

Comparación de dos métodos de extracción de compuestos volátiles en sandía (*Citrullus lanatus* T.)

Comparison of two methods for extraction of volatile compounds in watermelon (*Citrullus lanatus* T.)

Salvador González-Palomares¹
Alejandro Hernández-Estrada¹
Manuel González-Sánchez²
Humberto Rafael Bustos-Santana²
Tábata Rosales-Reyes³

RESUMEN

Considerando que la identificación de compuestos volátiles también puede depender del método de extracción empleado, es importante comparar dos métodos de aislamiento de compuestos volátiles en jugo de sandía, además para identificar mayor cantidad de compuestos. Por esta razón, el objetivo de este trabajo fue comparar dos métodos de extracción de compuestos volátiles del jugo de sandía (*Citrullus lanatus* T., variedad Alena), con base en la identificación por cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS). Para ello, del jugo de la pulpa de sandía (cv. Alena) se aislaron los compuestos volátiles mediante: 1) extracción líquido-líquido (LLE) y 2) extracción-distilación simultánea (SDE); en ambos se utilizó la mezcla diclorometano-éter (3:1, v/v). Fueron identificados 24 compuestos volátiles con ambos métodos de aislamiento. Hubo diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en las concentraciones de los compuestos extraídos con LLE y SDE. Con base en la concentración total mayor de compuestos volátiles en el extracto, se concluyó que SDE es mejor método para la preparación de la muestra de sandía, respecto a LLE.

Palabras clave: extracción-distilación simultánea, extracción líquido-líquido, *Citrullus lanatus* T., compuestos volátiles, aroma.

ABSTRACT

Considering that volatile compound identification can also depend on the method of extraction used, it is important to compare two methods of volatile compound isolation in watermelon juice, in addition to identifying major amount of compounds. For this reason, the objective of this study was to compare two methods of volatile compound extraction from watermelon juice (*Citrullus lanatus* T., Alena variety), based on the identification by Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). For this purpose, the volatile compounds of watermelon juice (cv. Alena) were isolated by means of: 1) liquid-liquid extraction (LLE) and 2) simultaneous distillation extraction (SDE). In both methods, dichloromethane-ether mixture was used (3:1, v/v). Twenty-four volatile compounds were identified by both methods of isolation. There was a significant difference ($p \leq 0.05$) in the concentrations of compounds extracted with LLE and SDE. Based on the higher total concentration of volatile compounds in the extract, it is concluded that SDE is a better method for the sample preparation of watermelon, compared to LLE.

Key words: simultaneous distillation extraction, liquid-liquid extraction, *Citrullus lanatus* T., volatile compounds, aroma.

INTRODUCCIÓN

La sandía [*Citrullus lanatus* (Thunb.)] pertenece a la familia de las Cucurbitáceas, es una planta herbácea que produce frutos de gran tamaño y protegidos con una corteza dura (Nayar y More, 1998). Es originaria de países de África tropical y su cultivo se ha extendido por numerosas regiones hasta llegar al continente americano (Infoagro, 2007). Entre los principales países productores de sandía están Turquía, Grecia, Italia, España, China, Japón y México (Salaya, Carrillo, Palacios, Aceves y Juárez, 2002). Se conocen más de cincuenta variedades de sandía, que se clasifican esencialmente en función de

la forma de sus frutos, el color de la pulpa y de la cáscara, el peso y el período de maduración (García y Mirafuentes, 1993). El fruto es una baya globosa u oblonga en pepónide formada por tres carpelos fusionados con receptáculo adherido, que dan origen al pericarpo. El peso oscila entre 2 y 20 kilogramos. La corteza es lisa con un grosor de 2 a 4 cm, y su color es variable (verde oscuro, verde claro o amarillo o con franjas de color amarillento, grisáceo o verde claro sobre fondos de diversas tonalidades verdes). La pulpa posee diferentes colores: rojo, rosado o amarillo. Las semillas pueden estar ausentes (frutos triploides) o mostrar tamaños y colores variables: negro, marrón o blanco (Hinojosa,

¹ Instituto Tecnológico Superior de La Huerta (ITSH), Laboratorio de Cromatografía, Unidad de Ciencias de los Alimentos, Av. Rafael Palomera No. 161, Col. El Maguey, La Huerta, Jalisco, C.P. 48850. Correo-e: chava1142@yahoo.com.mx

² Universidad de Guadalajara (UdG), Centro Universitario de la Costa Sur (CUCSUR), Laboratorio de Biotecnología, Av. Independencia Nacional No. 151, Autlán de Navarro, Jalisco, C.P. 48900. Correo-e: hbustos1@yahoo.com.mx

³ Instituto Tecnológico de Tlajomulco, Jalisco (ITTJ), Planta Piloto de Procesos Agroindustriales, Km 10 carr. San Miguel Cuyutlán, Tlajomulco de Zúñiga, Jalisco, C.P. 45640. Correo-e: tabatareyes@hotmail.com

1983). La sandía es un fruto no climatérico y por tanto, para conseguir una calidad óptima debe recolectarse cuando está completamente maduro (García y Mirafuentes, 1993). Las sandías cultivadas en campo libre florecen entre finales de primavera y principios de verano, por lo que los frutos están en su punto óptimo de sazón durante todo el verano y principios del otoño; aunque también se cultiva en invernadero, por lo que es fácil disponer de ejemplares todo el año (Ibarra y Flores, 1997).

La sandía es un fruto con gran contenido de agua (93%) y su valor calórico es muy bajo, contiene un promedio de 20 calorías por cada 100 gramos de pulpa (Infoagro, 2007). Aunque los niveles de vitaminas y sales minerales son poco relevantes, en comparación con otras frutas, el potasio y el magnesio son los que más destacan (Nayar y More, 1998).

La pulpa de la sandía tiene una textura acuosa, porosa y muy jugosa. La sandía, como el jitomate (*Lycopersicon esculentum* M.), contiene licopeno, el cual es un carotenoide con propiedades antioxidantes y se relaciona con el color rojo. De igual manera, la mayoría de los compuestos volátiles derivados del licopeno se relacionan con el aroma y sabor de las frutas (Sisido, Kondo, Nozaki, Tuda y Udo, 1960).

La sandía tiene un sabor dulce que es generado por compuestos no volátiles y volátiles (Hinojosa, 1983). Entre los compuestos no volátiles de esta fruta, están algunos azúcares (sacarosa, glucosa y fructosa) y algunos ácidos como el málico, cítrico, citromálico, oxálico y ascórbico (García y Mirafuentes, 1993). Entre los principales compuestos volátiles que contribuyen en el aroma y sabor de la sandía se encuentran aldehídos, alcoholes, ésteres, lactosas, terpenoides y compuestos sulfurados. Los compuestos volátiles dentro de una especie pueden variar principalmente de una variedad a otra, esto también depende de factores tales como la región de cultivo, condiciones ambientales, etapa de madurez, condiciones de almacenamiento del fruto postcosecha, así como de las condiciones de análisis y métodos de extracción que se usen (Sisido et al., 1960; Yajima, Sakakibara, Ide, Yanai, y Hayashi, 1985; Shahidi, Rubin, D'Souza, Teranishi, y Buttery, 1986; Salaya et al., 2002; Beaulieu y Lea, 2006; Marín y Céspedes, 2007). Considerando lo anterior, con el presente estudio se espera contribuir en la comparación de dos métodos de extracción de compuestos volátiles en sandía (*Citrullus lanatus* T., variedad Alena).

Para la determinación de compuestos volátiles en sandía es útil usar cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS) (Mussinan, 1993; Reineccius, 1989; Ortiz, Dorantes, Galíndez, y Guzmán, 2003). Sin embargo, previamente es necesario realizar la preparación de la muestra mediante algún método de aislamiento, con el fin de obtener una muestra analítica concentrada y libre de sustancias que interfieran en el análisis (Maga, 1990; Mor, 1990; Chen, Huang, Ho y Tsai, 1998; González, Estarrón, Gómez y Andrade, 2009). Debido a que la identificación de compuestos volátiles también puede variar con base en el método de extracción empleado, se consideró conveniente comparar dos métodos de aislamiento de compuestos volátiles de jugo de sandía, además para identificar un mayor número de compuestos (MacLeod y Panchasara, 1983; Buttery, 1993; Lawless y Lee, 1993; Piti-pong y Sittiwat, 2003). La extracción líquido-líquido (LLE) y la extracción-destilación simultánea (SDE) son métodos de extracción de compuestos volátiles comúnmente empleados para el análisis de alimentos (Schultz, Flath, Mon, Egging y Teranishi, 1977; Gerhardt, 1990; Jirovetz, Jäger, Remberg, Espinosa-González, Morales, Woidich y Nikiforov, 1992). Por lo anterior, el objetivo del trabajo fue comparar dos métodos de extracción de compuestos volátiles del jugo de sandía (*Citrullus lanatus* T., variedad Alena), con base en la identificación por cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS).

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Cromatografía del Instituto Tecnológico Superior de La Huerta (ITSH). El ITSH se encuentra ubicado en el municipio de La Huerta, Jalisco.

Muestras de sandía

Las sandías utilizadas para este trabajo fueron del cv. Alena y se obtuvieron directamente de un campo de producción de Tomatlán, Jalisco, México. Se emplearon dos sandías en punto de maduración de consumo y de 2.5 kg cada una. Las sandías se lavaron con agua destilada, se descascararon y se eliminaron las semillas. La pulpa se seccionó en segmentos de tamaños homogéneos con un cuchillo. Después, se exprimió la pulpa en un exprimidor manual para

la obtención del jugo, el cual se filtró a través de una coladera, se juntaron los extractos de las dos sandías y conservó en refrigeración a 4 °C durante 2 horas (en lo que se preparaban los equipos para los análisis). Los compuestos volátiles del jugo de sandía fueron extraídos con los métodos LLE y SDE. En ambos métodos se usó una mezcla de diclorometano-éter (3:1) como disolventes, los cuales se adquirieron de Merck & Co., Inc. (USA).

Extracción líquido-líquido (LLE)

Una alícuota de jugo de sandía de 50 mL se depositó en un embudo de separación de compuestos de 250 mL y se adicionaron 10 mL de una mezcla de diclorometano-éter (3:1, v/v). El embudo se agitó manualmente durante 5 min, se abrió su llave de paso en dirección superior para liberar la presión de los gases, se selló y se dejó en reposo durante 2 h. La fase orgánica con los compuestos volátiles se mantuvo en un frasco de vidrio color ámbar y se conservó en refrigeración a 4 °C durante 4 horas (Pitipong y Sittiwat, 2003). El proceso se realizó por triplicado con el mismo jugo de sandía y en las mismas condiciones en LLE.

Extracción-destilación simultánea (SDE)

Se depositaron 50 mL de jugo de sandía en un matraz redondo de 250 mL, el cual se sujetó en el primer tubo lateral de un extractor-destilador simultáneo "Likens-Nickerson". En otro matraz redondo de 250 mL, se depositaron 50 mL de la mezcla de diclorometano-éter (3:1, v/v), y se sujetó en el segundo tubo lateral del mismo equipo. Ambos matraces se calentaron a 50 °C. En el tubo "U" del equipo se agregaron 10 mL de agua destilada y 10 mL de la mezcla disolvente utilizada en la extracción, en este caso se usó para ayudar a lograr la interfase. Los vapores de la muestra y de la mezcla del disolvente se movieron por tubos separados hasta unirse en el espacio de cabeza del equipo donde se condensaron por efecto del refrigerante (-5 °C). El líquido se recolectó en el tubo "U" durante 1 hora. La fase orgánica así obtenida, con los compuestos volátiles de la sandía, se mantuvo en un frasco de vidrio color ámbar y se conservó en refrigeración a 4 °C durante 4 horas. El proceso se realizó por triplicado con el mismo jugo de sandía y en las mismas condiciones en SDE.

Concentración de compuestos volátiles

Se recuperó el disolvente residual de las muestras mediante un sistema Kuderna-Danish acoplado a una columna vigreux. El equipo se calentó a 48 °C en un termobañó. El volumen final de la muestra fue de 0.5 mL. Después, se depositó cada muestra en un vial HP de 2 mL, provisto de un inserto de 100 µL. El vial se selló con tapa de aluminio de septa interior y se conservó en congelación a -20 °C para su análisis posterior en GC-MS (Mussinan, 1993).

Cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS)

Las muestras de sandía preparadas con los métodos anteriores se analizaron en un cromatógrafo de gases, acoplado a un detector selectivo de masas, HP6890/5973 GC-MS (Agilent Technologies Wilmington, DE; formerly Hewlett-Packard, Palo Alto, CA). Se usó una columna DB-5 30 m x 0.25 mm de ID x 1 µm de espesor de película (J, & Scientific, Folsom, CA.). La ionización se realizó por impacto electrónico a 70 eV. Se utilizó un volumen de inyección de 0.5 µL, una temperatura inicial del horno de 50 °C durante 5 min, con incrementos de 20 °C por minuto hasta llegar a una temperatura final de 250 °C; una temperatura del inyector de 220 °C y una temperatura del detector de 260 °C. Se empleó helio grado cromatográfico con un flujo de 0.8 mL/min, como gas acarreador (INFRA, S.A.).

Identificación y cuantificación de compuestos volátiles

La identificación de los compuestos volátiles de las muestras se realizó por comparación espectral de los picos del cromatograma de iones totales con los compuestos de referencia de una biblioteca wiley 275L de GC-MS y su cuantificación con base en el porcentaje del área proporcionado por el GC-MS correspondiente al pico de cada compuesto identificado en el cromatograma. Previo al análisis de las muestras en el cromatógrafo se analizaron "blancos". Es decir, se usó el programa del equipo en las mismas condiciones, sin analizar ninguna muestra. Esto se realizó para comprobar que los compuestos identificados después en las muestras, realmente correspondieran a la sandía (Pitipong y Sittiwat, 2003; González et al., 2009).

Análisis estadístico

Los dos métodos de extracción se compararon mediante una prueba de "t de Student" ($p \leq 0.05$). La comparación fue con base en la mayor concentración de compuestos volátiles de sandía. Se consideraron los datos de concentración obtenidos mediante las tres repeticiones en cada método (LLE y SDE).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente estudio se identificaron y cuantificaron 24 compuestos volátiles de sandías (*Citrullus lanatus* T.), procedentes de un campo de producción de Tomatlán, Jalisco, México. El éster acetato de isoamilo fue el compuesto más abundante en la sandía cv. Alena, con ambos métodos de extracción (Cuadro 1). Existieron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las dos técnicas de extracción (LLE y SDE). Con base en la concentración total mayor de los compuestos volátiles la técnica SDE resultó la más adecuada para extraer los compuestos del jugo de sandía.

Mediante LLE y GC-MS se identificaron y cuantificaron 21 compuestos volátiles de la sandía. Los compuestos identificados en los extractos con el método LLE coincidieron con los del método SDE. Sin embargo, con este último y GC-MS fueron cuantificadas concentraciones mayores de esos compuestos. Además, también con el método SDE y GC-MS fueron detectados y cuantificados tres compuestos ausentes en los extractos del método LLE, por lo que el total de compuestos identificados fue 24.

Las diferencias encontradas en la composición y cuantificación de los compuestos volátiles del jugo de sandía, entre los métodos de preparación de la muestra evaluados, se deben a que los compuestos volátiles se aíslan e identifican por afinidad química entre los disolventes empleados, las condiciones de extracción y tipo de materiales estudiados. La LLE se basa principalmente en la solubilidad de los compuestos de la muestra en el solvente empleado. Por su parte, la SDE extrae los compuestos volátiles con base en la volatilidad y la solubilidad en el solvente de extracción usado.

Los ésteres detectados en este estudio son similares en concentración a los obtenidos por Sisido et al. (1960). También se coincidió con Yajima et al., 1985, en la presencia de geranil acetona, nona-

nal, hexanal, (E)-2-octenal, dodecenol y feniletil alcohol. Los resultados de este estudio coincidieron también con los obtenidos por Beaulieu & Lea, (2006), en la presencia de 3,7-dimethyl-2,6-octadienal, (E)-geranil acetona, hexanal, (E)-2-octenal y (E)-2-nonenal. Sin embargo, los demás compuestos volátiles de la sandía que se presentan en el Cuadro 1, difieren con las investigaciones de Sisido et al. (1960), Yajima et al. (1985), y Beaulieu & Lea (2006), lo cual puede deberse a que se utilizaron diferentes variedades de sandía, se emplearon frutas procedentes de diferentes cultivos y se usaron diferentes métodos de extracción y cuantificación en cada caso. Comúnmente estos autores usaron microextracción en fase sólida (SPME) y cromatografía de gases, pero lo más relevante es que las

Cuadro 1. Compuestos volátiles identificados en sandía mediante dos métodos de aislamiento y GC-MS (n=3)

No.	Nombre del compuesto	Área (%)	
		- LLE	- SDE
1.	β -Cariofileno	0.50	1.02
2.	Etil γ -oxoseneconato	0.45	1.60
3.	α -Cadineno	--	0.80
4.	3,7-dimethyl-2,6-octadienal	0.32	1.35
5.	(E)-Geranil acetona	1.14	2.00
6.	Acetato de isoamilo	2.00	7.00
7.	Acetato de hexilo	1.00	3.10
8.	Acetato de etilo	0.95	2.93
9.	Acetato de octilo	1.16	2.40
10.	Acetato de bencilo	1.57	3.00
11.	2-metilbutirato de etilo	1.40	2.61
12.	Miristato de etilo	1.70	2.09
13.	Cinamato de metilo	0.30	1.50
14.	Benzoato de etilo	0.90	1.32
15.	Hexanoato de etilo	--	2.00
16.	Nonanal	1.00	1.84
17.	Hexanal	0.85	1.58
18.	Decanal	0.54	1.38
19.	(E)-2-Octenal	--	1.23
20.	(E)-2-nonenal	0.75	1.80
21.	Decanol	0.25	4.00
22.	Dodecenol	1.33	3.15
23.	Fenilpropil alcohol	1.40	3.80
24.	Feniletil alcohol	1.00	3.59
Total de compuestos:		21	24

LLE = extracción líquido-líquido; SDE = extracción-destilación simultánea.

condiciones de los análisis son diferentes a las empleadas en este trabajo, así como las frutas de sandía.

CONCLUSIONES

Los métodos de extracción LLE y SDE difieren en la eficiencia de aislamiento, por lo tanto el número y la concentración de los compuestos volátiles relacionados con el aroma de jugo de sandía de Tomatlán, Jalisco, son diferentes entre los dos métodos. Las diferencias encontradas en la identificación y cuantificación de compuestos volátiles, entre estos métodos de extracción, posiblemente se deben a la volatilidad de los compuestos o a la liberación y transformaciones químicas causadas por el tratamiento térmico durante la destilación. Con base en el número de compuestos identificados y su concentración, el método de extracción SDE es el más adecuado para caracterizar el jugo de sandía.

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Tecnológico Superior de La Huerta (ITSH), por el apoyo económico recibido para realizar esta investigación. A la doctora Lya Esther Sañudo Guerra, profesora-investigadora de la Secretaría de Educación de Jalisco (SEJ), por las revisiones metodológicas del trabajo. Al maestro Juan Antonio González Zúñiga, profesor-investigador de los Institutos Tecnológicos Superiores de Jalisco, por las revisiones y aportaciones técnicas en el proyecto.

REFERENCIAS

- Beaulieu, J.C. & Lea, J.M. (2006). Characterization and Semi-quantitative Analysis of Volatiles in Seedless Watermelon Varieties Using Solid-Phase Microextraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 7789-7793.
- Buttery, R.G. (1993). Quantitative and sensory aspects of flavor of tomato and other vegetables and fruits. In: *Flavour science*. American Chemical Society. Washington, 259-278.
- Chen, S.H., Huang, T.C., Ho, C.T. & Tsai, P.J. (1998). Extraction, analysis, and study on the volatiles in roselle tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 3, 1101-1105.
- García, P.F. y Mirafuentes, H. (1993). Manual de producción de sandía de humedad residual en el Estado de Tabasco. INIFAP-SARH. Tabasco, 16.
- Gerhardt, K.O. (1990). Gas chromatography-mass spectrometry. In: *Principles and applications of gas chromatography in food analysis*. Ellis Howard, New York, 11-58.
- Gonzalez, P.S., Estarron, E.M., Gomez, L.J.F. & Andrade, G.I. (2009). Effect of the Temperature on the Spray Drying of Roselle Extracts (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Journal of Plant Foods for Human Nutrition*, 64, 1, 62-67.
- Hinojosa, S.R. (1983). Experiencias obtenidas en el ensayo de rendimiento de seis variedades de sandía (*Citrullus vulgaris*) en la zona de la Chontalpa, Tabasco. Tesis profesional. Colegio Superior de Agricultura Tropical, H. Cárdenas. Tabasco, 60.
- Ibarra, J.L. y Flores, V.J. (1997). Acolchado plástico, cubiertas flotantes y desarrollo y rendimiento de sandía y calabacita. *Revista Agrociencia*, 31, 9-14.
- Infoagro. (2007). El cultivo de la sandía. <http://www.infoagro.com/frutas>.
- Jirovetz, L., Jäger, W., Remberg, G., Espinosa-Gonzalez, J., Morales, R., Woidich, A. & Nikiforov, A. (1992). Analysis of the volatiles in the seed oil of *Hibiscus sabdariffa* (Malvaceae) by means of GC-MS and GC-FTIR. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 1186-1187.
- Lawless, H.T., & Lee, C.B. (1993). Common chemical sense in food flavor. In: *Flavor science. Sensible principles and techniques*. American Chemical Society. Washington, 23-66.
- MacLeod, A.J. & Panchasara, S.D. (1983). Volatile aroma components, particularly glucosinolate products of cooked edible mushroom (*Agaricus bisporus*) and cooked dried mushroom. *Phytochemistry*, 22, 705-709.
- Maga, J.A. (1990). Analysis of aroma volatiles. In: *Principles and applications of gas chromatography in food analysis*. Ellis Howard, New York, 86-110.
- Marín, L.J.C. y Céspedes, C.L. (2007). Compuestos volátiles de plantas. Origen, emisión, efectos, análisis y aplicaciones al agro. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30, 4, 327-351.
- Mor, J.R. (1990). *Biotechnology in flavor synthesis*. Chichester, England, 135-152.
- Mussinan, C.J. (1993). Instrumental analysis in the flavor industry. In: *Flavor sciences. Sensible principles and techniques*. American Chemical Society. Washington, 169-224.
- Nayar, N.M. & More, T.A. (1998). *Cucurbits*. Science Publishers, Inc., Enfield, New Hampshire, USA, 340.
- Ortiz, M.A., Dorantes, L., Galíndez, J. & Guzmán, R.I. (2003). Effect of different extraction methods on fatty acids, volatile compounds, and physical and chemical properties of avocado (*Persea americana* Mill.) oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 8, 2216-2221.
- Pitipong, W. & Sittiwat, L. (2003). Comparison of determination method for volatile compounds in Thai Soy sauce. *Food Chemistry*, 83, 4, 619-629.
- Reineccius, G.A. (1989). Isolation, separation and characterization of flavor compounds in lipids. In: *Flavor chemistry of facts and oils*. American Oil Chemists' Society. Champaign, Illinois, 263-300.
- Salaya, D.J.M., Carrillo, A.E., Palacios, V.O.L., Aceves, N.L.A. y Juárez, L.J.F. (2002). Propuesta del cultivo de la sandía (*Citrullus vulgaris*) al potencial del agua en el suelo. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 127-133.
- Schultz, T.H., Flath, R.A., Mon, T.R., Egging, S.B. & Teranishi, R. (1977). Isolation of volatiles components from a model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 25, 3, 446-449.
- Shahidi, F., Rubin, L.J., D'Souza, L.A., Teranishi, R. & Buttery, R.G. (1986). Meat flavor volatiles: a review of the composition, techniques of analysis, and sensory evaluation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 24, 2, 141-243.
- Sisido, K., Kondo, K., Nozaki, H., Tuda, M. & Udo, Y. (1960). Synthesis of gamma-Oxosenecioates, Flavor of Watermelon. *Journal of American Chemical Society*, 82, 2286-2288.
- Yajima, I., Sakakibara, H., Ide, J., Yanai, T. & Hayashi, K. (1985). Volatile Flavor Components of Watermelon (*Citrullus vulgaris*). *Journal of Agricultural and Biological Chemistry*, 49, 11, 3145-3150.