

## Microwave assisted extraction of essential oil and pectin from orange peel in different stages of maturity

Extracción asistida por microondas de aceite esencial y pectinas de cáscaras de naranja a diferentes estados de madurez

R. Durán Barón<sup>1</sup> y A.L. Villa<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad Popular del Cesar. Agroindustrial Optimization Research Group. Bloque F. Lab. 201. Sede Sabanas.

<sup>2</sup>Grupo Catálisis Ambiental, Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad de Antioquia UdeA; Calle 70 No. 52-21, Medellín, Colombia

### Abstract

The effect of solvent (water), power, time of microwave exposure and maturity stage of the orange fruit on the essential oil extraction yield and its chemical characteristics and on the pectin extraction yield from Valencia orange peels was studied. The extraction of essential oil by microwave and subsequent extraction of pectin with conventional heating was carried out from the epicarp of oranges sampled from 16 trees in lots of one hectare. The essential oil extraction yield was slightly higher using additional water under the best extraction conditions (600 W, 10 min), and the limonene content, determined by GC- MS, was between 90.5 and 97.9%. Scanning Electron Microscopy analyses after of essential oil extraction showed that the intracellular spaces of the plant tissue increased with time under microwave irradiation. Without solvent, the orange peel was carbonized when the microwave power was higher than 600 W. After essential oil extraction, the highest pectin extraction yield was obtained with the orange peel treated with water. The content of essential oil decreased with the maturity (0.14 a 0.08%). The content of limonene did not depend on the maturity stage. The  $\beta$ -mirceno, sabinene, felandrene y carene decreased with maturity, opposite happened with the  $\alpha$ -pinene. The highest pectin extraction yield (7.5%) was obtained with orange peels in maturity stage two.

**Key words:** orange, microwave, pectin, essential oil.

## Resumen

Se estudió el efecto del solvente (agua), potencia, tiempo de exposición a la radiación del microondas y el estado de madurez de la fruta, en el rendimiento de extracción y características químicas del aceite esencial y en el rendimiento de la extracción de pectina de cáscaras de naranja Valencia. La extracción de aceite esencial por microondas y posterior extracción de pectina con calentamiento convencional, se realizó del epicarpio de naranjas procedentes de 16 árboles de una plantación de una hectárea. El rendimiento de extracción de aceite esencial fue ligeramente superior utilizando agua adicional, bajo las mejores condiciones de extracción (600 W, 10 min), y el contenido de limoneno determinado por CG-MS estuvo entre 90,5 y 97,9%. Los análisis de Microscopía Electrónica de Barrido, después de la extracción de aceite esencial, mostraron que los espacios intracelulares del tejido aumentaron con el tiempo de exposición a la radiación del microondas. Sin solvente, la cáscara de naranja se carbonizó cuando la potencia del microondas fue superior a los 600 W. Después de la extracción de aceite esencial, el mayor rendimiento de extracción de pectina se obtuvo de cáscaras de naranja tratadas con agua. El contenido de aceite esencial decreció con el estado de madurez de la naranja (0,14 a 0,08%). El contenido de limoneno no tuvo diferencias significativas entre los estados de madurez de la fruta. El  $\beta$ -mirreno, sabineno, felandreno y careno disminuyó con el grado de madurez, lo contrario sucedió con el  $\alpha$ -pineno. El mayor rendimiento de extracción de pectina (7,5%) se obtuvo con cáscaras de naranja en estado de madurez dos.

**Palabras clave:** naranja, microonda, pectina, aceite esencial.

## Introduction

The essential oil is found in the orange peels and its main components are terpenic compounds (mostly monoterpenes and aldehydes). The most abundant component is limonene, which content varies between 76 and 94.5%, followed by linalool (2-3%) and myrcene (1-2%), compounds that are used in the fragrance and flavor industries. Other components of the essential oil are carvone, a product of limonene oxidation under acid conditions,  $\alpha$ -terpineol and valencene that is present in the cuticular wax. Some of the aldehydes are octanal, decanal and nonanal, whose

## Introducción

El aceite esencial se encuentra en las cáscaras de naranja y sus componentes principales son terpénicos (mayormente monoterpenos y aldehídos). El componente más abundante es el limoneno, cuyo contenido varía entre 76 y 94,5%, seguido de linalool (2-3%) y mirreno (1-2%), compuestos que se utilizan en las industrias de aroma y sabor. Otros componentes de los aceites esenciales son carvona, un producto de la oxidación del limoneno en condiciones ácidas,  $\alpha$ -terpineol y valenceno que está presente en la cera cuticular. Algunos de los aldehídos son octanal, decanal y nonanal, cuya concentración

concentration generally increases with the fruit maturity. Several studies have reported that the essential oil content decreases with the fruit maturity and it is associated with reabsorption of the oil in the tissue surrounding the secretory glands (Telci *et al.*, 2009, Msaada *et al.*, 2009)

In general, hydro-distillation and steam distillation are used for essential oil extraction; however, these processes require several hours, high energy consumption, conventional heating and stirring in hot water. An alternative way of heating is using the energy of microwave because it significantly increases the speed of the processes (Rueda *et al.*, 2007), and the energy transfer, it reduces thermal gradients and number of steps of the processes. A recent modification (Ferhat *et al.*, 2006, 2008) of the essential oil extraction process is the microwave extraction without solvent addition and using just the water removed *in situ* from the tissue, higher yields and better oil quality is obtained from orange at lower time extraction, compared with the oil extracted by hydrodistillation. Extraction yields of 23.0% and 0.2% in dried base for pectin and essential oil (720 W, 10 min, 150 mL of water), respectively, and a content of D-limoneno in the essential oil of 78.1% was reported (Rojas *et al.*, 2009).

Pectic substances are polysaccharides of the cell wall of the plants that consist mainly of  $\alpha$ -lacturonic acid (AGA) and residues of methyl esters. The pectin has been used in the industry as a gelling agent, thickener, texturizer, emulsifier and stabilizer. The pectin acts in the plant as a moisturizing agent and

umenta generalmente con la madurez de la fruta. Varios estudios han informado que el contenido en aceite esencial disminuye con la madurez de la fruta y esto se ha asociado con la reabsorción del aceite en el tejido que rodea las glándulas secretoras (Telci *et al.*, 2009, Msaada *et al.*, 2009).

En general, la hidro-distilación y destilación de vapor se utilizan para extraer el aceite esencial; sin embargo, estos procesos requieren varias horas, alto consumo de energía, calentamiento convencional y agitación en agua caliente. Una forma alternativa de calefacción está usando la energía de microondas debido a que aumenta significativamente la velocidad de los procesos (Rueda *et al.*, 2007) y la transferencia de energía, reduce los gradientes térmicos y el número de pasos de los procesos.

Una modificación reciente (Ferhat *et al.*, 2006, 2008) del proceso de extracción de aceite esencial es la extracción de microondas sin adición de solvente y utilizando sólo el agua que se elimina *in situ* de los tejidos, de tal forma que se obtienen mayores rendimientos y mejor calidad del aceite de la naranja en un menor tiempo, en comparación con el aceite extraído por hidro-distilación. Se reportaron los rendimientos de extracción 23,0% y 0,2% en base seca (Rojas *et al.*, 2009) para la producción de pectina y aceite esencial (720 W, 10 min, 150 mL de agua), respectivamente, y un contenido de D-limoneno en el aceite esencial de 78,1%

Las sustancias pécticas son polisacáridos de la pared celular de las plantas, constituidas principalmente por á -ácido galacturónico (AGA) y los

cementitious material to the cellulose network. It has been shown that the polygalacturonase induced solubilization of pectin polysaccharides occurs when the fruit is mature or softening that is always associated with a decrease in the amount of the insoluble form of pectic substances (Majumder *et al.*, 2002). For ambarella (*Spondias cytherea* Sonn) it was found that the amount of pectin increased 36% from green to fully ripe (Ishak *et al.*, 2005) and it decreased 35% in strawberry from green to mature (Alarcao-E-Silva *et al.*, 2001).

In general, the process for pectin production includes the pectin extraction from the raw material, a purification of the extract and an isolation of the pectin from this extract (Liu *et al.*, 2006). The yield achieved in the extraction stage depends on factors such as temperature and time extraction, solid: solvent ratio, pH of the solution, solution type, size of the sample, ways of stirring and heating (Kim *et al.*, 2004). The conventional method that uses direct heating may require approximately two hours for a good extraction, causing thermal degradation of the pectin. The pretreatment of fresh orange peel by microwave may increase the characteristic capillary pore and the capacity of absorption of the water of the material while high temperatures inhibit the activity of the pectinesterase which can degrade the pectin before its extraction. The extraction may be carried out at around 15 minutes and it is generally more effective in terms of pectin yield and product quality (Kratchanova *et al.*, 2004).

The aim of this paper is to determine the best conditions of microwave

residuos de los ésteres metílicos. La pectina ha sido usada en la industria como agente gelificante, espesante, texturizante, emulsionante y estabilizante. La pectina actúa en la planta como agente hidratante y materiales cementantes en la celulosa.

Se ha demostrado que la solubilización de poligalacturonasa inducida por polisacáridos pectina se produce cuando la fruta está madura o blanda, esto siempre se asocia con una disminución en la cantidad de la forma insoluble de sustancias pécticas (Majumder *et al.*, 2002). Para ambarella (*Spondias cytherea* Sonn) se encontró que la cantidad de pectina aumentó un 36% de verde a completamente maduras (Ishak *et al.*, 2005) y disminuyó 35% en fresa de verde a maduras (Alarcao-E-Silva *et al.*, 2001).

En general, el proceso para la producción de pectina incluye la extracción de pectina de la materia prima, una purificación del extracto y un aislamiento de la pectina de este extracto (Liu *et al.*, 2006). El rendimiento alcanzado en la etapa de extracción depende de factores como la temperatura y tiempo de extracción, relación sólido: solvente, pH de la solución, tipo de solución, tamaño de la muestra, formas de agitación y calentamiento (Kim *et al.*, 2004). El método convencional que utiliza la calefacción directa puede requerir aproximadamente dos horas para una buena extracción, causando así degradación térmica de la pectina. El tratamiento previo de la cáscara de naranja fresca por microondas puede aumentar el poro capilar característico y la capacidad de absorción del agua del material, mientras que las altas temperaturas

- assisted extraction of essential oil and pectin from Valencia orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) peels at different maturity stages with and without solvent and chemically characterize the essential oil by GC – MS; furthermore, the effect of the extraction on the tissue was determined by Scanning Electron Microscopy

## Materials and methods

### Material selection

Valencia orange crop at the farm “Nueva Esperanza” from the Chimichagua town (Cesar state, Colombia) were used in this study. The orange fruits were taken at random from 16 trees from a lot of one hectare, excluding the first line of the crop (2009-2010 harvest); the samples were stored at -20°C and the maturity was determined according to the NTC 4986. The samples used for pectin and essential oil extraction were selected according to their maturity state.

### Essential oil extraction

The fresh samples (30 g) were cut in sizes of approximately 0.5 x 2 cm with a kitchen knife and placed in a ball of 2.5 L that was placed in a CEM Mars 5 Microwave from CEM Corporation, with fiber optic temperature sensor (2450 MHz of magnetron frequency and a maximum power of 1600 W) at atmospheric pressure. The ball was attached to a Clevenger device cooled with ethanol at -5°C and its content was magnetically stirred. The extractions were carried out by triplicate varying microwave power between 200 and 700 W with variations of 100 W, at times

inhiben la actividad de la pectinesterasa que puede degradar la pectina antes de su extracción. La extracción puede llevarse a cabo en aproximadamente 15 minutos y es generalmente más eficaz en términos de calidad de producto y producción de pectina (Kratchanova *et al.*, 2004).

El objetivo de este trabajo es determinar las mejores condiciones de extracción asistida por microondas del aceite esencial y pectina de las cáscaras de naranja Valencia (*Citrus sinensis* L. Osbeck) en diferentes estados de madurez con y sin solventes, y caracterizar químicamente el aceite esencial de GC - MS; por otra parte, el efecto de la extracción en el tejido se determinó mediante microscopía electrónica de barrido.

## Materiales y métodos

### Selección del material

Se utilizaron cultivos de naranja Valencia de la finca “Nueva Esperanza” de la ciudad de Chimichagua (departamento del Cesar, Colombia). Las naranjas fueron tomadas al azar, de 16 árboles de una parcela de una hectárea, exceptuando la primera línea de la cosecha (cosecha 2009-2010); las muestras se almacenaron a -20°C y la madurez se determinó según la NTC 4986. Las muestras utilizadas para la extracción del aceite esencial y pectina fueron seleccionadas según su estado de madurez.

### Extracción del aceite esencial

Las muestras frescas (30 g) se cortaron en tamaños de aproximadamente 0,5 x 2 cm con un cuchillo de cocina, y se colocaron en una recipiente

between 5 and 30 min, with 150 mL of water (with solvent, WS) or in the absence of solvent (no solvent, NS). The essential oil was collected and dried ( $W_{deo}$ ) with anhydrous sodium sulfate, weighted and analyzed. The essential oil yield extraction ( $Y_{eo}$ ) was calculated with Eq (1).

$$Y_{eo} (\%) = \left( \frac{W_{deo}}{W_{dp}} \right) * 100 \quad (1)$$

$W_{dp}$ : weight of the dried peels

### Chemical composition of the essential oil

The analysis of the essential oil extracted was performed on an Agilent 7890 gas chromatograph coupled to an Agilent 5975 mass spectrometer, an injection port split/splitless (split 1:30) and a HP ChemStation data system. For the separation of mixtures a capillary column DB-5MS stationary phase 5% phenyl-polymethylsiloxane (30 m x 0.25 mm x 0.25  $\mu$ m) was used. The oven temperature was increased from 45°C to 150°C at 4°C/min, then to 200°C at 5°C/min, finally at 10°C/min to 230°C. The temperatures of the ionization chamber and transfer line were 230 and 285°C, respectively. The carrier gas was helium (99.995%) at a flow rate of 1.0 mL min<sup>-1</sup>. The chromatographic analyses were carried out by triplicate. The identification of the compounds was carried out by comparison of the mass spectra of the sample with the data base of the NIST05 Mass Spectral Library, for a probability higher than 90 %. The essential oil quantification was carried out by area normalization

te de 2,5 L, colocada en un microondas CEM Mar 5 de CEM Corporation, con sensor de temperatura de fibra óptica (2450 MHz frecuencia del magnetron y una potencia máxima de 1600 W) a la presión atmosférica

El recipiente estaba conectado a un dispositivo Clevenger enfriado con etanol a -5°C y su contenido fue agitado magnéticamente. Las extracciones se llevaron a cabo por triplicado y la potencia de microondas varía entre 200 y 700 W con variaciones de 100 W, con tiempos entre 5 y 30 minutos, con 150 mL de agua (con disolvente, WS) o en ausencia de disolvente (sin disolvente, NS). El aceite esencial se recolectó y secó ( $W_{deo}$ ) con sulfato de sodio anhidro, pesados y analizados. La extracción de rendimiento de aceite esencial ( $Y_{eo}$ ) se calculó con Eq (1).

$$Y_{eo} (\%) = \left( \frac{W_{deo}}{W_{dp}} \right) * 100 \quad (1)$$

$W_{dp}$ : Peso de las cáscaras secas

### Composición química del aceite esencial

El análisis de los aceites esenciales extraídos se realizó usando un cromatógrafo de gases Agilent 7890, acoplado a un espectrómetro de masas Agilent 5975, un puerto de inyección split/splitless (split 1:30) y un sistema de datos HP ChemStation. Para la separación de mezclas se utilizó una columna capilar DB-5MS en fase estacionaria 5% fenil- polidimetilsiloxano (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m). La temperatura del horno se incrementó de 45°C a 150°C a 4°C/min, luego de 200°C a 5°C/min, finalmente a 10°C/min a 230°C.

method, determining the concentration of the compounds as the ratio of the area of the compound respect to the sum of the areas of the all compounds detected by GC-MS.

#### **Analysis of orange peel pores by Scanning Electron Microscopy**

For determining the effect of extraction time (0, 10 and 20 min) at 600 W on the pore orange peel, samples of about 1 x 1 cm were analyzed by Scanning Electron Microscopy Brand JEOL, model JSM 6490LV, with an electron source and tungsten filament working range between 0.3 and 30 kV. The samples were lyophilized and subsequently coated with gold in a thickness of 120-150 amstrong for 75 s, using the sputtering technique as a coating on a mark Denton equipment.

#### **Pectin extraction**

Samples of orange peel after essential oil extraction were used, 10 g of sample were treated with 100 mL of water (1:10) and heated at 80°C for 10 min for inactivation of enzymes; then, the pH of the liquid phase was adjusted at 2 with HCl 0.5 mol.L<sup>-1</sup>, the suspension was heated at 80°C and magnetically stirred at 200 rpm for 1 h. Then, the suspension was filtered and washed twice with acidified water. The pectin was precipitated with a 96% aqueous ethanol solution in a 1:1 ratio and it was stored for 2 h, then it was filtered and washed with ethanol 70% and 96%, dried at 40°C under vacuum and weighted ( $W_{ep}$ , extracted pectin). The pectin extraction from peels at different maturity stages were carried out by triplicate to determine the reproducibility of the procedure extraction. The pectin yield extraction ( $Y_p$ ) was calculated with Eq (2).

Las temperaturas de la cámara de ionización y la línea de transferencia fueron 230 y 285°C, respectivamente. El gas portador fue helio (99.995%) con un caudal de 1,0 mL.min<sup>-1</sup>. Los análisis cromatográficos se realizaron por triplicado. La identificación de los compuestos se llevó a cabo comparando los espectros de masa de la muestra con la base de datos de la biblioteca espectral de la masa NIST05, para una probabilidad superior al 90%. La cuantificación del aceite esencial se realizó por el método de normalización de área, determinando de esta forma la concentración de los compuestos, y la relación entre el área del compuesto respecto a la suma de las áreas de los todos los compuestos detectados por GC-MS.

#### **Análisis de los poros de la piel de naranja por microscopía electrónica de barrido**

Con el fin de determinar el efecto del tiempo de extracción (0, 10 y 20 min) a 600 W en la cáscara de naranja, se analizaron muestras de 1 x 1 cm por análisis de microscopía electrónica de barrido, marca JEOL, modelo JSM 6490LV, con una fuente de electrón y rango de trabajo de tungsteno entre 0,3 y 30 kV. Las muestras fueron liofilizadas y posteriormente recubiertas con oro en un espesor de 120-150 amstrong durante 75 s, utilizando la técnica de recubrimiento de una capa, usando un equipo marca Denton.

#### **Extracción de la pectina**

Se utilizaron muestras de cáscara de naranja después de la extracción de aceite esencial, 10 g de muestra fueron tratados con 100 mL de agua (1:10) y se calentó a 80°C durante 10 minu-

$$Y_p (\%) = \left( \frac{W_{so}}{W_{ep}} \right) * 100 \quad (2)$$

### Statistical analysis

Statistical analysis was performed using analysis of variance (ANOVA) and mean comparisons by the Tukey test ( $P < 0.05$ ) using the Minitab statistical software version 16.

## Results and discussion

### Essential oil and pectin extraction at different microwave power and times

The most adequate microwave power for essential oil extraction from orange peel at maturity two was 600 W. Table 1 shows that using a power of 200 W no essential oil was extracted and at microwave power higher than 600 W, the oil turned dark yellow or even black with the presence of suspended solid material at power higher of 700 W. The highest limonene

tos para la inactivación de enzimas; Entonces, se ajustó el pH de la fase líquida a 2 con ácido clorhídrico  $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ , la suspensión se calienta a  $80^\circ\text{C}$  y agitó magnéticamente a 200 rpm durante 1 h. Seguidamente, la suspensión fue filtrada y se lavó dos veces con agua acidulada. La pectina se precipitó con una solución acuosa de etanol 96% en una proporción 1:1 y almacenada durante 2 h, luego se filtró y lavó con etanol 70% y 96%, se secó a  $40^\circ\text{C}$  al vacío y se pesó ( $W_{ep}$ , pectina extraída).

La extracción de pectina de cáscaras en diferentes fases de madurez se realizó por triplicado, con el fin de determinar la reproducción del proceso de extracción. El rendimiento de la extracción de la pectina ( $Y_p$ ) se calculó con Eq (2).

$$Y_p (\%) = \left( \frac{W_{so}}{W_{ep}} \right) * 100 \quad (2)$$

**Table 1. Effect of the microwave power on color of essential oil, limonene content and extraction yield of essential oil (30 min).**

**Cuadro 1. Efecto de la potencia de microondas en el color del aceite esencial, contenido de limoneno y rendimiento de extracción del aceite esencial (30 min).**

Microwave power, W	Extraction yield, d.b., %	Limonene content, %	Essential oil color
200	0	0	-
400	$0.07 \pm 0.007$	$35.0 \pm 19.0$	Clear
500	$0.11 \pm 0.008$	$64.5 \pm 18.0$	Clear
600	$0.58 \pm 0.05$	$97.0 \pm 1.48$	Yellow Light
700	$0.68 \pm 0.06$	$53.0 \pm 0.74$	Black

d.b.: dried base



content (> 95%) was obtained at 600 W and 30 min; at these same conditions, the oil content of samples analyzed was higher (0.58%) that the values reported (0.42%) by Ferhat (2006).

Extraction yield was similar for WS and NS up to 20 minutes of extraction, and they significantly differed at 30 min (table 2). After 10 minutes of extraction without solvent, the peels began to carbonize and at 30 min they were completely charred and black; similar results were reported by Kratchanova *et al.*, 2004, who found that after 15 min and at a microwave power higher than 630 W, the sample turned into a dark color. This situation was not observed when solvent was used during the essential oil extraction, but the limonene content was between 29.5 and 30.2%. At 10 min, for the NS process the limonene content was between 90.5 and 97.9%, similar results

### Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó mediante el análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de comparaciones de medias de Tukey ( $P < 0,05$ ) utilizando el paquete estadístico Minitab, versión 16.

## Resultados y discusión

### Extracción del aceite esencial y la pectina a diferentes potencias del microondas y distintos tiempos

La potencia de microondas más adecuada para la extracción del aceite esencial de las cáscaras de naranja en grado de madurez 2 fue de 600 W. El cuadro 1 muestra que el aceite esencial no fue extraído con una potencia de 200 W, y con potencia del microondas de 600 W; el aceite se volvió amarillo oscuro o negro, incluso con la presencia del material sólido sus-

**Table 2. Effect of time exposure to microwave at 600 W on the essential oil content (% in dry basis) and pectin extraction yield from orange peels of maturity 2 with (WS) and without solvent (NS).**

**Cuadro 2. Efecto del tiempo de exposición a microondas de 600 W sobre el contenido del aceite esencial (% en base seca) y el rendimiento de extracción de pectina de cáscaras de naranja en grado de madurez 2 con (WS) y sin solvente (NS).**

Time, min	Essential oil content, %		Pectin extraction yield, %	
	NS	WS	NS	WS
5	0.07±0.01	0.09±0.02	1.2±0.18	5.7±0.2
10	0.11±0.02	0.10±0.02	7.4±0.4	9.5±0.3
15	0.14±0.01	0.14±0.03	3.8±0.4	8.2±0.8
20	0.16±0.01	0.19±0.02	3.0±0.2	7.7±0.3
30	0.58±0.01	0.21±0.01	N.C.	N.C.

N.C.: No calculated

were reported by Ferhat *et al.*, 2008. From the above, it is established that the best conditions for the extraction of essential oil was without solvent extraction, 10 min and 600 W.

The yield of pectin extraction from the orange peel after essential oil extraction at 600 W, table 2, is highest at 10 min for WS and NS. However, the pectin yield extraction was higher than 28.3% by WS procedure, probably due to the small amount of water from hydrolysis of NS procedure, which is lower than the value reported (14%) by Kratchanova *et al.* (2004). 5 min was not enough for inactivation of pectinolytic enzymes such as Pectinmetilesterase that is particularly active (Kratchanova *et al.*, 2004); at higher times the pectin was degraded or the sample was calcined.

#### **Analysis of orange peel pores by Scanning Electron Microscopy**

Scanning Electron Microscopy analyses, figure 1 (a), show that the pores of orange fresh peels (control sample) contained some matters inside. At 10 min the size of the pore was higher and the matter seemed to be disintegrate and the structure collapsed, figure 1 (b); at 20 min there was not matter inside of the pore and it was wider, figure 1 (c). The damage to the plant tissue increased with the rise in the time of the microwave power, which was evidenced in the increasing of the intracellular spaces, that was also reported by Kratchanova (2004).

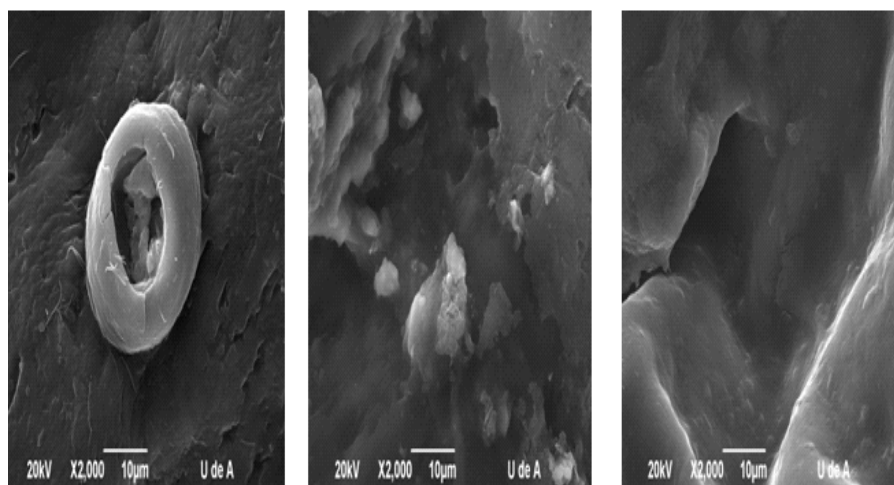
#### **Effect of the orange maturity stage on essential oil and pectin extraction yield and chemical composition of the oil**

Table 3 shows that at the best extraction conditions (600 W and 10

pendido a una potencia mayor de 700 W. El contenido de limoneno más alto (> 95%) se obtuvo en 600 W y en 30 min; en estas mismas condiciones, el contenido de aceite de las muestras analizadas fue mayor (0,58%) que los valores reportaron (0,42%) por Ferhat (2006).

El rendimiento de la extracción fue similar para WS y NS hasta 20 minutos de la extracción, luego difirieron significativamente a los 30 min (cuadro 2). Después de 10 minutos de extracción sin solvente, las cáscaras se comenzaron a carbonizar, ya a los 30 min estaban completamente carbonizadas y negras. Kratchanova *et al.*, 2004, reportaron resultados similares, quienes encontraron después de 15 minutos y con una potencia de microondas mayor a 630 W, que la muestra se oscureció. Esta situación no fue observada cuando se usó el solvente durante la extracción del aceite esencial, pero el contenido de limoneno varió entre 29,5 y 30,2%. A los 10 min, el contenido limoneno en el proceso de NS fue entre 90,5 y 97,9%; Ferhat *et al.* (2008), reportaron resultados similares. De lo anterior, se ha establecido que las mejores condiciones para la extracción del aceite esencial era extracción sin disolvente, a los 10 min y a 600 W.

El rendimiento de la extracción de pectina de la cáscara de naranja después de la extracción del aceite esencial a 600 W, cuadro 2, es mayor en un período de 10 min de WS y NS. Sin embargo, el rendimiento de la extracción de pectina fue superior a 28,3% con el procedimiento de WS, probablemente debido a la pequeña cantidad de agua de la hidrólisis del procedimien-



**Figure 1. Scanning Electron Microscopy of orange fresh peels (a), orange peel after essential oil extraction at 600 W for 10 min (b), and at 600 W for 20 min (c).**

**Figura 1. Microscopía electrónica de barrido de cáscaras frescas de naranja (a), cáscaras de naranja después de la extracción del aceite esencial a 600 W por 10 min (b) y a 600 W por 20 min (c).**

**Table 3. Effect of the orange maturity stage on essential oil and pectin extraction yield and monoterpene content (%).**

**Cuadro 3. Efecto de la etapa de madurez de la naranja en el aceite esencial y rendimiento de la extracción de pectina y contenido (%) de monoterpeneo.**

Compound	Maturity stage		
	One	Two	Three
Essential oil	0.14±0.03	0.11±0.03	0.08±0.01
Pectin	7.2±0.4	7.5±0.3	5.2±0.2
Limonene	95.9±1.6	97.3±0.3	97.5±0.1
β-Myrcene	1.8±0.1	1.04±0.1	0.9±0.2
Sabinene	0.21±0.04	0.16±0.02	0.17±0.1
α-pinene	0.27±0.08	0.33±0.01	0.32±0.01
α-Felandrene	0.05±0.01	0.04±0.01	0.04±0.01
Carene	0.14±0.04	0.09±0.01	0.11±0.01

min), the oil content decreased with the maturity stage of the fruit, the best results were obtained at a mature stage of one. In the case of pectin (table 3), the best result was obtained with a mature stage of two, indicating that this is a good maturity stage for the extraction of pectin, this result is in agreement with reports from Kratchanova *et al.*, 2004.

The limonene content was similar for different maturity degrees with deviation lower than 4%; the  $\beta$ -myrcene content decreased when the maturity increased and its content is within the values reported in the literature for citrus essential oils (1.29 -6.9%) (Kirbaslar *et al.*, 2006); the content of sabinene, carene and a phellandrene did not vary with maturity stage of the fruit and  $\alpha$ -pinene content increased from maturity one to two and then it was constant (table 3). The monoterpene content in essential oil extracted from orange peel was close to the values reported in the literature (Rojas *et al.*, 2009).

## Conclusions

The content of essential oil decreased with the maturity stage of the orange. The essential oil extraction yield with solvent (WS) was slightly higher than without solvent (NS), and the limonene content was similar for all the maturity stages. The best conditions for essential oil extraction were 600 W and 10 min with and without water addition. At microwave power higher than 600 W and times higher than 20 min, the orange peels were carbonized and the essential oil

to de NS, el cual es menor que el valor reportado (14%) por Kratchanova *et al.*, (2004). 5 minutos no fueron suficientes para la inactivación de enzimas pectinolítica como Pectinmetil-esterasa, el cual es particularmente activo (Kratchanova *et al.*, 2004); en tiempos más altos la pectina se degradó o la muestra se calcinó.

### **Análisis de los poros de la cáscara de naranja por microscopía electrónica de barrido**

El análisis de microscopía electrónica de barrido, figura 1 (a), muestra que los poros de las cáscaras de naranja frescos (muestra control) contenían materias en su interior. A los 10 min, el tamaño del poro fue mayor y la materia parecía desintegrarse al tiempo que colapsó la estructura, figura 1 (b); pasados 20 minutos ya no se evidenciaba materia dentro del poro, y este era más ancho, figura 1 (c). El daño al tejido de la planta se incrementó con el aumento en el tiempo de la potencia del microondas, que se observó en el aumento de los espacios intracelulares, también reportado por Kratchanova (2004).

### **Efecto de la etapa de madurez de la naranja en el aceite esencial y rendimiento de la extracción de pectina y la composición química del aceite**

El cuadro 3 muestra que en las mejores condiciones de extracción (600 W y 10 min), el contenido de aceite disminuyó con el estado de madurez de la fruta, los mejores resultados se obtuvieron en primera etapa de madurez. En el caso de la pectina (cuadro 3), el mejor resultado se obtuvo con la segunda etapa de maduración, lo que indica que esta es una etapa de madu-

was of dark color and presented suspended matter. The highest pectin extraction yield was obtained from orange peels at the maturity stage of two and it was 28.3% higher when water was added during pectin extraction

## Acknowledgement

The authors acknowledge the financial support from Colciencias, SENA and UdeA through the project 1115-479-22043. R.D.B. thanks to the UPC, Colciencias and the Government of the Cesar, for his doctoral fellowship. The authors also acknowledge to Flórez family, the owners of the lots where the oranges were sampled.

## Literature cited

Alarca-E-Silva, M. L. C. M. M., A. E.B. Leita, H. G. Azinheira, M. C. A. J. Leita. 2001.

The Arbutus Berry: Studies on its Color and Chemical Characteristics at Two Mature Stages. Food Composition Analysis. 14: 27-35

Ferhat, M., B. Meklati, J. Smadja, F. Chemat. 2006. An improved microwave Clevenger apparatus for distillation of essential oils from orange peel. Journal Chromatography. 1112: 121-126.

Ferhat, M., B. Meklati, F. Visinoni, M. Vian, F. Chemat. 2008. Solvent free microwave extraction of essential oils. Chimica oggi Chemistry today. 26: 21-23.

Icontec. Frutas frescas. Naranja. Especificaciones. 1997. Norma Técnica Colombiana 486

Ishak, S., N. J. Ismail. 2005. Some physical and chemical properties of ambarella (*Spondias cytherea* Sonn.) at three different stages of

rez buena para la extracción de pectina, este resultado está de acuerdo con informes reportados por Kratchanova *et al.*, 2004.

El contenido de limoneno fue similar para los distintos grados de madurez con una desviación inferior al 4%; el contenido de  $\beta$ -mircenolol disminuyó cuando aumentó la madurez y su contenido está dentro de los valores reportados en la literatura para los aceites esenciales cítricos (1,29-6,9%) (Kirbaslar *et al.*, 2006); el contenido de sabineno, careno y  $\alpha$ -felandreno, no varió con la etapa de madurez de la fruta, y el contenido  $\alpha$ -pineno aumentó con la fase de madurez de la uno a la dos y luego fue constante (cuadro 3). El contenido de monoterpeno en el aceite esencial extraído de la cáscara de naranja estaba cerca de los valores reportados en la literatura (Rojas *et al.*, 2009).

## Conclusiones

El contenido del aceite esencial disminuyó con la etapa de madurez de la naranja. El rendimiento de la extracción del aceite esencial con el solvente (WS) fue ligeramente mayor que sin el solvente (NS), y el contenido de limoneno fue similar para todas las etapas de madurez. Las mejores condiciones para la extracción del aceite esencial fue 600 W y 10 min con y sin adición de agua. Las cáscaras de naranja se carbonizaron y el aceite esencial se oscureció y presentó partículas en suspensión, a una potencia de microonda superior a 600 W y tiempos mayores de 20 min. El mayor rendimiento de la extracción de la pectina se obtuvo de las cáscaras de naranja en el estado de madurez fase dos, este

maturity. *Food Composition Analysis*. 18: 819-827

Kim, W.C., D.Y. Lee, C.H. Lee and C.W. Kim. 2004. Optimization of narirutin extraction during washing step of the pectin production from citrus peels. *Journal of Food Engineering*. 63: 191-197.

Kirbaslar, S., I. Boz and F. Kirbaslar. 2006. Composition of Turkish lemon and grapefruit peel oils. *Journal Essential Oil Resources*. 18: 525-543.

fue 28,3% superior cuando se añadió el agua durante la extracción de las pectinas.

## **Agradecimientos**

Los autores agradecen la ayuda financiera brindada por Colciencias, SENA y UdeA a través del proyecto 1115-479-22043. R.D.B. gracias a la UPC, Colciencias y el gobierno del Cesar, para su Beca doctoral. Los autores también agradecen a la familia Flórez, quienes son los propietarios de las parcelas donde se muestrearon las naranjas