

# CAMBIOS DE CALIDAD EN ESPINACA ALMACENADA EN ATMÓSFERAS CONTROLADAS

M. T. Martínez-Damián<sup>1</sup>; M. Cantwell de Trejo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Posgrado en Horticultura. Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México. C.P. 56230.

Correo-e: teremd@taurus1.chapingo.mx (<sup>1</sup>Autor responsable).

<sup>2</sup>Department of Vegetable Crops, Mann Laboratory. University of California Davis. Davis, CA 95616-8631, USA

## RESUMEN

Hojas de espinaca joven-tierna de 8 a 10 cm y tradicionales mayores de 15 cm fueron expuestas a diferentes condiciones atmosféricas: aire (testigo); 0.5 % O<sub>2</sub> + 10 % CO<sub>2</sub>; 5 % O<sub>2</sub> + 10 % CO<sub>2</sub> y 5 % O<sub>2</sub> + 20 % CO<sub>2</sub>, y almacenadas por 15 días a 7.5 °C. En general se encontró que la calidad visual de las hojas maduras son inferiores desde su cosecha (con valores de 7) y durante el tiempo de almacenamiento que las hojas jóvenes (con valores de 9), manteniendo el tratamiento 5 % de O<sub>2</sub> + 10 % de CO<sub>2</sub> su apariencia inicial hasta los 12 días a 7.5 °C. Las hojas jóvenes tienen una apariencia más tierna y succulenta desde su corte, manteniendo esas características hasta el día 6 y logrando en el tratamiento 0.5 % de O<sub>2</sub> + 10 % de CO<sub>2</sub> mantener su calidad visual con valores de 8. En ambos estados de madurez de hoja es muy notorio que el tratamiento de 5 % de O<sub>2</sub> + 20 % de CO<sub>2</sub> demerita la calidad visual aún más que cuando se almacenan con aire. Se encontró un incremento de pH y una disminución de la acidez titulable debida a las elevadas concentraciones de CO<sub>2</sub> utilizadas. Con respecto a clorofila el tratamiento 5 % O<sub>2</sub> + 20 % de CO<sub>2</sub> mantuvo los niveles más altos en ambos tipos de espinaca. Los carotenoides se presentaron en menor proporción en el tratamiento 5 % O<sub>2</sub> + 10 % CO<sub>2</sub>. El contenido de amonio fue mayor en los tratamientos con atmósferas controladas que con aire, variando de 0.52 a 3.52 mg·g<sup>-1</sup> después de almacenamiento en hojas tiernas y de 0.53 a 3.32 mg·g<sup>-1</sup> en hojas maduras. En los dos estados de madurez de hoja se observó un efecto de los niveles de CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub> en la disminución de brillantez.

**PALABRAS CLAVE ADICIONALES:** *Spinacia oleracea* L., conservación, postcosecha.

## CHANGES IN THE QUALITY OF SPINACH STORED IN CONTROLLED ATMOSPHERES

### SUMMARY

Young, tender spinach leaves 8 to 10 cm and leaves cut the traditional length of more than 15 cm were exposed to different atmospheric conditions: air (control), 0.5 % O<sub>2</sub> + 10 % CO<sub>2</sub>, 5 % O<sub>2</sub> + 10 % CO<sub>2</sub>, and 5 % O<sub>2</sub> + 20 % CO<sub>2</sub>, and stored for 15 days at 7.5 °C. In general, it was found that visual quality of mature leaves was lower from harvest (with values of 7) and during storage than that of young leaves (with values of 9). The treatment of 5 % O<sub>2</sub> + 10 % CO<sub>2</sub> maintained initial appearance up to 12 days at 7.5 °C. The young leaves retained a more tender and succulent appearance from its harvest and maintained these characteristics up to day 6 under the treatment of 0.5 % O<sub>2</sub> + 10 % CO<sub>2</sub>, with values of 8 in visual quality. In both states of maturity, it is evident that the treatment of 5 % O<sub>2</sub> + 20 % CO<sub>2</sub> deteriorated visual quality even more than storage in air. An increase in pH and a decrease in titratable acidity were found due to the elevated concentrations of CO<sub>2</sub>. Chlorophyll maintained the highest levels in both types of spinach under the treatment of 5 % O<sub>2</sub> + 20 % CO<sub>2</sub>. Carotenoids were present in a lower proportion with the treatment 5 % O<sub>2</sub> + 10 % CO<sub>2</sub>. The content of ammonia was higher in treatments with controlled atmospheres than with air, varying from 0.52 to 3.52 mg·g<sup>-1</sup> in tender leaves after storage and from 0.53 to 3.32 mg·g<sup>-1</sup> in mature leaves. In the two states of maturity of the leaves, an effect of the levels of CO<sub>2</sub> and O<sub>2</sub> in reducing lightness was observed.

**ADDITIONAL KEY WORDS:** *Spinacia oleracea* L., conservation, postharvest.

## INTRODUCCIÓN

La espinaca tiene un extremadamente alto grado de respiración (>CO<sub>2</sub> a 60 mg·kg<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup> y 10 °C), considerándose como un producto hortícola altamente perecedero. Al igual que otras hojas de tejido verde, los grados de producción

de etileno son muy bajos (<0.1 µl·kg<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup> a 20 °C), sin embargo, su sensibilidad al etileno exógeno es alta (Kader, 1992). Mucha de la espinaca para mercado en fresco es empacada en bolsa plástica pre-perforada, con el objetivo de reducir pérdidas de humedad. Las condiciones de almacenamiento recomendado para espinaca son 0 °C y

95 a 98 % de humedad relativa, se espera una vida de anaquel de por lo menos tres semanas; en la práctica una temperatura de almacenamiento entre 0 y 5 °C debe proporcionar una vida de anaquel de cerca de dos semanas. El marchitamiento de hojas y pudrición comienza a incrementarse entre los 10 y 14 días después de almacenarse a 5 °C y después de tres días a 10 °C (Watada *et al.*, 1987). La espinaca es tolerante a altas concentraciones de CO<sub>2</sub>, sin embargo, ningún efecto favorable ha sido observado al emplear este gas sólo; no así cuando se ha expuesto a las atmósferas de 7-10 % O<sub>2</sub> y 5-10 % CO<sub>2</sub> que ofrecen beneficios moderados como es el retraso del amarillamiento (Babic y Watada, 1996; Ko *et al.*, 1996). Generalmente bajas concentraciones de oxígeno o altas concentraciones de dióxido de carbono disminuyen el grado de respiración, reduciendo el crecimiento microbiano y retardando el grado de deterioro del producto (Kader, 1986). De lo anterior, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar los cambios en calidad y extensión de la vida de anaquel en hojas de espinaca, así como la susceptibilidad de dos estados de madurez a diferentes condiciones atmosféricas de almacenamiento.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó espinaca tradicional (*Spinacea oleracea* L.) proveniente de un campo comercial de una compañía local de productos mínimamente procesados ubicado en Salinas, California, EUA. Fue cosechada en noviembre de 1998 en dos estados de desarrollo diferentes: joven-tierna (8 a 10 cm) y tradicional (> 15 cm); con dos semanas de diferencia entre cada estado de madurez; para posteriormente ser trasladada dentro de hieleras al Laboratorio Mann de la Universidad de Davis, California, EUA donde se almacenó por 24 h a 0 °C y 95 a 98 % de humedad relativa. Una vez transcurrido este tiempo, se prepararon 96 contenedores de plástico por cada estado de madurez, en los cuales se colocaron 50 g de hojas de espinaca, se cubrieron individualmente con una malla porosa. La espinaca intacta se estableció en los tratamientos siguientes: 1) aire ambiental (testigo); 2) 0.5 % O<sub>2</sub> + 10 % de CO<sub>2</sub>; 3) 5 % O<sub>2</sub> + 10 % CO<sub>2</sub>; y 4) 5 % O<sub>2</sub> + 20 % CO<sub>2</sub>, almacenados por 15 días a 7.5 °C. Cada tratamiento estuvo conformado por 24 contenedores que fueron introducidos en botes herméticos de 18 litros, los cuales se sellaron y conectaron a un mezclador de gases con el fin de establecer la atmósfera deseada. El diseño experimental fue completamente al azar con cuatro repeticiones, siendo la unidad experimental un recipiente de 50 g. Se realizó un análisis de varianza de las siguientes variables evaluadas: Escala edónica donde se evaluó calidad visual (9=excelente, 1 indeseable), pudriciones (1 ninguna, 5 severo), desarrollo de malos olores (1 ninguno, 5 severo), amarillamiento (1=ninguno, 5=severo), escala de color visual (5 =verde oscuro, 1=amarillo+algo verde); también se realizó una evaluación de color con un colorímetro Minolta dado por la escala Hunter L\* a\* b\*

reportándose los valores en L\* y Hue; clorofila y carotenos se determinaron por el método colorimétrico de Lichtenthaler (1987); mediante la extracción con acetona; el pH se determinó mediante el uso de un potenciómetro Corning; acidez titulable analizada de acuerdo a la metodología propuesta por la A.O.A.C. (1984), reportándose con base a ácido oxálico; la determinación de amonio fue medida por el método colorimétrico de Wealtherburn (1967) mediante una reacción fenol-nitroprusside y hipoclorito alcalino. Para cuantificar las distintas variables muestras fueron preparadas y almacenadas en un ultracongelador a -80 °C a los 0, 3, 6, 9, 12 y 15 días de establecido el experimento, únicamente las determinaciones de color y calidad visual se tomaban inmediatamente.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Escala Edónica

En general se encontró que la calidad visual de las hojas maduras son inferiores desde su cosecha (con valores de 7; Figura 1) y durante el tiempo de almacenamiento que las hojas jóvenes (con valores de 9), manteniendo el tratamiento 5 % de O<sub>2</sub> + 10 % de CO<sub>2</sub> su apariencia inicial hasta los 12 días a 7.5 °C. Las hojas jóvenes tienen una apariencia más tierna y succulenta desde su corte, manteniendo esas características hasta el día 6 y logrando el tratamiento 0.5 % de O<sub>2</sub> + 10 % de CO<sub>2</sub> mantener su calidad visual con valores de 8 (Figura 2). En ambos estados de madurez de hoja es muy notorio que el tratamiento de 5 % de O<sub>2</sub> + 20 % de CO<sub>2</sub> demerita la calidad visual aún más que almacenadas en aire.

En la presencia de pudriciones se observa un efecto favorable por parte del tratamiento 5 % de O<sub>2</sub> + 10 % de CO<sub>2</sub> a mantener los niveles más bajos (hasta el día 12) en ambos estados de madurez (Figura 1 y 2). Sin embargo, las hojas maduras tienden a manifestar con mayor intensidad las pudriciones al final del periodo de almacenamiento.

En cuanto al desarrollo de malos olores se manifiestan con mayor rapidez en las hojas maduras que en las hojas tiernas, sobre todo en el tratamiento de aire y en el de 0.5 % de O<sub>2</sub> + 10 % de CO<sub>2</sub> (Figura 1 y 2), pero en general durante todo el almacenamiento se observa que el tratamiento 5 % de O<sub>2</sub> + 10 % de CO<sub>2</sub> controla el desarrollo de malos olores con mayor eficiencia. En hojas jóvenes es notorio que los tratamientos empleados desarrollaron menos olores desagradables.

La aparición de colores amarillentos en las hojas maduras fue más notoria en atmósfera con aire que en atmósferas controladas encontrando a los 15 días cambios

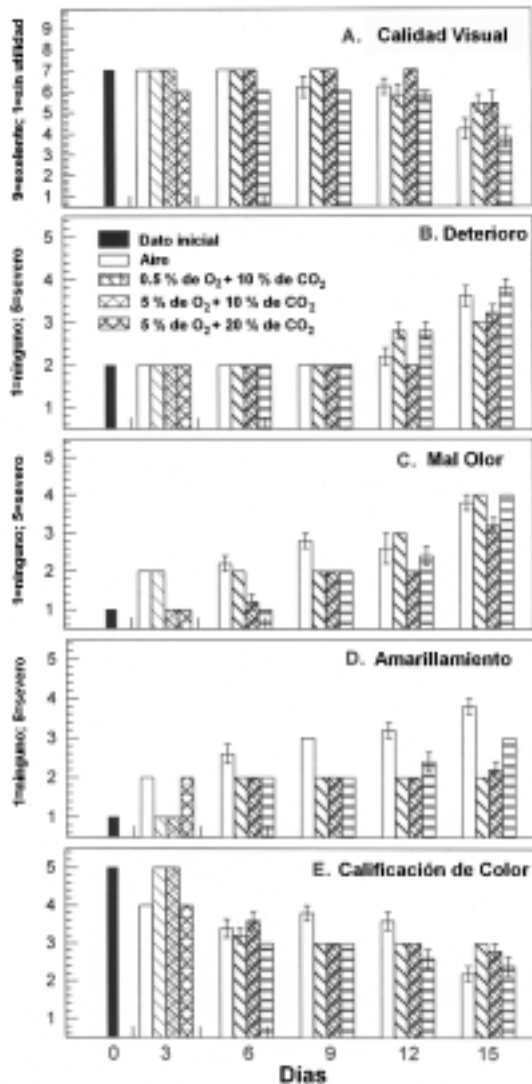


Figura 1. Cambios en calidad de hojas maduras de espinaca almacenadas en cuatro atmósferas controladas a 7.5 °C.

de color ligeros (valores de 2) en los tratamientos 0.5 % de  $O_2$  + 10 % de  $CO_2$  y 5 % de  $O_2$  + 10 % de  $CO_2$ , respectivamente en contraste el tratamiento de aire sobrepasa a todos los tratamientos llegando a tener valores de 4 (Figura 1). En hojas jóvenes el tratamiento de 0.5% de  $O_2$  +10 % de  $CO_2$  no sobrepasa el valor de 2 en desarrollo de colores amarillos en las hojas a los 15 días (Figura 2).

Los cambios de color verde intenso particular de la espinaca es muy variable y se pierde más en el tratamiento de aire a los 15 días de almacenamiento siendo en hojas jóvenes donde se presenta una disminución del color característico a partir de los 6 días de almacenamiento (Figura 2).

### Color ("L" y "Hue")

Con lo que respecta a "L" (luminosidad) en hojas de espinaca tradicionales, se observó un incremento de ésta

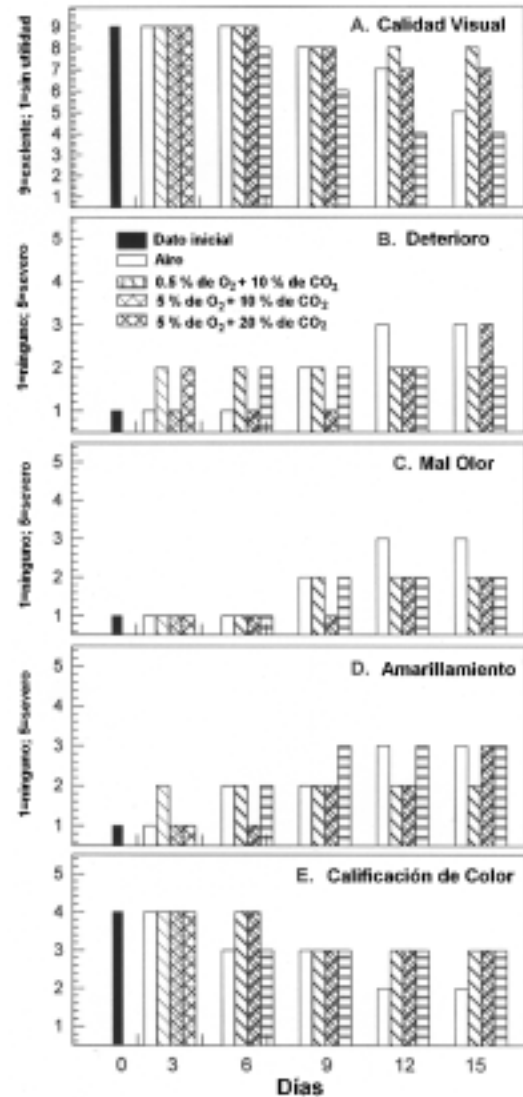


Figura 2. Cambios en calidad de hojas jóvenes de espinaca almacenadas en cuatro atmósferas controladas a 7.5 °C.

en todos los tratamientos a medida que avanzaba el tiempo de almacenamiento, sin existir diferencias significativas entre ellos, por consiguiente no mostró un efecto benéfico por parte de las atmósferas controladas, sin embargo, éstos cambios de luminosidad pudieron deberse a las pérdidas de clorofila y a aumentos de desarrollo de color amarillo en las hojas como puede observarse en la escala edónica.

En cuanto a hojas de espinaca joven-tiernas, se observó la misma tendencia que en hojas tradicionales al aumentar la brillantez con el avance del tiempo, sin embargo, al realizar la comparación de medias se observó que el tratamiento con aire tenía valores de 44.39 y los tratamientos con atmósferas controladas oscilaban entre 43.31 y 43.38, siendo significativamente mayor la brillantez obtenida en el tratamiento testigo probablemente por su menor contenido de clorofila (Figura 3).

En cuanto a Hue se pudo observar en ambos estados de madurez que los tratamientos con atmósferas

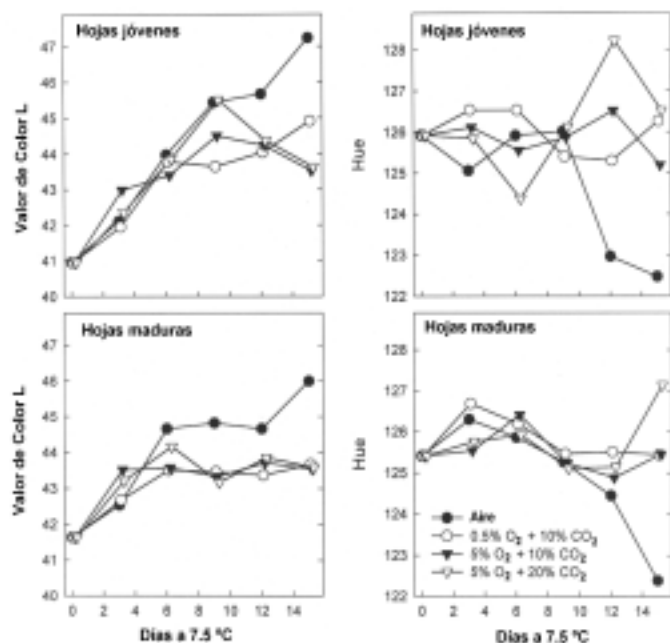


Figura 3. Cambios en valores de color objetivos de hojas de espinaca almacenadas en cuatro atmósferas controladas a 7.5 °C.

controladas oscilaron durante los 15 días de almacenamiento entre 125 y 127, valores mayores a los presentados por el tratamiento testigo que en ambos estados de madurez estuvieron por debajo de 123. También en ambos estados de madurez el tratamiento de 5 %  $O_2$  + 20 %  $CO_2$  mantuvo los valores más altos a los 15 días de almacenamiento.

### Clorofila y carotenoides

En el caso de las condiciones de almacenamiento de las espinaca en este trabajo, se encontró en hojas juvenes-tiernas que el tratamiento de 5 %  $O_2$  + 20 % de  $CO_2$  mantuvo el contenido de clorofila durante los 15 días de evaluación, con respecto a las otras atmósferas empleadas (Figura 4); comparando con el tratamiento de aire el porcentaje de pérdidas de clorofila a los 15 días llegó a ser de un 13.7 %. En hojas maduras se presentaron pérdidas de clorofila en los cuatro tratamientos, fue más acentuado con atmósferas de 0.5 % de  $O_2$  + 10 %  $CO_2$  y 5 % de  $O_2$  + 10 %  $CO_2$  y en menor cantidad con 5 %  $O_2$  + 20 %  $CO_2$  (Figura 4), lo cual fue similar a lo encontrado por Leberman *et al.* (1968), quienes observaron en brócoli que la retención de la clorofila aumentó con un incremento progresivo de  $CO_2$  y disminución de  $O_2$ . Por otra parte, se han estudiado los cambios químicos y los procesos bioquímicos que tienen lugar en las espinacas, brócoli, cerezas dulces, fresas entre otras, durante su almacenamiento en aire o en atmósferas controladas, se ha observado que el efecto sobre el contenido total de clorofila podía relacionarse con la

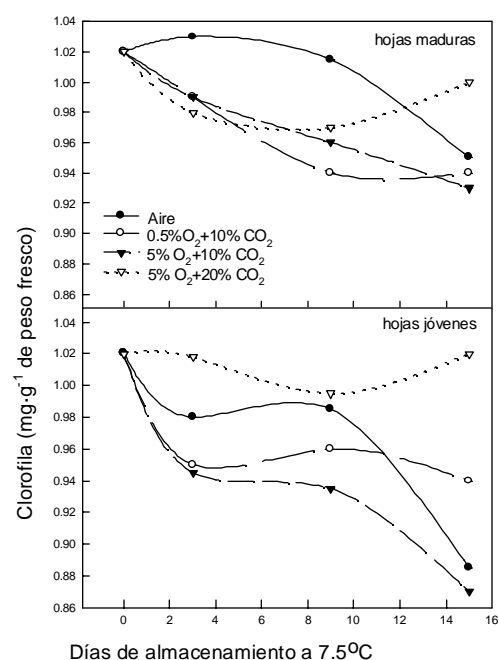


Figura 4. Concentración de clorofila en hojas de espinaca de dos estados de madurez y almacenadas en atmósferas controladas a 7.5 °C.

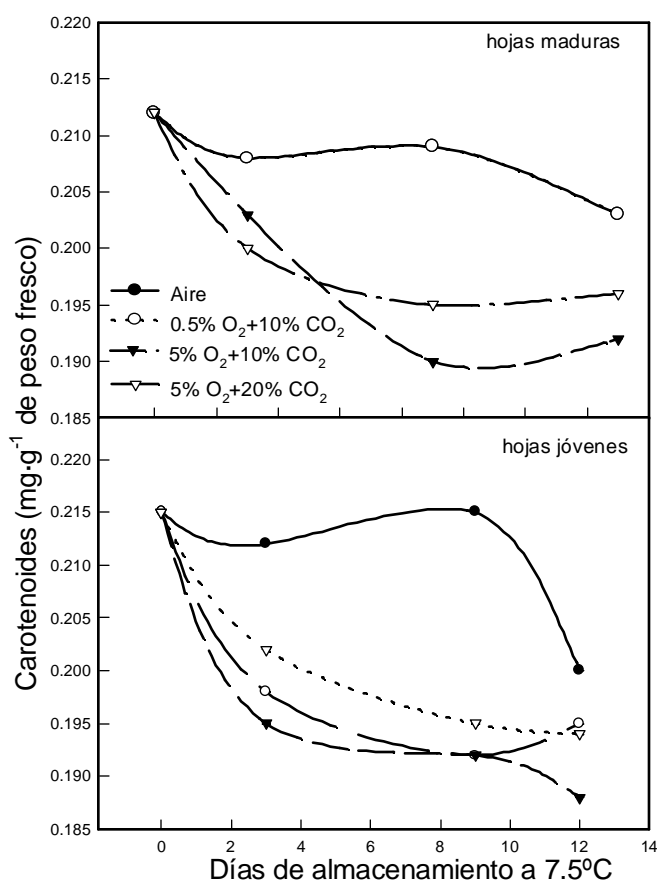


Figura 5. Carotenoides en hojas de espinaca de dos estados de madurez y almacenadas en atmósferas controladas a 7.5 °C.

atmósfera, periodo o temperatura de almacenamiento (Pantastico, 1984).

En cuanto a carotenoides en espinaca se encontró que el tratamiento de 5 % de  $O_2$ +10 % de  $CO_2$  presentó menor contenido en proporción que los otros tratamientos probados tanto en hojas tiernas como tradicionales (Figura 5).

Otro de los síntomas de senescencia es la biosíntesis de carotenoides: colores amarillos y anaranjados (Yamauchi y Watada, 1991); la cual se ha visto que se desarrolla lentamente en frutos y hortalizas mantenidos en atmósferas controladas y modificadas (Wankier *et al.*, 1970; Wang *et al.*, 1971; Isenberg, 1979; Smock, 1979).  $\beta$ -caroteno y luteína son los carotenoides más abundantes en espinaca y cambian en forma similar bajo diferentes condiciones de procesamiento y manejo postcosecha (Gross, 1991)

### pH y porcentaje de ácido oxálico

En pH se observó un incremento en ambos estados de madurez al avanzar el período de almacenamiento a 7.5 °C (Figura 6), este comportamiento fue más significativo a una atmósfera de 5 %  $O_2$  + 20 %  $CO_2$ , donde las hojas tiernas presentaron un cambio de pH de 6.4 a 7.5 y las hojas tradicionales de 6.4 a 8.15, no fueron los cambios tan notorios en el tratamiento con aire (6.4 a 6.46 en espinaca tierna y de 6.4 a 6.7 en hoja madura). Al respecto Lipton (1975) observó un incremento del pH seguido a la exposición de elevado  $CO_2$  en muchas hortalizas, incluyendo brócoli y coliflor. Esta respuesta también se encontró en ejotes verdes almacenados en atmósferas controladas (Groeschel *et al.*, 1966). En este tipo de respuesta, no se sabe si el pH aumenta como consecuencia de los efectos del  $CO_2$  sobre el metabolismo normal, o es una reacción directa por el tejido vegetal a contrarrestar los efectos de acidificación ocasionados por el  $CO_2$  (Kader, 1986). Aunque se sugiere que las razones del incremento del pH durante el almacenamiento en atmósferas controladas, podría ser efecto de una disminución en la actividad respiratoria, aumento en la fijación de  $CO_2$  o debida a la presencia de una enzima menos activa que convierte el ácido málico en piruvato u oxalacetato (Pantastico, 1984).

Con respecto a acidez titulable, se observó una disminución en los tratamientos con atmósferas controladas, a medida que avanzaba el tiempo de almacenamiento para hojas de ambos estados de madurez (Figura 7); siendo esta tendencia notoria cuando se empleó 5 %  $O_2$  + 20 %  $CO_2$ , donde el valor inicial de acidez cambió de 0.023 a 0.006 % en espinaca joven-tierna y de 0.027 a 0.006 % en espinaca madura. Dicha reducción podría ser explicada por el hecho de que las células son hábiles en usar ácidos orgánicos como sustrato en su respiración (Ulrich, 1970).

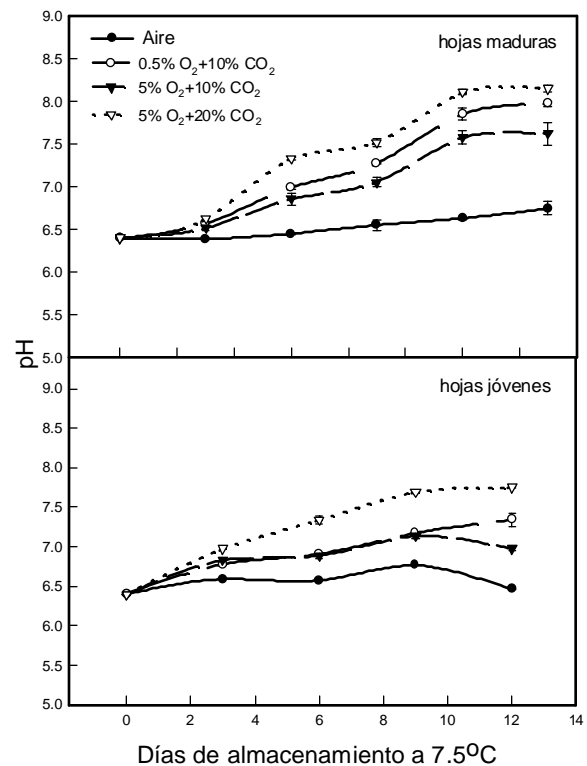


Figura 6. Cambios en pH en hojas de espinaca de dos estados de madurez y almacenadas en atmósferas controladas a 7.5 °C.

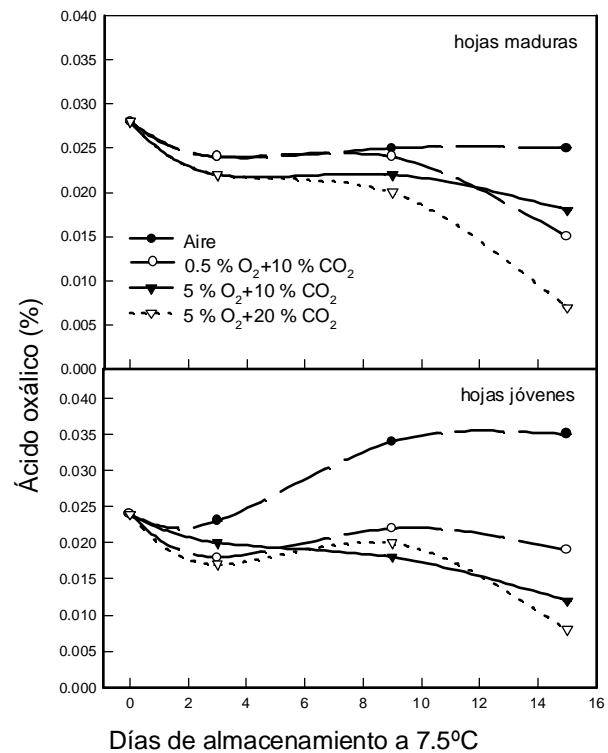


Figura 7. Comportamiento del contenido de acidez titulable en hojas de espinaca de dos estados de madurez y almacenadas en atmósferas controladas a 7.5 °C.

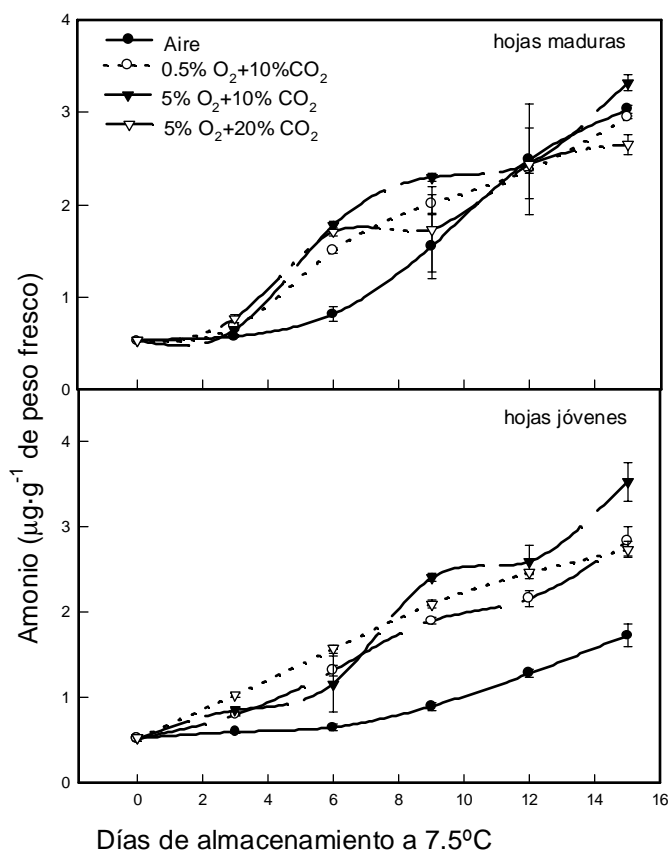


Figura 8. Contenido de amonio en hojas de espinaca en hojas de espinaca de dos estados de madurez y almacenadas en atmósferas controladas a 7.5 °C.

## Amonio

El contenido de amonio se incrementó a medida que avanzaban los días de almacenamiento en todos los tratamientos empleados, fue más elevado en atmósferas controladas que cuando se aplicó sólo aire, esto a los nueve días después de almacenada la espinaca (Figura 8). Aunque el incremento más significativo fue cuando se utilizó 5 % de O<sub>2</sub> + 10 % CO<sub>2</sub> donde el contenido de amonio varió de 0.52 a 3.52 mg·g<sup>-1</sup> en hojas joven-tierna y de 0.53 a 3.32 mg·g<sup>-1</sup> en hojas maduras después de 15 días de almacenamiento a 7.5 °C. Las atmósferas controladas probadas favorecieron la acumulación de amonio ya que siempre tuvieron concentraciones mayores que el testigo.

El amonio es tóxico para las células de las plantas a altas concentraciones, y es asimilado normalmente si se produce dentro de la planta (Mifflin y Lea, 1980). Al comparar con la investigación de Joy (1988), en espárrago, se deduce que el amonio puede elevarse por la deamidación de asparagina, glutamina o arginina por la actividad de aminoácido-oxidasas (posiblemente incluyendo glutamato deshidrogenasa) o por la actividad de fenilalaninamonialasa, la cual produce amonio como un primer paso de la formación de lignina, flavonoides y otros compuestos

secundarios (Hahlbrock y Grisebach 1979). La fenilalaninamonialasa fue reportada por Goldstein *et al.* (1971) en espárragos recién cosechados, aunque no se realizaron mediciones en postcosecha. La acumulación de asparagina en secciones de espárragos precede a altos incrementos de los niveles de amonio. Las amidas son productos importantes de degradación de proteínas durante la senescencia de hojas y son subsecuentemente transportados a otros tejidos a través del floema (Sieciechowicz *et al.*, 1988). La acumulación de amida es especialmente pronunciada cuando una planta tiene que desintoxicar grandes incrementos de amonio (Givan, 1979). Por otro lado la síntesis de asparagina puede prevenir la acumulación de amonio hasta 24 h después de la cosecha. Después de esto, la producción de amonio puede exceder el grado de asimilación, o la asimilación comienza a ser perjudicial.

En el experimento se observó que si bien las atmósferas controladas favorecen la producción de amonio, los niveles alcanzados en éstas fueron poco perjudiciales, ya que no se manifestaron síntomas en la parte externa después de 15 días después del almacenamiento, su aspecto fue mejor al tratamiento de aire.

## CONCLUSIONES

El uso de atmósferas controladas no benefició a las hojas maduras o consideradas de tamaño tradicional, sin embargo, en el estado de espinaca joven o tierna, si se logró ver un efecto benéfico por parte de la atmósfera 5 % O<sub>2</sub>+20 % de CO<sub>2</sub>. Factor importante a considerar en futuras investigaciones, ya que se puede lograr un retraso de la senescencia mayor al que se maneja actualmente.

## LITERATURA CITADA

- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS (A. O. A. C.). 1990. Official Methods of Analysis of Association Official Analytical Chemists 13 ed. Washington, D.C. USA. p. 1023.
- BABIC, I.; WATADA, A. E. 1996. Microbial populations of fresh-cut spinach leaves affected by controlled atmospheres. *Postharvest Biol. Tech.* 9: 187-193.
- GIVAN, C.V. 1979. Metabolic detoxification of ammonia in tissues of higher plants. *Phytochemistry* 18: 375-382.
- GOLDSTEIN, L. D.; JENNINGS, P. H.; MARSH, H. V. 1971. A preliminary investigation of L-phenylalanineammonialyase activity in asparagus: distribution and response to storage, excision and incubation. *Plant Cell Physiol.* 12: 257-661.
- GROSS, J. 1991. Pigments in Vegetables. Chlorophylls and Carotenoids. Van Nostrand Reinhold, New York, USA. pp. 237-242.
- GROESCHEL, E. C.; NELSON, A. I.; STEINBERG, M. P. 1966. Changes in color and other characteristics of green beans stored in controlled refrigerated atmospheres. *J. Food Sci.* 31: 486-490.
- HAHLBROCK, K.; GRIESBACH, H. 1979. Enzymatic controls in the biosynthesis of lignin and flavonoids. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 30: 105-130.

- ISENBERG, M. F. R. 1979. Controlled atmosphere storage of vegetables. Hort. Rev. 1: 337-387.
- JOY, K. W. 1988. Ammonia, glutamine and asparagine; a carbon-nitrogen interface. Can. J. Bot. 66: 2103-2109.
- KADER, A. A. 1986. Biochemical and physiological basis for effects of controlled and modified atmospheres on fruits and vegetables. Food Technology 40(4): 99-104.
- KADER, A. A. 1992. Postharvest Biology and Technology An Overview, pp 15-20. *In*: Postharvest Technology of Horticultural Crops. Publication 3311. University of California. Division of Agriculture and Natural Resources. Oakland, California, USA.
- KO, N. P.; WATADA, A. E.; SCHLIMME, D. V.; BOUWKAMP, J. C. 1996. Storage of spinach under low oxygen atmospheres above the extinction point. J. Food Sci. 61(2): 398-406.
- LEBERMAN, K. M.; NELSON, A. I.; STEINBERG, M. P. 1968. Postharvest changes of broccoli stored in modified atmospheres. I. Respiration of shoots and color of flower heads. Food Technology 22: 143
- LICHTENTHALER, H. K. 1987. Chlorophylls and carotenoids, pigments of photosynthetic biomembranes, pp. 351-379. *In*: Methods in Enzymology, Vol. 148. L. Packer, ANDR. Douce (eds.). Academic Press. London and New York, USA.
- LIPTON, W. J. 1975. Controlled atmospheres for fresh vegetables and fruits, why and when, pp. 130-151. *In*: Postharvest Biology and Handling of Fruits and Vegetables. N. F. Haard and D. K. Salunkhe (eds.). AVI Pub. Co., Westport, CT, USA.
- MIFLIN, B. J.; LEA, P. J. 1980. Ammonia assimilation, pp. 169-202. *In*: The Biochemistry of Plants. A Comprehensive Treatise. P. K. Stumpf and E. Conn (eds.). Vol. 5. Academic Press, New York, USA.
- PANTASTICO, E. R. B. 1979. Fisiología de la Postrecolección Manejo y, Utilización de Frutas y Hortalizas Tropicales y Subtropicales. Ed. Continental, S.A. D.F., México. 663 p.
- SIECIECHOWICZ, K. A.; JOY, K. W.; IRELAND, R. J. 1988. The metabolism of asparagine in plants. Phytochemistry 27: 663-671.
- SMOCK, R. M. 1979. Controlled atmosphere storage of fruits. Hort. Rev. 1: 301-326.
- ULRICH, R. 1970. Organic acids, pp. 89-115. *In*: The Biochemistry of Fruits and their Products Vol.1. A. C. Hulme (ed.). Academic Press. London and New York, USA.
- WANG, S. S.; HAARD, N. F.; DIMARCO, G. R. 1971. Chlorophyll degradation during controlled-atmosphere storage of sparagus. J. Food Sci. 36: 657-661.
- WANKIER, B. N.; SALUNKHE, D. K.; CAMPBELL, W. F. 1970. Effects of controlled atmosphere storage on biochemical changes in apricot and peach fruits. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 95: 604-609.
- WATADA, A. E.; KIM, S. D.; KIM, K. S.; HARRIS, T. C. 1987. Quality of green beans, bell peppers and spinach stored in polyethylene bags. J. Food Sci. 52(6): 1637-1641.
- WEALTHEBURN M. W. 1967. Phenol-hypochlorite reaction for ammonia determination. Anal. Chem. 39(8): 971-974.
- YAMAUCHI, N.; WATADA, A. E. 1991. Regulated chlorophyll degradation in spinach leaves during storage. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 116(1): 58-62.