

**CHEMICAL AND BIOLOGICAL EVALUATION  
OF DETERPENATED ORANGE AND MANDARIN  
OILS**

**By**

**RUSHDY MOHAMED AHMED MOHAMED**

**B.Sc. Agric. Sci. (Food Sci. & Tech.), Fac. Agric., Al-Azhar Univ., 2001**

**M.Sc. Agric. Sci. (Food Sci. & Tech.), Fac. Agric., Al-Azhar Univ., 2008**

**THESIS**

**Submitted in Partial Fulfillment of the  
Requirements for the Degree of**

**DOCTOR OF PHILOSOPHY**

**In**

**Agricultural Sciences  
(Food Science)**

**Department of Food Technology  
Faculty of Agriculture  
Cairo University  
EGYPT**

**2015**



**SUPERVISION SHEET**

**CHEMICAL AND BIOLOGICAL EVALUATION  
OF DETERPENATED ORANGE AND MANDARIN  
OILS**

**Ph.D. Thesis  
In  
Agric. Sci. (Food Science)**

**By**

**RUSHDY MOHAMED AHMED MOHAMED**  
**B.Sc. Agric. Sci. (Food Sci. & Tech.), Fac. Agric., Al-Azhar Univ., 2001**  
**M.Sc. Agric. Sci. (Food Sci. & Tech.), Fac. Agric., Al-Azhar Univ., 2008**

**SUPERVISION COMMITTEE**

**Dr. ADEL ZAKI MOHAMED BADEE**  
**Professor of Food Science, Fac. Agric., Cairo University**

**Dr. SHAHINAZ AHMED HELMY MOHAMED**  
**Professor of Food Science, Fac. Agric., Cairo University**



# التقييم الكيمياءى والحيوى لزيوت البرتقال واليوسفى المنخفضة التربيئات

رسالة مقدمة من

رشدى محمد احمد محمد

بكالوريوس فى العلوم الزراعية (علوم وتكنولوجيا الأغذية)- كلية الزراعة – جامعة الازهر، ٢٠٠١  
ماجستير فى العلوم الزراعية (علوم وتكنولوجيا الأغذية)- كلية الزراعة – جامعة الازهر، ٢٠٠٨

للحصول على درجة

دكتوراة الفلسفة

فى

العلوم الزراعية  
(صناعات غذائية)

قسم الصناعات الغذائية

كلية الزراعة

جامعة القاهرة

مصر

٢٠١٥



# التقييم الكيمياءى والحيوى لزيوت البرتقال واليوسفى المنخفضة التربيئات

رسالة دكتوراة الفلسفة  
فى العلوم الزراعية  
(صناعات غذائية)

مقدمة من

رشدى محمد احمد محمد

بكالوريوس فى العلوم الزراعية (علوم وتكنولوجيا الأغذية)- كلية الزراعة – جامعة الازهر، ٢٠٠١  
ماجستير فى العلوم الزراعية (علوم وتكنولوجيا الأغذية)- كلية الزراعة – جامعة الازهر، ٢٠٠٨

لجنة الاشراف

دكتور/ عادل زكى محمد بديع  
أستاذ الصناعات الغذائية- كلية الزراعة- جامعة القاهرة

دكتور/شاهيناز أحمد حلمى محمد  
أستاذ الصناعات الغذائية- كلية الزراعة- جامعة القاهرة



**Name of Candidate:** Rushdy Mohamed Ahmed      **Degree:** Ph.D  
**Title of Thesis:** Chemical and biological evaluation of deterpenated orange and mandarin oils  
**Supervisors:** Dr. Adel Zaki Mohamed Ahmed Badee  
Dr. Shahinaz Ahmed Helmy Mohamed  
**Department:** Food Science      **Approval:** / /2015

### Abstract

Orange (*Citrus sinensis*) and mandarin (*Citrus reticulata*) peels were used to extract their essential oils by cold pressing method. The chemical composition of both oils were identified and determined by GC/MS. Limonene (89.65%) in orange and (65.57%) in mandarin, is a main component of monoterpenes, followed by  $\gamma$ -terpinene (23.07%) in mandarin. Octanal (1.47%) in orange oil and linalool (1.5%) in mandarin oil are abundant oxygenated component determined. Deterpenation of both oils was applied using three different techniques to remove hydrocarbon monoterpenes and thus, increased oxygenated components, alcohols, aldehydes, esters and oxides relatively. Preparative silica gel adsorption chromatography at two ratios (1:7.5 and 1:15 oil to silica) was used for removing terpenes from orange and mandarin oils. The higher level of oxygenated components in deterpenated oil, the lower percentage of oil recovery. Concentration by controlled vacuum distillation techniques, 10 mm Hg and 62 °C, was applied to produce folded orange oils (5F.O.O and 10F.O.O) and folded mandarin oil (5F.M.O). The higher fold number the lower the monoterpenes content. Limonene recorded 67.88% in (10F.O.O) and 52.95% in (5F.M.O).  $\gamma$ -terpinene as monoterpene did not affect by distillation of mandarin oil. Alcohols increased and recorded 15.67% while, aldehydes represented 10.67% in ten fold orange oils. The main esters as methyl N-methyl anthranilate and geranyl acetate increased in (5F.M.O) than that found in original mandarin oil. The deterpenation of orange oil by diluted ethyl alcohol at 70% (1:5) and 80% (1:5) could be considered as the most effective concentration in comparison with the other concentrates for obtaining deterpenated oils containing the highest amount of aroma oxygenated compounds. Stored folded oils characterized by decrement in limonene, lost in aldehyde aroma components and increased in oxidation products such as *cis-p*-mentha 2,1 dienol and *trans* carveol. Losing limonene during storage in original oils led to increase in specific gravity, refractive index, evaporation residue and acid value. The improvement of antioxidant capacity of concentrates (5F.O.O, 10F.O.O and 5F.M.O) and deterpenated fractions (F3 and F5) than their original oils were related with increasing minor components by deterpenation such as carvacrol, geraniol,  $\alpha$ -terpineol and linalool or related with other terpene component  $\gamma$ -terpinene in (5F.M.O). Deterpenated and concentrated orange oils were more effective on *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* than original oils because the increment of oxygenated monoterpenes by deterpenation as well as synergistic interaction of other constituents. The efficiency of folded oils in hypocholesterolic rats did not affected by decreasing of limonene by deterpenation. The original and folded oils were used as a flavoring agent in the formulation of chewing gum.

**Key words:** *Citrus sinensis*, *Citrus reticulata*, deterpenation, concentration, distillation, folded oils, antimicrobial, antioxidant, cholesterol, chewing gum.



الدرجة: دكتوراة الفلسفة

اسم الطالب : رشدى محمد أحمد محمد

عنوان الرسالة: التقييم الكيميائى والحيوى لزيوت البرتقال واليوسفى المنخفضة التربينات

المشرفون: دكتور: عادل زكى محمد بديع

دكتور: شاهيناز أحمد حلمى محمد

تاريخ الدرجة: / / ٢٠١٥

قسم : الصناعات الغذائية

### المستخلص العربى

تم إستخدام طريقة الضغط على البارد فى الحصول على الزيت العطرى من قشور البرتقال واليوسفى كما تم التعرف على التركيب الكيميائى لكلا منهما من خلال التحليل الكروماتجرافى باستخدام مقياس طيف الكتلة. مثل مركب الليمونين (٨٩,٦٥%) من زيت البرتقال و زيت اليوسفى (٦٥,٥٧%) فى حين سجل مركب الجاما-تربينين (٢٣,٠٧%) فى زيت اليوسفى كمركبات تربينية أحادية. مثل مركب الأوكتانال الالدهيدى (١,٧٤%) من زيت البرتقال و مركب اللينالول الكحولى (١,٥%) من زيت اليوسفى كمركبات اكسوجينية. تمت عملية ازالة التربينات الاحادية بغرض زيادة المركبات الاكسوجينية (الالدهيدات والكحولات والاسترات والاكاسيد) بأستخدام ثلاث طرق. طريقة الفصل الكروماتوجرافى بأستخدام عمود السليكا بنسبتين مختلفتين (١ جم زيت : ٧,٥ جم سليكاجل و ١ جم زيت : ١٥ جم سليكا جل) ووجد ان ارتفاع نسبة السليكا المستخدمة سبب زيادة فى المركبات الاكسوجينية المنفصلة و انخفاض فى كمية الزيت المتحصل عليها. أنتجت طريقة التقطير التجزئى عند درجة حرارة ٦٠° م و ١٠ ملم زئبق زيوت برتقال ويوسفى مركزة (٥ ضعف و ١٠ ضعف) برتقال و (٥ ضعف) يوسفى. ارتفاع رقم الضعف يدل على محتوى تربينات أحادية أقل. مثل مركب الليمونين حيث كانت نسبة ٦٧,٨٨% فى مركز زيت البرتقال (١٠ ضعف) و ٥٢,٩٥% فى مركز زيت البرتقال (٥ ضعف). كما لم تتأثر نسبة مركب الجاما- تربينين فى مركز زيت اليوسفى. سجلت نسبة الكحولات ١٥,٦٧% بينما كانت نسبة الالدهيدات ١٠,٦٧% فى مركز زيت البرتقال (١٠ ضعف). كما حدث زيادة فى مركب الاستر (الميثيلين أنثرانيليت) المميز لزيت اليوسفى واستر الجبرنيل أسيتيت فى مركز زيت اليوسفى (٥ ضعف). كانت طريقة نزع التربينات بأستخدام الكحول الايثيلى المخفف (٧٠%) و (٨٠%) بنسبة خلط ١ زيت : ٥ كحول مخفف أفضل الطرق من حيث نسبة المركبات الاكسوجينية مقارنة بالطريقتين السابقتين. أمكن ملاحظة فقد مركب الليمونين و كذلك فقد المركبات الالدهيدية وزيادة نسبة الاكاسيد مثل مركب *cis-p-mentha 2,1 dienol* و مركب الترانس كارفيول بالتخزين فى الزيوت المركزة المخزنة. ونتيجة لفقد الليمونين للزيوت المركزة بالتخزين لوحظ زيادة فى الوزن النوعى و معامل الانكسار و رقم الحموضة. لوحظ ان تحسن النشاط المضاد للاكسدة للزيوت المركزة (٥ ضعف برتقال و ١٠ ضعف برتقال و ٥ ضعف يوسفى) وكذلك الزيتين F3 و F5 مقارنة بزيتى البرتقال واليوسفى الطبيعى مرتبط بزيادة مركبات الكارفيول والجيرانبول و التربينيول و اللينالول وكذلك مرتبط بمركب الجاما تربينين فى اليوسفى المركز (٥ ضعف). الزيوت المركزة ومنخفضة التربينات كانت اكثر تأثيرا على بكتريا *Bacillus subtilis* و بكتريا *Staphylococcus aureus* بسبب زيادة محتواها من المركبات الاكسوجينية اضافة الى التأثير التثبيطى التعاونى بين هذه المركبات وبعضها. تأثير زيوت البرتقال واليوسفى المركزة كمواد مخفضة لمستوى الكوليستيرول فى سيرم دم فئران التجارب لم يرتبط تأثيرها بمحتواها من الليمونين. تم استخدام الزيوت المركزة لمواد منكهة للبان المضغ ( العلكة).

**الكلمات الداله:** زيت البرتقال – زيت اليوسفى – خفض التربينات – التركيز- التقطير التجزئى – الزيوت المركزة- مضاد الاكسدة- مضاد الفطريات- الكوليستيرول- لبان المضغ.



# CONTENTS

	Page
<b>INTRODUCTION</b> .....	1
<b>REVIEW OF LITERATURE</b> .....	7
<b>1- Orange and mandarin fruits and their cultivation in Egypt</b> .....	7
<b>2- D-limonene and citrus peel waste</b> .....	8
<b>3- Orange and mandarin peels compositions</b> .....	8
<b>4- Citrus peel oil products</b> .....	9
a- Peel Oil .....	10
b- Essence oil and aqueous essence .....	10
<b>5- Extraction of citrus oil peels</b> .....	11
a- Cold pressing .....	11
b- Distillation .....	11
c- Microwave extraction .....	12
<b>6-Yield and physico-chemical properties of orange and mandarin peel oils</b> .....	14
<b>7-Chemical constituents of orange peel oil (<i>Citrus sinensis</i>)</b> .....	15
<b>8- Chemical constituents of mandarin oils (<i>citrus reticulata</i>)</b> .....	16
<b>9- Aroma active components in orange oil</b> .....	17
<b>10- Aroma active components in mandarin oil</b> .....	18
<b>11- Concentrated citrus oils</b> .....	19
<b>12- Concept of concentration process of citrus oils</b> .....	20
<b>13- Chromatographic deterpenation technique</b> .....	23
<b>14- Vacuum distillation process</b> .....	24
<b>15- Washing method</b> .....	26
<b>16- Physical properties of folded oil</b> .....	27
<b>17- Chemical characteristics of deterpenated oils</b> .....	28
<b>18- Changes of citrus flavor components during storage</b> .....	30
<b>19- Antioxidant activity of citrus peel oil components</b> .....	33
<b>20- Antimicrobial activity of citrus peel oil components</b> .....	36
<b>21- Biological activity of citrus oil</b> .....	38
<b>22-Chewing gum</b> .....	41
<b>23- Chewing gum ingredients and manufacture</b> .....	42
<b>MATERIALS AND METHODS</b> .....	45
<b>RESULTS AND DISCUSSION</b> .....	72
<b>1. Chemical composition of orange and mandarin peels</b> .....	72



## **CONTENTS (continued)**

<b>2. Yield of essential oils and physico-chemical properties.....</b>	<b>74</b>
<b>3. Chemical composition of the essential oils of orange and mandarin peels.....</b>	<b>78</b>
<b>4. Preparation of deterpenated orange and mandarin oils by three different methods .....</b>	<b>86</b>
<b>a. Effect of deterpenation by Column Chromatography on the yield and chemical composition of orange oil .....</b>	<b>87</b>
<b>(1). Effect of adsorption ratio on the recovery of deterpenated orange oil .....</b>	<b>88</b>
<b>(2). Effect of liquid column chromatography method on the chemical constituents of deterpenated orange oil.....</b>	<b>89</b>
<b>b. Effect of deterpenation by Liquid Column Chromatography on the yield and chemical composition of mandarin oil.....</b>	<b>95</b>
<b>(1). Effect of adsorption ratio on the recovery of deterpenated mandarin oil .....</b>	<b>96</b>
<b>(2). Effect of liquid column chromatography method on the chemical constituents of deterpenated mandarin oils.....</b>	<b>97</b>
<b>c. Effect of vacuum distillation process on yield and chemical composition of orange oils.....</b>	<b>103</b>
<b>(1). Effect of vacuum distillation process on the yield of orange oil concentrates .....</b>	<b>104</b>
<b>(2). Effect of deterpenation by vacuum distillation process on chemical constituents of orange oil concentrates.....</b>	<b>105</b>
<b>d. Effect of deterpenation by vacuum distillation process on yield and chemical composition of folded mandarin oils .....</b>	<b>111</b>
<b>(1). Effect of deterpenation by vacuum distillation process on yield and degree of mandarin oil concentrate.....</b>	<b>111</b>
<b>(2). Effect of deterpenation by vacuum distillation process on chemical constituents of mandarin oil concentrates .....</b>	<b>112</b>
<b>e. Effect of alcoholic deterpenation method on the yield and chemical composition of orange oil.....</b>	<b>117</b>
<b>(1). Effect of alcohol concentration and ratios on the recovery of deterpenated oils.....</b>	<b>118</b>