

栽培 LED 光の波長とレタスの味の関係

静岡雙葉高等学校

2 年 柳田純佳

1 動機と目的

今まで行ってきたレタスの成長と光質に関する解析から、赤、青、緑、白の LED 光を照射して育てたレタスそれぞれに、葉の大きさや形、色、成分に違いがあることが分かった。なかでも、レタスの甘味に関係する糖度、苦味成分である Lactucopicrin の含有量が照射した光の波長により異なることから、光の波長を調節すれば味の異なるレタスが栽培できるのではないかと考えた。将来このようなレタスの栽培が可能になれば、甘みの強いレタスの栽培や、レタス特有の苦味が少ないレタスの栽培を簡単に制御できるようになり、そのような製品が流通することで野菜摂取量の向上に寄与できるのではないかと考えた。本研究の到達目標は、光質を調節することで、味の異なるレタスの栽培を可能にすることである。

目標を達成するための第一段階として、まず赤、青、緑、白の LED 光で栽培したレタスを用いて、前回の研究でも計測したビタミン C、糖に加え、クロロフィルの含有量を測定した。以前の実験で用いたレタスは生育環境が一定ではなかったため、より厳密に制御した環境で栽培することで、確実に再現できる実験方法の確立を行った。

2 材料と方法

レタスはチマサンチ *Lactuca sativa* var. *crispa* (株式会社トーホク) を用いた。ウレタン製のスポンジに播種後、太陽光下で栽培し、芽が大きくなるまで育成させたものを使用した。培養 26 日後の幼苗を 23℃の人工気象器に移し、光合成光量子束密度をそろえた赤、青、緑、白の LED 電球でレタスを照射して育成した。以前までの研究から、植物と人間の光の感じ方は異なり、植物の感じる光の明るさをそろえるためには光合成光量子束密度(光の粒子を単位として 1 秒あたり 1 平方メートルあたりの光量子の数)を用いるのが適すと分かったため、今回も光合成光量子束密度をそろえ実験を行った。照射から 15 日後のレタスを採取し、分析まで -80℃で保存した。その後レタスを 2.5g ずつ測り取り 5ml の HPLC 用蒸留水に入れホモジナイズし、N0.5 のフィルターを通しろ過、100 倍希釈することでサンプルを調製した。



図 1 人工気象器で栽培している様子



図 2 LED 光で栽培したレタス。左上から赤、青、緑、白の LED で栽培した株。

(1) ビタミンC含量の測定

EnzyChrom™ Ascorbic Acid Assay Kit を用いて、実験を行う。

ア 材料

- (ア) 1×Assay Buffer
- (イ) Reaction Reagent
 - Coloeimetric Probe 1 :10
 - Iron Chloride Solution 1 :10
 - 1×Assay Buffer 8 :1
- (ウ) 1×Ascorbate Oxidase
- (エ) Ascorbate Standard powder
- (オ) プレートリーダー
- (カ) 96 穴マイクロプレート
- (キ) マイクロピペット
- (ク) コニカルチューブ

イ 下準備

- (ア) 35mg の Ascorbate Standard powder に 1ml の蒸留水を加えよく混ぜる。
- (イ) (ア) を 1×Assay Buffer で 100 倍希釈する。

その後、図 3 に従って 2~9 の希釈スタンダード（以下 STD）を作成する。

Standard tube	2mM Ascorbic Acid (μl)	1 × AssayBuffer (μl)	最終濃度VC (μM)
1	100	900	200
2	500 μ 1 から取る	500	100
3	500 μ 2 から取る	500	50
4	500 μ 3 から取る	500	25
5	500 μ 4 から取る	500	12.5
6	500 μ 5 から取る	500	6.25
7	500 μ 6 から取る	500	3.125
8	500 μ 7 から取る	500	1.5625
9	0	500	0

図 3

ウ 手順

- (ア) STD2~9 を well に 100 μ l 入れる。
- (イ) サンプルを 100 μ l ずつ well に入れる。このとき (-) と設定するサンプルを 1 つ、(+) と設定するサンプルを 2 つつくる。
- (ウ) 入れ終わったら、再度 STD2~9 を well に 100 μ l 入れ、STD でサンプルを挟む形にする（図 4 参照）。

	1	2	3	4	5
A	STD9	赤(-)	赤(+)	赤(+)	STD9
B	STD8	青(-)	青(+)	青(+)	STD8
C	STD7	緑(-)	緑(+)	緑(+)	STD7
D	STD6	白(-)	白(+)	白(+)	STD6
E	STD5				STD5
F	STD4				STD4
G	STD3				STD3
H	STD2				STD2

図 4

- (エ) 蒸留水を STD と (-) と設定したサンプルに $10\mu\text{l}$ ずつ入れる。
- (オ) $1\times$ Ascorbate Oxidase を (+) と設定したサンプルに $10\mu\text{l}$ ずつ入れる。
- (カ) プレートを机の上で何回か大きく回しミックスし、室温で 15 分おき酵素反応させておく。
- (キ) 酵素反応の間に Reaction Reagent を作りよく混ぜ、氷で冷やしておく。
- (ク) 酵素反応終了後、すべての well に Reaction Reagent を $100\mu\text{l}$ ずつ加えミックス、3 分間室温で反応させる。
- (ケ) プレートリーダーを用いて 570nm の吸光度を測定する。
- (コ) 検量線を求め計算する。

(2) グルコース含量の測定

Glucose Assay Kit-WST を用いて、実験を行う。

ア 材料

- (ア) Dye Mixture
- (イ) Glucose Standard (10mM)
- (ウ) Enzyme
- (エ) Assay Buffer
- (オ) Reconstitution Buffer
- (カ) プレートリーダー
- (キ) 96 穴マイクロプレート
- (ク) マイクロピペット
- (ケ) コニカルチューブ
- (コ) インキュベーター

イ 下準備

- (ア) Dye Mixture のバイアル瓶に Reconstitution Buffer を全量加え、Assay Buffer で希釈し Dye Mixture stock solution を調製する。
- (イ) Enzyme に PBS を加え、ピペッティングにより溶解し Enzyme stock solution を調製する。
- (ウ) コニカルチューブに Dye Mixture stock solution を加え、Assay Buffer で希釈する。
- (エ) (ウ) に Enzyme stock solution を加える (図 6 参照)。

	24well分	30well分
dye Mixture stock solution	$150\mu\text{l}$	187.5
Assay Buffer	1.35ml	1.6875
Enzyme stock solution	$27\mu\text{l}$	33.75

図 5

- (オ) Glucose Standard $50\mu\text{l}$ を超純水 $950\mu\text{l}$ で希釈し、0.5mM Glucose standard solution を調製する。さらに順次 2 倍希釈し、STD1~9 とする (図 6 参照)。

Standard tube	10mM Glucose Standard (μ l)	超純水	最終濃度VC (μ M)
1	50	950	0.5
2	250 μ 1から取る	250	0.25
3	250 μ 2から取る	250	0.125
4	250 μ 3から取る	250	0.0625
5	250 μ 4から取る	250	0.03125
6	250 μ 5から取る	250	0.015625
7	250 μ 6から取る	250	0.0078125
8	0	250	0

図 6

ウ 手順

(ア) STD1～9 とサンプルをそれぞれ 50 μ l ずつ、各 well に入れる(図 7 参照)。

	1	2	3	4	5	6
A	0 mM Glucose			赤		
B	0.00785 mM Glucose			青		
C	0.0157 mM Glucose			緑		
D	0.0313 mM Glucose			白		
E	0.0625 mM Glucose					
F	0.125 mM Glucose					
G	0.25 mM Glucose					
H	0.5 mM Glucose					

図 7

(イ) Working Solution 50 μ l を各 well に入れる。

(ウ) 37℃で 30 分間インキュベートする。

(エ) プレートリーダーを用いて 450nm の吸光度を測定する。

(オ) 検量線を求め計算する。

(3) クロロフィル含量の測定

ア 材料

(ア) 80%アセトン

(イ) ガラス試験管

(ウ) アルミホイル

(エ) 吸光度計

イ 手順

(ア) レタスを 220mg ずつを秤量し、それぞれのサンプルをハサミで細かく切った後ガラス試験管に入れる。

(イ) 全ての試料が液に浸かるよう、試験管に色素抽出試薬（80%アセトン）を 3ml 加えよく混ぜる。

(ウ) アルミホイルでしっかりと蓋をし、時々混ぜながら室温で 30 分～1 時間抽出する。

(エ) 蓋をはずして 3,000rpm で 5 分間遠心後、上清の一部を取り、必要に応じて色素抽出試薬で希釈する。吸光度計で吸光度（A663、A646、A750）を測定し、クロロフィル濃度を求める。

$$\text{クロロフィル a } (\mu\text{g/ml}) = 12.25 \times (\text{A663} - \text{A750}) - 2.55 \times (\text{A646} - \text{A750})$$

$$\text{クロロフィル b } (\mu\text{g/ml}) = 20.31 \times (\text{A646} - \text{A750}) - 4.91 \times (\text{A663} - \text{A750})$$

3 結果

- (1) ビタミンC（アスコルビン酸）は、白>緑>青>赤の順に含有量が高かったが、どの色で栽培したものも七訂食品成分表 2020 におけるサンチュのビタミンC含有量（100 gあたり 13mg）よりも少なかった（図 8）。
- (2) グルコースは、緑>白>青>赤の順に含有量が多かった（図 9）。
- (3) クロロフィルは、青>緑>白>赤の順に含有量が多く、Chl a/b 比は青>白>緑>赤の順に値が大きかった（図 10）。

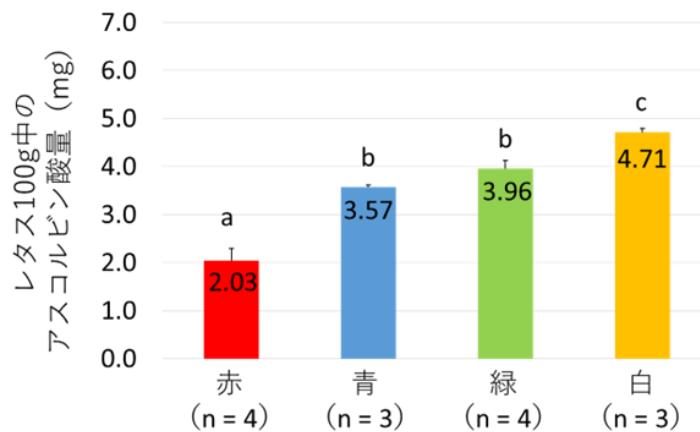


図8. 光質の違いによるレタスのアスコルビン酸含有量の違い。a～c：Tukeyの多重比較にて、異なるアルファベット間で優位な差あり(p<0.05)。n：統計処理による外れ値を外し平均を出したサンプル数。

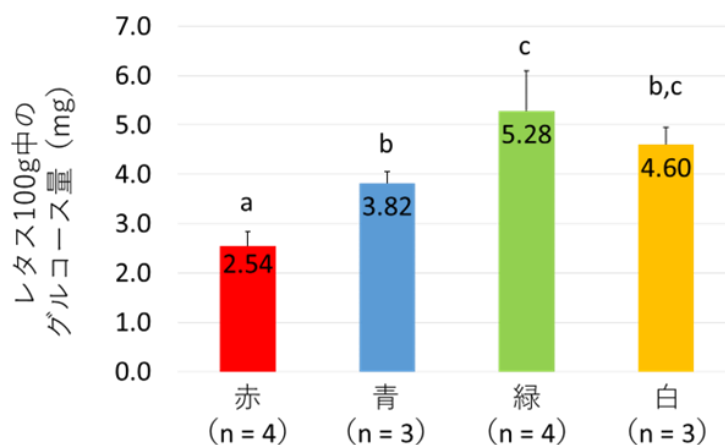


図9. 光質の違いによるグルコース含有量の違い。a～c：Tukeyの多重比較にて、異なるアルファベット間で優位な差あり(p<0.05)。n：統計処理による外れ値を外し平均を出したサンプル数。

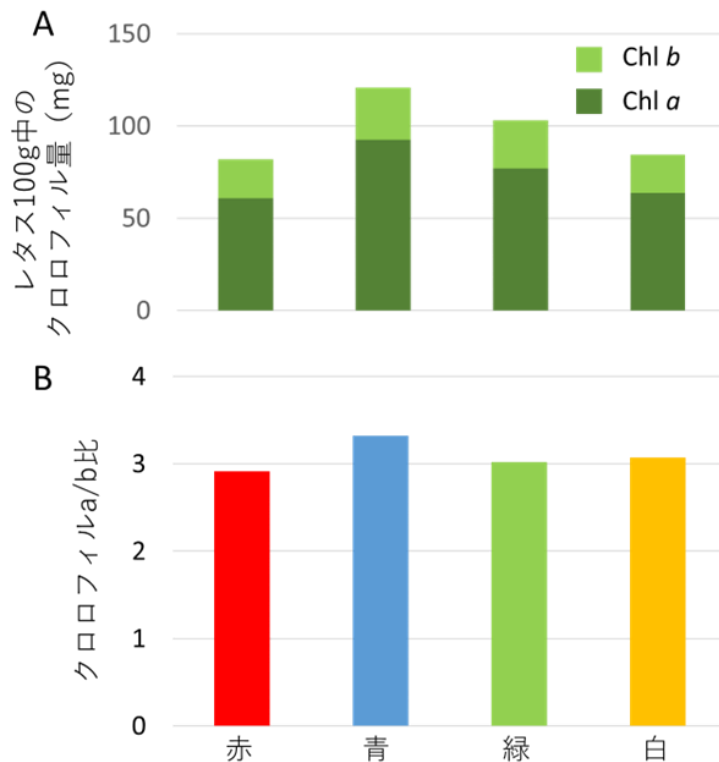


図10. 光質の違いによる (A) クロロフィル含量および (B) a/b比の違い。

4 考察

- (1) 以前の解析では、ビタミンCは 赤>白>緑>青の順に含有量が多く、糖度は 白>赤>緑>青の順に含有量が多かった (図 11、12)。これらの結果の差は、前回の解析がビタミンCは滴定で、糖度は糖度計で測定するという簡易的なデータだったことが関係するのではないかと考えた。加えてビタミンC含量の測定において主脈を除いたことが、グルコース含量においては以前の解析ではフルクトースなど他の糖を含めた含量を測定していたことが原因の可能性があるのではないかと考えた。つまり、他の糖の含量が高いことが予想された。

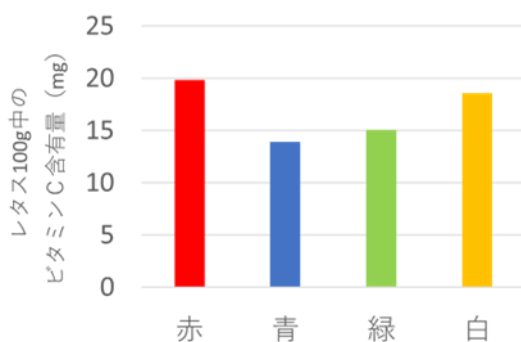


図11. 光質の違いによるアスコルビン酸含有量の違い

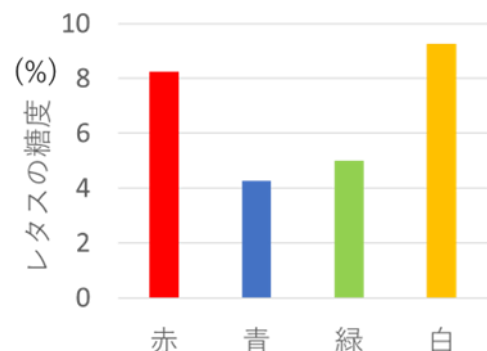


図12. 光質の違いによる糖度の違い

- (2) 緑色 LED で栽培したレタスのグルコース含量が高かったことから、緑色 LED で栽培したレタスの苦味は少ないことが期待された (図 9)。
- (3) 青色 LED で栽培したレタスのクロロフィル含有量が多かったことから、青色 LED で栽培したレタスの苦味は強いことが予想された (図 11)。
- (4) 青色 LED で栽培したレタスの Chl a/b 比が大きかったこと、総クロロフィル含量が増えていることから、青色 LED で栽培したレタスでは、光合成反応中心が増えたことで光を捉えるアンテナ

ナが相対的に少し小さくなった、つまりレタスにとって生育に十分な光を得ていたと考えられた（図7）。青色LEDで栽培したレタスを含め、LEDで栽培したレタスの食味について、今後調査したい。

5 今後の展望

今回のビタミンC、糖度の実験において以前の解析と違う結果が出てきたが、ビタミンCについては主脈と葉を分けたら以前と似た結果が出てくることが、また、糖についてはグルコースではない他の糖の含量が高いことが予想された。そのため、今後はレタスを主脈と葉に分け、ビタミンCやグルコースの測定に加え、フルクトースなど他の糖の含量を測定する実験を行い、仮説が正しいのか検証していきたい。

また、青色LEDで栽培したレタスのクロロフィル含量が多かったことから青色LEDで栽培したレタスの苦味は強いことが予想されたが、実際に食べてみたらどのように感じるのか、LEDで栽培したレタスの食味について、今後嗜好調査を行い調査したい。

6 謝辞

本研究は、静岡大学主催FSS(未来の科学者養成スクール)のプログラムのもと、静岡大学にて行わせていただきました。本研究を行うにあたり、進め方や実験など多大なるご指導、ご助言をくださった静岡大学理学部の栗井光一郎教授、教育学部の竹下温子准教授、また栗井研究室の皆様にご心より感謝申し上げます。

7 参考文献

- (1) 伊藤龍三、「人気ブロガー・横着じいさんのかんたん水耕栽培 決定版!」、主婦と生活社、2017
- (2) 香川明夫、「七訂 食品成分表 2020」、女子栄養大学出版部、2020