectivement.

L'augmentation des exportations pour ce secteur est tributaire des aléas du marché international et des itinéraires techniques de production du fruit en amont et aval. Environ 60 % de la production nationale reste dans le marché local, ce qui provoque une submersion du marché et un effondrement des prix de vente, engendrant des problèmes socioéconomiques déplorables.

Cette production a engendré des grandes quantités de déchets dont la gestion est très difficile. Généralement, ces déchets sont soit abandonnés dans l'environnement ou dans les décharges publiques sans aucun traitement préalable ce qui peut causer des problèmes environnementaux. La décomposition de ces déchets peut augmenter l'acidité du sol et par la suite peut affecter l'état de la nappe phréatique du fait de leur faible pH et la présence des huiles essentielles qui ont un effet sur la faune et la flore (Satari et al., 2017).

La valorisation de ces déchets est une nécessité fondamentale non seulement pour des raisons socio-économiques mais aussi pour des raisons environnementales.

L'objectif général de ce travail est de caractériser les huiles essentielles d'agrumes de six obtentions de l'INRA afin de pouvoir valoriser leur écorce qui constitue une valeur ajoutée à la culture et ouvre l'accès vers un nouvel axe de développement durable pour les zones agricoles.

Matériel et méthodes

Zone d'études

La collecte des échantillons a été réalisée au niveau du domaine expérimental El Menzeh (INRA Kenitra ; altitude de 25 m, latitude de 34°64) avec un climat de type méditerranéen.

Matériel végétal

Les échantillons de six variétés d'agrumes obtenus de l'INRA du Maroc, et qui sont : les mandarines El Marzaka, El Mahdia, El Gharbaouia, El Hamra, El Maamoura et l'orange Shemsia ont été récoltés durant le mois décembre 2018. L'échantillonnage a été effectué d'une manière aléatoire pour récupérer plus de 30 fruits au total pour chaque variété. Les échantillons collectés sont mis dans des sachets en plastique contenant le code pour chaque variété. Une fois amenée au laboratoire d'agroalimentaire et qualité à l'agropole de Berkane, l'écorce de ces agrumes a été écartée séchée à température ambiante puis broyée pour récupérer leurs huiles essentielles.

Méthode d'extraction des huiles essentielles

La technique d'hydrodistillation a été utilisée pour extraire les huiles essentielles des échantillons à partir d'écorce des six variétés d'agrumes. Elle a été réalisée selon la méthode de Clevenger avec quelques modifications (Clevenger, 1928). L'écorce de chacun des échantillons a été broyée et placée dans un ballon, contenant de l'eau distillée, puis portée à ébullition. Le mélange est chauffé à l'aide d'un chauffe-ballon. La vapeur d'eau se forme et entraîne avec elle les arômes contenus dans les écorces d'agrumes. Ce mélange gazeux monte dans la tête de colonne puis pénètre dans un réfrigérant à eau, parcouru par de l'eau froide venant du robinet. Le distillat est par la suite recueilli dans une éprouvette. L'extrait des huiles essentielles est déshydraté par sulfate de sodium puis conservé à 4°C, à l'abri du vent et de la lumière (Mwaniki et al., 2015).

Rendement en huiles essentielles

Le rendement en huiles essentielles est le rapport entre le poids d'huile essentielle extraite et le poids de la biomasse végétale séchée. Le rendement est exprimé en pourcentage (%) (Bousbia, 2011).

$$R (\%) = (P_{HE} / P_{MVS}) \times 100$$

R (%) : le rendement en huiles essentielles (%). P_{HE} : poids d'huile essentielle extraite (g). P_{MVS} : poids de matériel végétal séché.

Composition chimique des huiles essentielles par CPG-MS

L'analyse a été réalisée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse (Shimadzu GC-2010) équipé d'une colonne capillaire en silice fondue (5% de Phényl Méthyl Siloxane, 30 m x 0,25 mm, épaisseur de film 0,25 µm) couplée à un détecteur de spectromètre de masse (GC-MS- QP2010). L'hélium en tant que gaz vecteur a été ajusté à une pression constante de 100 KPa. La température du four a été initialement maintenue pendant 1 minute à 50 ° C, suivie d'un gradient de 10 ° C / min jusqu'à

150 ° C maintenue pendant 1 minute, puis programmée de 250 ° C à 20 ° C / min pendant 1 minute. Les températures de l'injecteur, de la ligne de transfert et de la source d'ions ont été fixées à 250 ° C et 200 ° C respectivement. Pour la préparation des échantillons, des solutions contenant 1 µL des échantillons dilués dans de l'hexane (50 mg /g) ont été injectées en mode split (split ratio = 25-100: 1) et le système GC – MS a été exploité en mode scan. Les spectres de masse ont été enregistrés à 70 eV (mode d'ionisation par impact électronique) avec une plage m / z de 40-350 a.m.u (la vitesse et le retard du solvant étaient respectivement de 5s / scan et 4,5 minutes). L'identification des constituants des huiles essentielles a été réalisée sur la base de la comparaison des temps de rétention avec ceux des normes authentiques et par la comparaison de leurs données sur leurs masses molaires avec celles stockées dans la bibliothèque informatique de l'Institut national des normes et de la technologie (NIST147). Un LabSolutions (version 2.5) a été utilisé pour la collecte et le traitement des données (Benouda et al., 2018).

Activité antioxydante des huiles essentielles par DPPH

L'activité antioxydante a été réalisée selon la méthode de Blois (1958) où 100 µl des échantillons d'HE ont été mélangés avec 4 ml d'une solution du DPPH à 4 %. Après 30 minutes dans l'obscurité, une lecture à 517nm dans le spectrophotomètre a été réalisée. L'activité antioxydante est exprimée en % d'inhibition selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{\text{DO (blanc)} - \text{DO (échan)}}{\text{DO (blanc)}}$$

DO (échan) : absorbance de l'échantillon.

DO (blanc) : absorbance du blanc.

Activité antimicrobienne des huiles essentielles

L'étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles est réalisée dans des boîtes de Pétri de diamètre 150mm selon la méthode de diffusion des puits décrite par Joshi et al. (2019) pour les bactéries et par Moghadam et al. (2019) pour les champignons. Les souches indicatrices, *Staphylococcus aureus* et *E. coli*, identifiées par Abouloifa et al (2020) et Elyoubi (2017) respectivement, ont étéensemencées à une concentration de 0,5 McFarland (1 à 2 × 10⁸ UFC / mL) sur gélose Mueller Hinton (DIFCO, France) et *Aspergillus niger* identifiée par Bellaouchi, (2019) a été cultivée sur un milieu gélose Yeast Extract Glucose Agar (YEGA) : 10g/L Glucose (Sigma-aldrich, Germany), 10g/L Yeast Extract (Biokar, France), agar 20g/L (Biokar, France). Une solution saline stérile contenant 0,01% de Tween 80 a ajusté les spores, comptées par des lames de Neubauer, et la suspension à une concentration d'environ 10⁶ spores.ml⁻¹ a étéensemencée sur gélose (YEGA). Dans chaque puits, 30 µl des huiles essentielles ont été versées, suivis de 30 µl de diméthylsulfoxyde (DMSO) de façon à obtenir le volume total de 60 µl dans les puits (50% d'huile essentielle). Trois témoins ont été préparés : un témoin négatif avec DMSO et deux témoins positifs qui sont Cycloheximide (Sigma-Aldrich, USA) pour *Aspergillus niger* et Tétracycline (Sigma-Aldrich, USA) pour les deux suspensions bactériennes (*E. coli* et *Staphylococcus aureus*). Les boîtes de Pétri ont été pré-incubées pendant 3 h à température ambiante, permettant la diffusion complète des échantillons, puis incubées à 30 °C pendant 12 à 24 h pour les bactéries et 25 °C pendant 24 à 48 h

pour *Aspergillus niger* et les zones d'inhibitions des souches indicatrices obtenues autour des puits ont été mesurées. Tous les tests ont été effectués en triple. Ces souches indicatrices ont été fournies par le laboratoire de microbiologie à la faculté des sciences Oujda dans lequel nous avons fait les tests microbiens.

Résultats et discussions

Rendement en huiles essentielles

Les résultats du rendement en huiles essentielles sont présentés dans la figure 1. Ils sont variables et changent entre 2,09% et 5,63% pour El Marzaka et Shemsia respectivement. Cette variation est probablement due à la période de récolte (mois de décembre) où le stade de maturité varie d'une variété à une autre et d'une espèce agrumicole à une autre. La variété Shemsia est tardive par rapport aux autres variétés, ce qui explique la différence du rendement de cette variété par rapport aux autres. En effet, le stade de maturité affecte le rendement en huile essentielles chez les espèces agrumicoles (Wolford et al., 1971).

D'autre part, nos résultats de rendement sont supérieurs à ceux de Bousbia et al (2009) qui a obtenu des valeurs entre 0,1 et 1,3 % et Kamal et al (2011) qui a obtenu des valeurs entre 0,2 et 1,07 %. Le rendement en huiles essentielles varie et dépend de plusieurs facteurs tels les conditions climatiques et environnementales, l'espèce agrumicole, la variété, la période de récolte, le stade de maturité, la technique de séchage des écorces et d'extraction des huiles essentielles (Wolford et al., 1971; Bourgou et al., 2012 ; Calo et al., 2015).

Composition chimique par CPG-MS

Le Tableau 1 présente la composition chimique détectée par CPG-MS des huiles essentielles extraites à partir des six variétés d'agrumes. Selon les résultats, la composition chimique varie d'une variété à une autre. Il a été démontré que l'espèce agrumicole, la variété, le degré de maturité, les variations saisonnières, le stockage des fruits avant l'extraction, les précipitations, le porte-greffe, la méthode d'extraction et le rendement en huile sont des paramètres qui affectent les propriétés physico-chimiques des huiles essentielles d'agrumes extraits (Wolford et al., 1971).

D'autre part, les huiles essentielles analysées sont dominées par le D-limonène avec des valeurs entre 56,44% et 100 % pour El Hamra et El Marzaka respectivement. Ces résultats sont similaires ceux obtenus dans la littérature (Bousbia et al., 2009 ; Yang et al., 2010 ; Kamal et al., 2011). L'huile essentielle d'El Marzaka peut être utilisée comme aromatisant dans le domaine de la parfumerie, dans l'industrie agroalimentaire et pharmaceutique (Ciriminna et al., 2014). Le limonène est utilisé comme matière première pour les synthèses chimiques d'adhésifs à base de résine terpène et de produits chimiques aromatiques à haute valeur ajoutée. En plus, il peut être utilisé dans la fabrication des nettoyants et les shampoings (Braddock and Cadwallade, 1995). En plus du D-Limonène, 16 autres composés ont été détectés avec des teneurs comprises entre 0,48% et 17,98% pour α - Pinene et Homomenthyl salicylate, respectivement.

L'huile essentielle d'El Maamoura est composée de 9 éléments mais elle est caractérisée par une présence significative du Sabinène qui est reconnu par une importante activité antioxydante et antifongique (Quiroga et al., 2015). Probablement, cette molécule est l'origine de l'importante activité antioxydante et antifongique de l'huile essentielle d'El Maamoura (figure 2 et 3).

D'autre part, l'huile essentielle d'El Mahdia est composée également de Linalool (4,6 %) et de β -Myrcène (3,17%). Grace à son importante odeur, le myrcène est un composé qui est très utilisé dans l'industrie de la parfumerie (Behr et al., 2009).

L'huile essentielle de la variété El Hamra est composée de Salicylic-acid, 2 ethylhexyl et Homomenthyl salicylate avec des proportions de 15,44 et 17,98 % respectivement. Ces derniers, sont utilisés dans le domaine de la fabrication des écrans totaux anti-UV (Kazuto et al., 2015). L'huile essentielle de la variété El Hamra est caractérisée également par la présence du Linalool qui a été largement utilisé dans les parfums, les shampooings, les savons de toilette et autres articles de toilette ainsi que dans les produits non cosmétiques. De plus, le Linalool a été approuvé par la Food and Drug Administration (FDA) en tant que GRAS «Generally Recognized As Safe» (Menezes et al., 2014).

Tableau 1 : Composés chimiques détectés par GC-MS (%) obtenus à partir des huiles essentielles extraites à partir de six variétés d'agrumes

Composants	TR	El Maamoura	El Marzaka	El Mahdia	Shemsia	El Hamra	El Gharbaouia
α -Thujene	4,88	-	-	-	-	-	1,47
α -Pinene	4,99	0,83	-	0,88	0,48	-	-
Sabinene	5,60	6,11	-	1,72	0,85	-	-
β -Myrcene	5,83	2,22	-	3,17	2,42	-	-
D-Limonene	6,52	84,75	100	85,51	93,12	56,44	94,99
Linalool	7,52	2,82	-	4,60	2,28	11,15	1,91
Limonene oxide	8,1	-	-	-	-	-	1,63
Capric aldehyde	9,092	-	-	0,83	0,85	-	-
(+)-Carvon	9,742	1,01	-	-	-	-	-
α -Farnesene	13,167	-	-	0,755	-	-	-
Germacrene	13,2	0,902	-	-	-	-	-
β -Sinensal	15,458	0,75	-	-	-	-	-
α -Sinensal	16,05	0,62	-	2,54	-	-	-
Salicylic-acid, 2 ethylhexyl	16,64	-	-	-	-	15,44	-
Homomenthyl salicylate	17,53	-	-	-	-	17,98	-
Total (%)		100	100	100	99,2	101	100

TR : Temps de rétention

Activité antioxydante par DPPH

Les résultats de l'activité antioxydante sont présentés dans la figure 2. El Maamoura et Shemsia présentent le pourcentage d'inhibition les plus importants avec des valeurs de 21,9% et 24,02%, respectivement. Nos résultats sont faibles par rapport à ceux de Yang et al (2010) et Elkhatim et al (2018) qui ont obtenus des valeurs de l'ordre de 48,9 % et 76.4% respectivement. Il a été rapporté que l'activité antioxydante (DPPH) des huiles essentielles des agrumes est affectée par sa composition physico-chimique, surtout sa teneur en D-limonène (Wei and Shibamoto, 2007 et Yang et al., 2010).

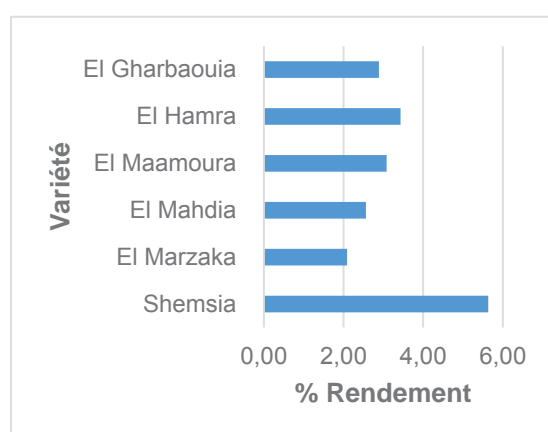


Figure 1 : Rendement des huiles essentielles de six variétés d'agrumes cultivées au Maroc

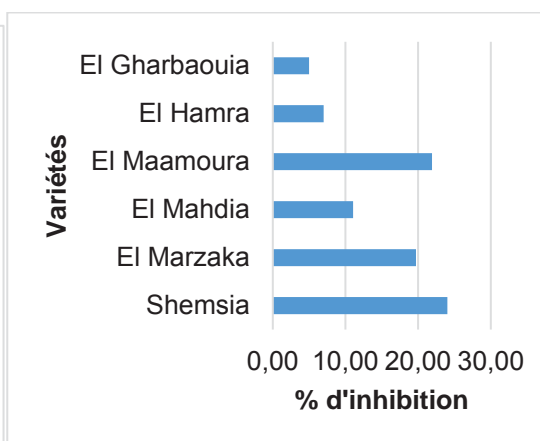


Figure 2 : Activité antioxydante des six huiles essentielles déterminée par la méthode DPPH.

Activité antimicrobienne

Les huiles essentielles testées étaient actives contre *Aspergillus niger*. Par contre aucune inhibition n'a été détectée contre *Staphylococcus aureus* et *E. coli*. La variété El Maamoura présente l'activité antifongique la plus élevée des autres variétés d'agrumes avec un diamètre qui dépasse 37 mm qui est similaire à celui de Cycloheximide (témoin). El Hamra présente la plus faible activité antifongique. Viuda-Martos et al (2008) ont obtenu un diamètre de 9 mm pour ces échantillons d'huile essentielle de mandarines après 9 jours d'incubation en présence d'*Aspergillus niger*.

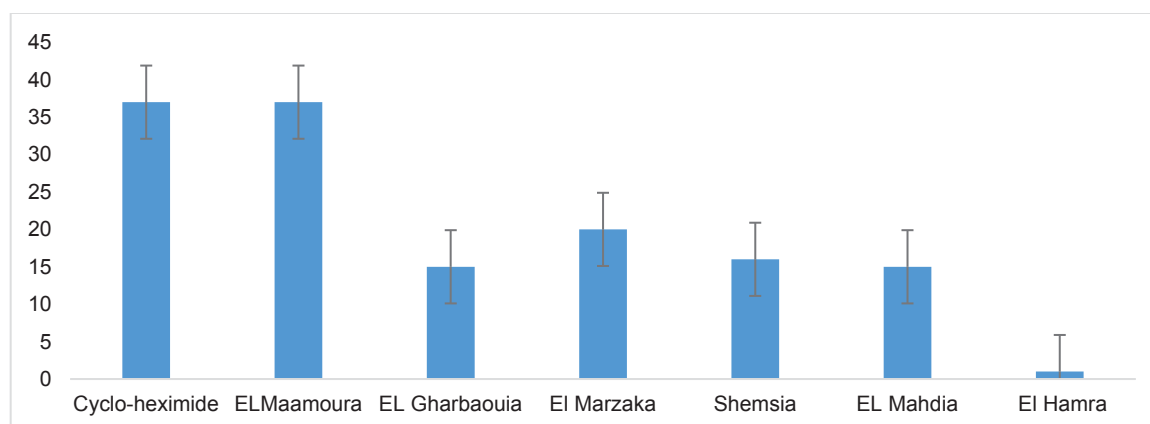


Figure 3 : Diamètre (mm) de l'activité antifongique contre *Aspergillus niger* des variétés d'agrumes

Conclusion et perspectives

L'étude de l'extraction et d'évaluation des huiles essentielle d'écorces de six variétés d'agrumes obtenues de l'INRA a confirmé que ces espèces agrumicoles présentent différents profils d'huiles essentielles avec un rendement différent et une activité antioxydante et antifongique distincte. Notre étude confirme aussi la possibilité de valorisation des huiles essentielles des agrumes obtenus de l'INRA notamment l'huile essentielle d'El Maamoura, en tant que fongicide dans le domaine médical et agricole du fait de son pouvoir antifongique élevé vis à vis d'*Aspergillus niger*. D'autre part et grâce à sa composition chimique, l'huile essentielle d'El Hamra peut faire l'objet de la fabrication des crèmes solaires naturelles.

Au vu de ces résultats obtenus au cours de nos travaux, nous pouvons conclure qu'une meilleure gestion des sous-produits d'agrumes constitue une valeur ajoutée à cette culture et représente un axe de développement pour le secteur agricole et une opportunité économique considérable, car ils peuvent être utilisés dans les industries pharmaceutiques, nutraceutiques, alimentaires et cosmétiques mais cela nécessite d'autres recherches appliquées et approfondies pour compléter ces résultats.

Remerciements

Nous exprimons notre reconnaissance à Mlle Laoukili El Hassania pour son aide et sa collaboration. Nous remercions également Messieurs Hamid Mahyou et Karim Andich Chef du Centre Régional de la Recherche Agronomique d'Oujda et Coordinateur de l'Unité pour leur précieuse aide et leur collaboration.

Références bibliographiques

- Abouloifa H., Rokni Y., Bellaouchi R., Hasnaoui I., Gaamouche S., Ghabbour N., Chaoui J., Brasca M., Karboune S., Ben Salah R., Saalaoui E. and Asehrou A. (2020). Technological Properties of Potential Probiotic Lactobacillus Strains Isolated From Traditional Fermenting Green Olive. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. Vol. 9. p. 884-889.
- Behr, A., Johnen, L. (2009). Myrcene as a natural base chemical in sustainable chemistry: a critical review. *Chemistry Sustainability Energy Materials*. Vol. 12. p. 1072–1095.
- Bellaouchi R., (2019). Contribution à l'étude de la production d'acide citrique par *Aspergillus niger* sur les sous-produits de datte. Thèse de doctorat (Faculté des Sciences, Université Mohamed Premier, Oujda, Maroc).
- Benouda H., Bouammali B., Challioui A., Oulmidi A. and Dardouri N. (2018). Essential oil variation in wild-growing populations of *Artemisia herba-alba* Asso collected from Morocco: Chemical composition and multivariate analysis. *Journal of Materials and Environmental Sciences*. Vol. 9. p. 1741-1749.
- Blois, MS. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 181. p. 1199- 1200.
- Bourgou S., Rahali FZ., Ourghemmi I. and Tounsi MS. (2012). Changes of Peel Essential Oil Composition of Four Tunisian Citrus during Fruit Maturation. *The Scientific World Journal*. Vol. 2012. p. 1-10.
- Bousbia N. (2011). Thèse de Doctorat d'état. Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Thèse de doctorat en cotutelle (L'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'Alger. Alger). 176 pages.
- Bousbia N., Abert VM., Ferhat MA., Meklati BY. And Chemat F. (2009). A new process for extraction of essential oil from Citrus peels: Microwave hydrodiffusion and gravity. *Journal of Food Engineering*. Vol. 90. p. 409–413.
- Braddock RJ. and Cadwallade KR. (1995). Bioconversion of Citrus d-Limonene. *American Chemical Society*. Vol. 596. p. 142-148.
- Calo JR., Crandall PG., O'Bryan CA. and Ricke S.C. (2015). Essential oils as antimicrobials in food systems-A review. *Food Control*. Vol. 54. p. 111-119.
- Ciriminna R., Lomeli M., Carà PD., Jose A., Sanchez L. and Pagliaro M. (2014). Limonene: A Versatile Chemical of the Bioeconomy. *Royal Society of Chemistry*. Vol. 50. p. 15288-15296.
- Clevenger JF. (1928). Apparatus for the determination of volatile oil. *Journal of the American Pharmaceutical Association*. Vol. 17. p. 336-341.
- Elkhatim KA., Elagib RAA. And Hassan AB. (2018). Content of phenolic compounds, vitamin C, and antioxidant activity in wasted parts of Sudanese citrus fruits. *Food Science & Nutrition*. Vol. 6. p. 1214–1219.

ElYoubi M. (2017). Thèse de doctorat sous le titre Etude biochimique et microbiologique des résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale dans le Maroc Oriental. (Faculté des Sciences, Université Mohamed Premier, Oujda).

Joshi B., Kumar V., Chandra B. and Kandpal N. (2019). Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Senecio graciliflorus*. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9: 98-100. Hussain Al., Anwar F., Sherazi STH., Przybylski R. (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry*. Vol. 108. p. 986-995.

Kamal, GM., Anwar F., Hussain, Al., Sarri N. and Ashraf, MY. (2011). Yield and chemical composition of Citrus essential oils as affected by drying pretreatment of peels. *International Food Research Journal*. Vol. 18. p. 1275-1282.

MAROC Citrus, (2017). Statistique de la Filière Agrumicole. Consulté en juin 2019. <http://maroc-citrus.com/statistiques-2/>

Menezes P., Serafini M. R., Quintans-Junior L. J., Silva GF., Oliveira JF., Carvalho FMS., Souza JCC., Matos JR., Alves PB., Matos IL., Hadaruga DI. and Araujo AAS. (2014). Inclusion complex of (2)-linalool and β -cyclodextrin. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. Vol. 115. p. 2429–2437.

Moghadam ZA., Hosseini H., Hadian Z., Asgari B., Mirmoghtadaie L., Mohammadi A., Shamloo E. and Javadi NHS. (2019). Evaluation of the Antifungal Activity of Cinnamon, Clove, Thymes, Zataria Multiflora, Cumin and Caraway Essential Oils against Ochratoxigenic *Aspergillus ochraceus*. *Journal of Pharmaceutical Research International*. Vol. 26 (1). p. 1-16.

Mwaniki JM., Mwazighe FM. and Kamau G N. (2015). Analysis of Blue Chamomile Essential Oil produced by multi-solvent Solvent Extraction Clevenger Distillation Method. *Africa Journal of Physical Sciences*. Vol. 2. p. 1-10.

Paggiola G., Van Stempvoort S., Bustamante J., Vega Barbero J. M., Hunt A J. and Clark J H. (2016). Can bio-based chemicals meet demand? Global and regional case study around citrus waste-derived limonene as a solvent for cleaning applications. *Biofuels, Bioproducts & Biorefining*. Vol.10. p. 686-698.

Quiroga PR., Claudia MA. and Nepote V. (2015). Antioxidant effects of the monoterpenes carvacrol, thymol and sabinene hydrate on chemical and sensory stability of roasted sunflower seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Vol. 95. p. 471-479.

Satari B. and Karimi K. (2018). Citrus processing wastes: Environmental impacts, recent advances, and future perspectives in total valorization. *Resources, Conservation and Recycling*. Vol. 129. p. 153-167.

Satari B., Palhed J., Karimi K., Lundin M., Taherzadeh M J. and Zamani A. (2017). Process optimization for Citrus Waste Biorefinery via Simultaneous Pectin Extraction and Pretreatment. *Citrus waste Biorefinery, Bioresources*. Vol.12. p. 1706-1722.

Viuda-Martos M., Ruiz-Navajas Y., Fernandez-Lopez J. and Perez-Alvarez J. (2008). Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon L.*), mandarin (*Citrus reticulata L.*), grapefruit (*Citrus paradisi L.*) and orange (*Citrus sinensis L.*) essential oils. Food Control. Vol. 19. p. 1130–1138.

Wei A. and Shibamoto T. (2007). Antioxidant Activities and Volatile Constituents of Various Essential Oils. Journal of agricultural and food chemistry. Vol. 55. p. 1737-1742.

Wolford RW., Kesterson JW. and Attaway JA. (1971). Physicochemical Properties of Citrus Essential Oils from Florida. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol. 19. p. 1097-1105.

Yang SA., Jeon SK., Lee EJ, Shim CH. and Lee IS. (2010). Comparative study of the chemical composition and antioxidant activity of six essential oils and their components. Natural Product Research. Vol. 24. p. 140–151.