



**VALON INTENSITEETIN JA SPEKTRIN
VAIKUTUS LEHTIMANGOLDIN
MINIVERSOJEN FENOLISTEN
YHDISTEIDEN MÄÄRÄÄN**

Ammattikorkeakoulututkinnon opinnäytetyö

Puutarhatalous, hortonomi (AMK)

Syksy 2023

Maarit Julkunen

Puutarhatalouden koulutusohjelma

Tekijä Maarit Julkunen

Työn nimi Valon intensiteetin ja spektrin vaikutus lehtimangoldin miniversojen fenolisten yhdisteiden määrään

Ohjaaja Marika Tossavainen

Tiivistelmä

Vuosi 2023

Tämän opinnäytetyön tavoitteena oli selvittää valon intensiteetin ja spektrin vaikutusta lehtimangoldin miniversojen kasvuun ja fenolisten yhdisteiden määrään. Työn tilaajana oli HAMK Bio-tutkimusyksikkö. Opinnäytetyön kirjallisuusosassa perehdyttiin julkaisuihin, jotka koskivat kasvien sekundaarimetabolialla, fenolisia yhdisteitä ja valon vaikutusta niihin.

Opinnäytetyön tutkimuksellisessa osuudessa tehtiin kasvatuskoe, jossa lehtimangoldin (*Beta vulgaris* ssp. *vulgaris* var. *cicla*) versoja kasvatettiin 17 vuorokauden ajan kolmessa eri valo-olosuhteessa. Matalan (~170 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) ja korkean (~300 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) valointensiteetin käsittelyissä valon lähteenä toimivat loisteputket. LED-valokäsittelyssä (LED300) yhdistettiin kaksi punaista (Hyper Red; 660 nm) ja kaksi sinistä (Deep Blue; 450 nm) LED-putkea ja valon intensiteetti säädettiin tasolle ~300 $\mu\text{mol}/\text{s}/\text{m}^2$. Valokäsittelyiden vaikutusta lehtimangoldin miniversojen kasvuun selvitettiin määrittämällä kasvien tuore- ja kuivapainot. Kasvinäytteet kuivattiin ja fenoliset yhdisteet uutettiin kiihdytetyllä liuotinuutolla. Kokonaisfenolipitoisuus määritettiin Folin-Ciocalteu -menetelmällä UV-Vis spektrofotometrillä.

Molempien korkeassa valon intensiteetissä (LP300 ja LED300) kasvaneiden miniversojen tuore- ja kuivapainot olivat suurempia kuin matalassa valon intensiteetissä (LP170) kasvaneiden miniversojen painot ($p < 0,05$). Fenolisten yhdisteiden määrä oli korkein LED-valotuksessa (LED300) kasvaneissa versoissa ja ero oli tilastollisesti merkitsevä suhteessa matalan intensiteetin (LP170) versoihin ($p < 0,05$). Keskinäisessä vertailussa korkean valon intensiteetin käsittelyiden (LP300 ja LED300) kokonaisfenolipitoisuuksissa ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa ($p > 0,05$).

Tässä opinnäytetyössä havaittiin, että korkeampi valon intensiteetti lisäsi kasvua sekä loisteputki- että LED-valotuksessa. Lehtimangoldin miniversojen sisältämien fenolisten yhdisteiden määrään voidaan tämän opinnäytetyön tulosten perusteella mahdollisesti vaikuttaa kasvattamalla miniversoja spektrissä, joka sisältää runsaasti sinistä ja punaista aallonpituutta, kun valon intensiteetti on tasolla ~300 $\mu\text{mol}/\text{s}/\text{m}^2$. Valon intensiteetin ja spektrin vaikutusta lehtimangoldin kasvuun ja kokonaisfenolipitoisuuteen tulee tutkia vielä lisää, jotta löydetään valo-olosuhteet, joilla voidaan optimoida sekä sadontuotto että fenolisten yhdisteiden määrä.

Avainsanat Kerrosviljely, LED-valotus, fenoliset yhdisteet

Sivut 19 sivua

Degree Programme in Horticulture

Author Maarit Julkunen

Subject Effect of Light Intensity and Spectra on the Amount of Phenolic Compounds in Swiss Chard Microgreens

Supervisor Marika Tossavainen

Abstract

Year 2023

The aim of this practise-based thesis work was to investigate the effect of light intensity and spectra on the growth and the total phenolic content (TPC) of Swiss chard (*Beta vulgaris* ssp. *vulgaris* var. *cicla*) microgreens. The project was commissioned by the HAMK Bio Research Unit. The literature part of the thesis focuses on publications on secondary metabolism of plants, phenolic compounds and the effect of light on them. The practical part of the work was carried out by growing microgreens in different lighting conditions.

Swiss chard microgreens were grown for 17 days under three different light conditions. In low (~170 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) and high (~300 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) light intensity treatments, fluorescent lamps acted as the light source. In the LED light treatment (LED300), two red (Hyper Red; 660 nm) and two blue (Deep Blue; 450 nm) LED tubes were combined, and the light intensity was adjusted to ~300 $\mu\text{mol}/\text{s}/\text{m}^2$. The effect of light treatments on the growth of Swiss chard microgreens was investigated by determining the fresh and dry weights of the plants. The plant samples were dried, and the phenolic compounds were extracted by accelerated solvent extraction (ASE). The total phenolic content was determined by the Folin-Ciocalteu method using a UV-Vis spectrophotometer.

The fresh and dry weights of both microgreens grown at high light intensity (LP300 and LED300) were higher than those of microgreens growing at low light intensity (LP170) ($p < 0.05$). The total phenolic content was highest in microgreens grown under LED exposure (LED300) and the difference was statistically significant compared to low intensity (LP170) shoots ($p < 0.05$). In comparison, there was no statistically significant difference in total phenolic content between high light intensity treatments (LP300 and LED300) ($p > 0.05$). Based on the results of this growth experiment, it was found that higher light intensity increased growth in both fluorescent and LED exposure. The total phenolic content in Swiss chard microgreens can possibly be increased by exposing them to blue and red wavelengths at the light intensity of ~300 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$. However, the effect of light intensity and spectra on Swiss chard growth and total phenolic content needs to be further studied to find light conditions that can optimize both growth and total phenolic content.

Keywords Vertical farming, LED lightning, phenolic compounds

Pages 19 pages

Sisällys

1	Johdanto	1
2	Valon vaikutus kasvien kehitykseen	2
2.1	Valon voimakkuus eli intensiteetti	2
2.2	Valon aallonpituus eli spektri.....	3
2.3	LED-valotus kasvien viljelyssä	4
3	Kasvien sekundaarimetabolia	4
3.1	Sekundaarimetaboliitit ja niiden luokittelu.....	5
3.2	Tutkimuksia valon vaikutuksesta kasvien fenolisiin yhdisteisiin	6
4	Lehtimangoldi	7
4.1	Viljely	7
4.2	Ravintoarvo.....	8
5	Aineisto ja menetelmät.....	9
5.1	Kasvatuskoe, valokäsittelyt ja koeasetelma	9
5.1.1	Kylvö ja itäminen	12
5.1.2	Kasvatusolosuhteet	12
5.2	Sadonkorjuu, kasvinäytteiden käsittely ja analysointi	12
5.2.1	Kiihdytetty liuotinuutto.....	13
5.2.2	Kokonaisfenolipitoisuuden määrittäminen.....	13
5.3	Tulosten käsittely ja tilastollinen analysointi	14
6	Tulokset	15
6.1	Versojen visuaalinen arviointi.....	16
6.2	Kokonaisfenolipitoisuus.....	16
7	Tulosten tarkastelu.....	17
8	Johtopäätökset ja pohdinta	19
	Lähteet	20

Kuvat

Kuva 1. Sähkömagneettisen säteilyn taajuudet ja näkyvän valon spektri.

Kuva 2. Olosuhdekaapin kolme kasvatushyllyä ja kokeen valokäsittelyt. Kuvassa toisen kasvatuserän mukainen hyllyjärjestys, jossa ylähyllyllä korkean intensiteetin valokäsittely (LP300), keskihyllyllä punaisen ja sinisen LED-valojen yhdistelmä (LED300) ja alahyllyllä matalan intensiteetin käsittely (LP170).

Kuva 3. Vasemmalla on käsittelyissä LP170 ja LP300 käytetyn loisteputkivalaisimen spektri. Kuvassa ohuena vihreällä näkyvä viiva kuvaa kasvatuskokeen LED-valotuksen (LED300) spektriä. Oikeanpuoleisessa kuvassa kokeessa käytetyn LED-valotuksen (LED300) spektri. Spektrit mitattiin Ocean SR-spektrometrillä (Ocean Insight, USA). Kuvat ovat kuvakaappauksia Ocean Insight-ohjelmasta.

Kuva 4. Valokäsittelyjen (LP170, LP300 ja LED300) paikat olosuhdekaappien hyllyillä eri kasvatuserissä. Kukin valokäsittely oli kerran jokaisella kasvatushyllyllä.

Kuva 5. Tuorepainojen keskiarvot ja keskihajonnat (g) matalan intensiteetin valokäsittelyssä (LP170), korkean intensiteetin loisteputkivalaisussa (LP300) ja LED-valokäsittelyssä (LED300) (n=6).

Kuva 6. Kuivapainojen keskiarvot ja keskihajonnat matalan intensiteetin valokäsittelyssä (LP170), korkean intensiteetin loisteputkivalaisussa (LP300) ja LED-valokäsittelyssä (LED300) (n=6).

Kuva 7. Kokonaisfenolipitoisuuksien keskiarvot ja keskihajonnat matalan intensiteetin valokäsittelyssä (LP170), korkean intensiteetin loisteputkivalaisussa (LP300) ja LED-valokäsittelyssä (LED300) (n=6).

1 Johdanto

Globaali ruoantuotanto on suurien haasteiden edessä. Väestönkasvu lisää ruoan kulutusta samalla, kun viljelyyn soveltuva pinta-ala ja puhdas vesi ovat monin paikoin maapallolla vähentyneet. Samaan aikaan epäterveellinen ruokavalio aiheuttaa terveysongelmia. Vertikaaliviljelyä eli kerrosviljelyä, josta englanniksi käytetään myös nimitystä kasvitehdas (plant factory) tai käsitettä keinovalotettu kasvitehdas (plant factory with artificial lightning, lyhenne PFAL), on esitetty yhdeksi ratkaisuksi näihin haasteisiin. Vertikaaliviljelmä on suljettu järjestelmä, jossa pystytään saamaan suuri sato pienellä viljelypinta-alalla. Tällöin veden, lannoitteiden, kasvinsuojeluaineiden ja energian käyttö on resurssitehokasta. (Kozai, 2018, ss. 4–22) Lisäksi LED-valotuksen avulla on mahdollista sekä parantaa kasvatettavien kasvien ulkonäköä, makua ja ravintoainetiheyttä että vähentää niissä mahdollisesti olevien haitallisten yhdisteiden määrää (Holopainen ym., 2018).

Monet lehtivihannekset ja yrtit soveltuvat hyvin kerrosviljelyyn, sillä niistä saadaan satoa nopeasti ja ne sisältävät runsaasti erilaisia funktionaalisia eli terveysvaikutteisia yhdisteitä. Vihreiden lehtivihannesten terveellisyys koostuu useasta asiasta. Ne sisältävät yleensä runsaasti vitamiineja, eri kivennäis- ja hivenaineita sekä kuitua, mutta vain vähän energiaa. Näiden lisäksi ne sisältävät paljon muita yhdisteitä, joista osa, kuten fenolisiin yhdisteisiin kuuluvat flavonoidit, ovat tutkitusti terveysvaikutteisia. Tässä tutkimuksessa funktionaalisilla yhdisteillä tarkoitetaan sekundaarimetaboliitteja eli bioaktiivisia yhdisteitä, joita kasvi alkaa muodostaa, kun sen täytyy yrittää suojautua jotain sen kasvua ja kehitystä uhkaavaa tekijää kuten kuivuutta vastaan (Keskitalo, 2001, s. 14). Näistä yhdisteistä käytetään myös nimeä fytokeemikaalit (Taulavuori ym., 2018).

Tässä opinnäytetyössä keskitytään valon intensiteetin ja spektrin vaikutuksiin lehtimangoldin (*Beta vulgaris* ssp. *vulgaris* var. *cicla*) versojen kokonaisfenolipitoisuuteen.

Tutkimuskysymyksenä oli, vaikuttaako valon intensiteetti ja spektri lehtimangoldin miniversojen kasvuun ja kokonaisfenolipitoisuuteen. Koska aiempaa tutkimusta valon vaikutuksesta lehtimangoldin versojen kasvuun ja fenolisten yhdisteiden tuottoon ei löytynyt, tutkimuskysymyksiin haettiin vastausta kasvatuskokeessa. Kokeessa käytettiin loisteputkivalaisimia, joissa oli kaksi eri intensiteettiä, 170 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ (LP170) ja 300 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ (LP300). Lisäksi korkeammassa valon intensiteetissä versoja kasvatettiin LED-valotuksessa spektrissä, joka oli yhdistelmä sinistä ja punaista aallonpituutta (LED300). Tämän opinnäytetyön kirjallinen osuus oli osa HAMK Bio-tutkimusyksikön ja SLU:n Plant-

Factories-yhteishanketta, jossa rahoittajana oli Åforsk. Kokeellinen osuus tehtiin osana Smart Food Security-hanketta.

2 Valon vaikutus kasvien kehitykseen

Valoa koskevia käsitteitä on paljon, sillä valo on fysikaaliselta luonteeltaan ainutlaatuinen. Valo on yhtä aikaa sekä hiukkasista eli fotoneista muodostuvaa energiaa että aaltoliikettä, jota käsitellessä puhutaan valon eri aallonpituuksista eli spektreistä (Teiz & Zeiger, 2006, s. 156).

Kasvi tarvitsee valoenergiaa yhteyttämiseen eli fotosynteesiin. Fotosynteesi on kasvien kasvun perusreaktio, jossa valoenergian voimalla vesi ja hiilidioksidi muuttuu sokeriksi ja hapeksi. Valon vaikutuksesta kasvissa tapahtuu myös monia muita reaktioita kuin yhteyttäminen. Valon voimakkuus eli intensiteetti, valon laatu eli spektri sekä valon määrä eli valojakson pituus vaikuttavat kasvin kasvuun, fotosynteesin nopeuteen ja kukkimiseen (Järvinen ym., 2018, ss. 54–61.) Myös viljelyssä käytettävien valon aallonpituuksien keskinäiset suhteet vaikuttavat kasvien kasvuun ja kehitykseen (Kaukoranta ym., 2017).

2.1 Valon voimakkuus eli intensiteetti

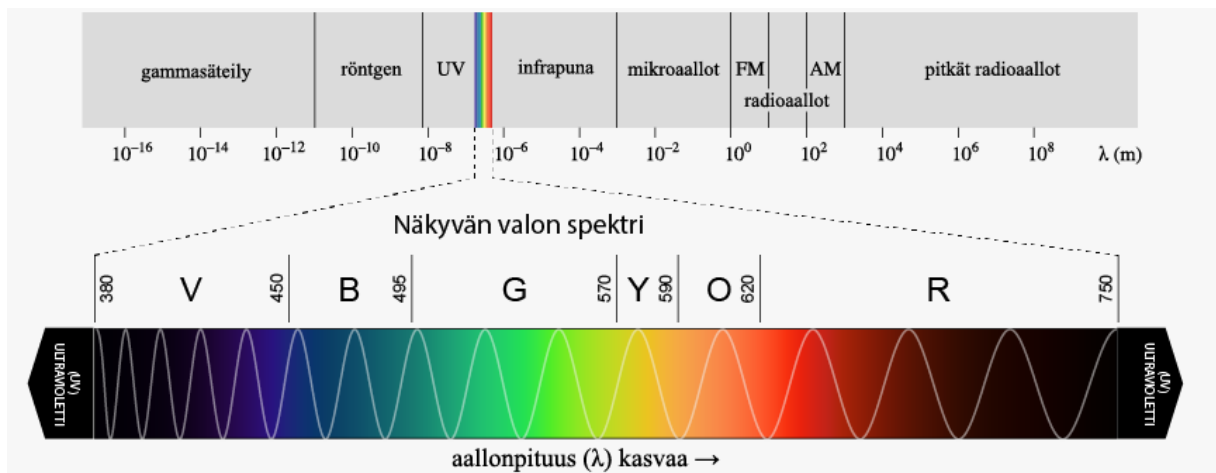
Valon voimakkuus eli intensiteetti kertoo siitä, kuinka paljon fotonihukkasia eli energiaa valosäteily sisältää. Valon voimakkuuden määrällä on suora vaikutus kasvin kasvuun. Kasvu on sitä voimakkaampaa, mitä enemmän kasvit saavat valoa. Tämä pitää kuitenkin paikkansa vain tiettyyn rajaan asti. Fotosynteesin nopeus kasvaa kyllästyspisteeseen saakka. Kyllästyspisteen jälkeen valon voimakkuuden lisääntyminen alkaa vaikuttaa fotosynteesiin negatiivisesti, mikä hidastaa kasvua. Pitkäaikainen liian voimakas valo vahingoittaa kasvisoluja. (Järvinen ym., 2018, ss. 60–64)

Valon voimakkuutta voidaan mitata erilaisilla mittareilla ja mittayksiköillä riippuen siitä, mistä näkökulmasta valosta ollaan kiinnostuneita. Yleisimmin valon intensiteetin mittaamisessa käytetään fotosynteesissä aktiivisten fotonien virtaa per neliometri (photosynthetic photon flux density, PPF), jonka mittayksikkö on mikromoolia sekunnissa neliölle ($\mu\text{mol/s/m}^2$). Kasvihuoneviljelyssä tyypillinen valon määrä on 50–300 $\mu\text{mol/s/m}^2$. (Järvinen ym., 2018, s. 64.) Vertikaaliviljelyssä yleisesti käytettävä valon intensiteetti on tasolla 150–250 $\mu\text{mol/s/m}^2$ (Kozai, 2018, s.177).

2.2 Valon aallonpituus eli spektri

Valon sähkömagneettisen säteilyn taajuuksista puhuttaessa käytetään termiä aallonpituus ja vastaava mittayksikkö on nanometri (nm). Aallonpituus eli spektri määrittelee valon värin, josta voidaan puhua myös valon laatuna. Fotosynteettisesti aktiivinen säteily eli PAR (photosynthetically active radiation) on se valon aallonpituusväli, jota kasvi pystyy käyttämään yhteyttämisessä. PAR- säteily asettuu välille 400–700 nm ja se on lähes sama, kuin kuvassa 1 esitetty näkyvän valon spektri. (Järvinen ym., 2018, s. 58)

Kuva 1. Sähkömagneettisen säteilyn taajuudet ja näkyvän valon spektri (Cannadb.org, n.d).



Kasvien kasvun ja kehityksen kannalta olennaisimmat aallonpituudet ovat sininen, punainen ja kaukopunainen valo. Sinisen valon aallonpituus on välillä 380–500 nm. Sininen aallonpituus on välttämätön fotosynteesin kannalta ja se säätelee myös fotoperiodisia reaktioita. Sinisellä aallonpituusalueella valoreseptorit (mm. kryptokromit ja fototropiinit) ja klorofyllipigmentit absorboivat valoa tehokkaasti. (Kivimäenpää ym., 2014)

Sinisen aallonpituuden käyttö viljelyssä vaikuttaa kasvin kasvuun ja ulkonäköön sekä sen sisältämiin kemiallisiin yhdisteisiin. Yleistäen voi sanoa, että sininen valo ohjaa kasvin kasvua tiiviimmäksi: sinisessä valossa kasvaneissa kasveissa on lyhyempi nivelväli ja pienemmät lehdet. Sininen valo vaikuttaa myös kasvien ilmarakojen säätelyyn ja siihen, miten ne suuntautuvat valoa kohti. Esimerkiksi kurkun (*Cucumis sativus*) viljelyssä sininen valo hidastaa kasvua, mutta lisää lehtipinta-alaa sekä kasvien painoa (Li & Kubota, 2009). Sininen valo sisältää korkeaaenergistä säteilyä, jolloin kasvien täytyy suojata niiden soluja suojapigmenteillä. Nämä suojapigmentit ovat usein fenoliyhdisteitä kuten flavonoideja. (Holopainen ym., 2018)

Punainen (610–700 nm) ja etenkin syvänpunainen (660 nm) ovat yhteyttämiselle tehokasta valoa. Punainen valo ei kuitenkaan ole yksin käyttökelpoinen kasvien kasvulle, vaan se tarvitsee täydentäjäksi sinistä valoa. Kasveissa esiintyvät proteiinit, fytochromit, vastaanottavat punaista ja kaukopunaista valoa ja vaikuttavat muun muassa siementen itämiseen, kasvin kukinnan virittymiseen, lehtien vanhenemiseen ja kasvin pituuskasvuun. (Kaukoranta ym., 2016)

Kaukopunainen valo (700–800 nm) on virallisesti infrapunasäteilyä, mutta kasvitieteessä se erotetaan omaksi aallonpituudekseen. Vaikka kasvi ei pysty käyttämään kaukopunaista valoa yhteyttämisessä, kaukopunainen valo ja sen suhde punaiseen valoon vaikuttaa kasvien muotoon ja kehittymiseen. (Järvinen ym., 2018, ss.55–58) Mikäli kasville annetaan suhteellisesti enemmän kaukopunaista kuin punaista valoa, kasvin pituuskasvu lisääntyy ja lehdet kasvavat pinta-alaltaan suuremmiksi (Kaukoranta ym., 2016).

2.3 LED-valotus kasvien viljelyssä

LED (light emitting diode) -valaisimia käytetään kerrosviljelyssä, koska ne eivät kuumene niin paljon kuin perinteiset valaisimet. Tämä mahdollistaa kasvien kasvatuksen hyvin lähellä valaisinta. Myös LED-valaisin lämpenee ilman aktiivista jäähdytystä noin 40–50 °C lämpöiseksi, ahtaassa paikassa jopa kuumemmaksi. Siksi viljelyssä käytettävissä LED-valaisimissa on itsessään erilaisia jäähdytinjärjestelmiä, jotka siirtävät valaisimien tuottaman ylimääräisen lämmön ympäröivään ilmaan. (Kaukoranta ym., 2016)

LED-valaisimien tekniikka mahdollistaa intensiteetin ja spektrin muuntelun viljelykasvin mukaan. Tällöin voidaan nopeuttaa kasvua ja sadontuottoa, vaikuttaa kukinnan ajoitukseen, parantaa kasvin ulkonäköä ja jopa makua. Kasvikohtaisesti muokattu spektri muuttaa kasvin sisältämien yhdisteiden määrää ja koostumusta. (Kaukoranta ym., 2016)

3 Kasvien sekundaarimetabolia

Valoenergian vaikutuksesta tapahtuva fotosynteesi on kasvin kasvulle välttämätön reaktio, jolloin puhutaan kasvin primaarimetaboliasta. Primaarimetabolian ohella kasveilla on erilaisia keinoja turvata kasvunsa, mikäli sitä uhkaa jokin stressitekijä. Sellaisia aineenvaihduntareaktioita, jotka suojaavat kasvia stressitilanteessa, kutsutaan kasvin sekundaarimetaboliaksi. Tuhohyönteiset, kuivuus, kuumuus ja liian voimakas tai heikko valosäteily ovat esimerkkejä tekijöistä, jotka voivat uhata kasvin kasvua. Näitä uhkatekijöitä

vastaan kasvit suojautuvat erilaisilla sekundaariyhdisteillä. Sekundaariyhdisteistä käytetään myös käsitettä sekundaarimetaboliitit. (Keskitalo, 2001, ss.14–23)

Valon intensiteetin ja spektrin muutoksilla on havaittu olevan vaikutusta kasvin sekundaarimetaboliaan ja siinä muodostuvien yhdisteiden laatuun ja määrään. On kuitenkin huomattu, että vaikutukset ovat laji- ja jopa lajikekohtaisia (Taulavuori ym., 2018). Myös kasvin kasvuvaihe vaikuttaa sekundaarimetaboliittien määrään. Yleensä nuoret lehdet ja lehtiruodit sisältävät enemmän yhdisteitä kuin vanhat (Keskitalo, 2001, s.24).

3.1 Sekundaarimetaboliitit ja niiden luokittelu

Sekundaarimetaboliitit ovat kemiallisesti monimuotoinen ja hyvin runsaslukuinen ryhmä erilaisia yhdisteitä. Yleensä ne jaotellaan kolmeen ryhmään: fenoliset yhdisteet, terpeenit ja tyypeä sekä rikkiä sisältävät yhdisteet. Sekundaarimetaboliiteilla on erittäin merkittävä rooli kasvien aineenvaihdunnassa, vaikka niillä ei olekaan varsinaisesti osuutta kasvuun ja kehittymiseen. Yhdisteiden tarkoitus on suojata kasveja mm. säteilyltä, tuholaisilta ja taudeilta. Monet sekundaarimetaboliitit ovat hyödyllisiä ihmisen ravitsemuksessa. Joidenkin niistä arvioidaan vaikuttavan estävästi mm. tulehduksiin, allergisiin reaktioihin, bakteereihin ja viruksiin sekä syöpäkasvaimiin. (Keskitalo, 2001, ss.14–30)

Fenoliset yhdisteet sisältävät kemiallisessa rakenteessaan fenoliryhmän eli bentseenirenkaan, johon on liittynyt hydroksyyli-ryhmä (-OH). Kemiallisesti fenoliset yhdisteet ovat hyvin laaja-alainen ryhmä. Siihen kuuluu niin vesiliukoisia kuin veteen liukenemattomiakin yhdisteitä. Kasvit tuottavat fenolisia yhdisteitä metaboliensa sivutuotteena eli ne eivät ole tärkeitä kasvien primaarisen aineenvaihdunnan kannalta (Taiz & Zeiger 2006, 322) Fenoliset yhdisteet voidaan jakaa edelleen mm. flavonoideihin, lignaaneihin, fenolisiin happoihin, tanniineihin ja kumariineihin. Flavonoidit puolestaan voidaan edelleen jaotella ainakin 12 eri ryhmään, esimerkiksi flavonoleihin, isoflavonideihin ja antosyaaneihin. (Keskitalo, 2001, ss. 9–10)

Terpeenit ovat monimuotoinen kasvien primaari- ja sekundaariaineiden ryhmä. Niitä esiintyy etenkin mauste- ja yrttikasvien haihtuvissa öljyissä. Esimerkiksi mentoli kuuluu terpeeneihin. Yksi kasvi voi sisältää kymmeniä erilaisia terpeenejä, jotka ovat tärkeässä osassa mm. kasvin aromin ja maun muodostumisessa. Terpeenit ovat yksi kasvien tutkituimmista yhdisteryhmistä. Esimerkiksi karotenoidit ovat primäärisiä terpenoideja. Karotenoideihin kuuluu monia tunnettuja yhdisteitä, kuten α - ja β -karoteeni, lykopeeni, luteiini ja kryptoksantiini. Terpeeneihin kuuluvat myös mm. K- ja E-vitamiinit. (Keskitalo, 2001, ss. 77–

79) Tyypeä sisältäviä yhdisteitä ovat mm. alkaloidit, amiinit, glykosidit ja glukosinolaatit. Näistä glukosinolaatit ovat tyyppiä lisäksi rikkiä sisältäviä yhdisteitä, joita on mm. Brassicaceae- heimon kasveissa. Kaalikasveilla juuri glukosinolaatit muodostavat niille ominaisen pistävän tuoksun ja maun. (Keskitalo, 2001, ss. 7–10)

3.2 Tutkimuksia valon vaikutuksesta kasvien fenolisiin yhdisteisiin

LED-valotuksen kehittyminen on mahdollistanut viime vuosina tutkimukset, joissa intensiteettiä ja spektriä voidaan muokata hyvin monella tavoin. Tutkimuksissa voidaan käyttää vain yhtä valon aallonpituutta, jolloin puhutaan monokromaattisesta aallonpituudesta. Vain yhden spektrin vaikutuksen tutkiminen antaa mahdollisuuden selvittää paremmin tietyn spektrin yksittäisvaikutusta, mutta tulosten soveltaminen käytännön viljelyyn voi olla vaikeaa, koska monokromaattisuus vaikuttaa kasvien kasvuun voimakkaasti. Yleisempi tapa onkin tutkia erilaisten spektrien yhdistelmiä ja niiden vaikutuksia kasveihin, jolloin usein tutkimuskohteena on kiinnostavien yhdisteiden lisäksi myös valitun spektrin vaikutus kasvuun ja satomäärään. (Kaukoranta ym., 2016)

Lehtimangoldin miniversojen valotusta koskevia aiempia tutkimuksia ei löytynyt, joten tietoja etsittiin muista kasveista, joita kasvatetaan versoiksi. Korkean ($340 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) valon intensiteetin todettiin lisäävän fenolisten yhdisteiden muodostumisessa useimmissa tutkituissa miniversoissa Orlando ym. (2022) tutkimuksessa. Amaranthin (*Amaranthus tricolor*) versoja tutkittaessa havaittiin, että punaisen ja sinisen aallonpituuden yhdistäminen lisäsi fenolisten yhdisteiden määrää, kun taas valon intensiteetin nostolla ei havaittu vaikutusta (Meas ym., 2020).

Kun viinisuolaheinin (*Rumex sanguineus*), basilikan (*Ocimum basilicum*) ja rukolan (*Eruca sativa*) fenolisten yhdisteiden määrää sinisessä ja sinivioletissa valossa tutkittiin, havaittiin, että viinisuolaheinin sisältämien yhdisteiden määrä ei muuttunut kummassakaan valokäsittelyssä, basilikan fenolisten yhdisteiden määrä kasvoi molemmissa käsittelyissä ja rukolan sisältämien fenolisten yhdisteiden määrä kasvoi etenkin sinivioletissa valon spektrissä. (Taulavuori ym., 2016)

Sareptansinapin (*Brassica juncea*) ja mitsuran (*Brassica japonica*) versoja koskevassa tutkimuksessa havaittiin, että nostamalla sinisen valon osuutta saatiin fenolisten yhdisteiden määrä lisääntymään (Brazaitye ym., 2021). Tämä sama havainto on tehty myös mm. basilikalla (Lobiuc ym., 2017) ja sareptansinapilla (Park ym., 2020). Kolme eri Brassicaceae- heimon miniversoja tutkittaessa nousi esille sinisen valon spektrin osuuden lisäämisen

pääasiassa positiivinen vaikutus glukosinolaatteihin, mutta vaikutus oli lajikohtainen (Demir ym., 2023).

4 Lehtimangoldi

Lehtimangoldi (*Beta vulgaris* ssp. *vulgaris* var. *cicla*) on Amaranthaceae-heimoon kuuluva lehtivihannes, josta syödään sekä lehti että lehtiruoti. Lehtiruoti voi olla väriltään valkoinen, keltainen, oranssi tai punainen. Lehtimangoldi on läheistä sukua punajuurikkaalle ja punajuurikkaan tavoin se kuuluu nitraattia kerääviin lajeihin. Siksi raakana tulisi käyttää vain nuoria lehtiä ja mangoldia voikin hyvin kasvattaa myös versoiksi. Varhaisimmat merkit mangoldin viljelystä on löydetty Välimeren seudulta ja Persiassa, missä sitä on kasvatettu jo 5000 vuotta sitten. Nykyään lehtimangoldi on suosittu viljelykasvi Keski- ja Etelä-Euroopassa, Yhdysvalloissa ja Pohjois-Afrikassa. (Ninfali & Angelino, 2016)

Suomessa lehtimangoldin kaupallinen viljely on vielä vähäistä. Monet kotipuutarhurit kasvattavat lehtimangoldia sen koristeellisuuden vuoksi joko kasvimaalla tai koristeistutuksissa. Kaupalliseen myyntiin lehtimangoldia viljellään jonkin verran pienillä erikoiskasvien viljelyyn keskittyneillä puutarhoilla ja sitä saattaa nähdä myynnissä esim. Reko-lähiruokapiireissä tai tuottajien myyntitapahtumissa. Suurimpien myymälöiden vihannesosastolta voi satunnaisesti löytää ulkomaista lehtimangoldia, mutta Suomessa sen käyttö on vielä melko uutta ja monille lehtimangoldi on kasvina tuntematon.

4.1 Viljely

Lehtimangoldi on kaksivuotinen kasvi, jota viljellään yksivuotisena. Ensimmäisenä vuotena se tekee suuren lehtiruusukkeen ja toisena vuotena lehdet jäävät pienemmiksi, kun kasvi suuntaa osan kasvuvoimastaan kukkavarren ja siementen tuottamiseen. Lehtimangoldi kasvaa nopeasti, kestää monenlaisia viljelyolosuhteita ja se sietää melko hyvin kylmää syksyllä. Avomaalla viljeltynä se ehtii tuottaa satoa suorakylvettynäkin, mutta lyhyt esikasvatus keväällä nopeuttaa satoa. Lisäksi kylmään maahan kylvettynä se saattaa alkaa muodostaa kukkavartta jo ensimmäisenä vuotena, jolloin sato jää pieneksi. (Kekkilä, n.d.)

Lehtimangoldia voi viljellä pinaatin tavoin, jolloin sitä kasvatetaan tiheässä ja lehtisato kerätään pienenä. Pienenä korjatut lehdet ovat myös paremman makuisia ja ne voi syödä tuoreena. Jos lehtiä poimitaan yksitellen, kylvöksen satokausi pitenee. Lehtimangoldin voi

myös leikata, jolloin se antaa toisen sadon. Lehtimangoldi onkin vähintään yhtä satoisa kuin pinaatti. (Voipio, 2001, ss.252–253)

4.2 Ravintoarvo

Finelin (n.d.) ravintoainetietokannan mukaan lehtimangoldi sisältää runsaasti A-, C-, K- ja E-vitamiinia ja kivennäisaineista etenkin kaliumia ja magnesiumia. Lisäksi lehtimangoldi sisältää runsaasti bioaktiivisia yhdisteitä, kuten karotenoideja ja fenolisia yhdisteitä ja sillä on voimakas antioksidanttivaikutus (Mzoughi ym., 2019; Ivanovic ym., 2019). Monesti terveysvaikutteiset yhdisteet tuovat ruokaan karvasta tai kirpeää makua, mikä koetaan syödessä epämiellyttävänä. Lehtimangoldi on kuitenkin havaittu makuprofiililtaan sellaiseksi, että se miellyttää kuluttajia (Caracciolo ym., 2020).

Lehtimangoldin punaisen värin muodostava yhdiste on betaiini, mikä on ainutlaatuista Beta-suvun jäsenille. Yleensä kasvien punainen väri muodostuu antosyaniineista. Betaiini muodostuu aminohappo tyrosiinista ja antosyaani muodostuu fenyylialaniinista. (Goldman, 2020, s.400)

Mzoughi ym. (2019) artikkelissa analysoitiin mangoldin lehtien sisältämiä yhdisteitä ja todettiin, että lehtimangoldi sisältää niin runsaasti mm. antioksidantteja, että sitä voisi pitää funktionaalisenä elintarvikkeena ja jopa ravintolisänä. Monipuolisen ravintoainekoostumuksen ja korkean ravintoainetiheyden ansiosta lehtimangoldin lisäämistä terveelliseen ruokavalioon suositeltiin.

Lehtimangoldin ravintoaineita, antioksidanttiaktiivisuutta sekä sekundaarimetaboliittien määriä selvitettiin tutkimuksessa, joka tehtiin avomaalla kasvaneella lehtimangoldilla. Tutkimuksen johtopäätöksissä todetaan, että lehtimangoldi on kasvi, jonka säännöllisellä käytämisellä on mahdollisesti terveysvaikutuksia sekä jopa tiettyjä tauteja ennaltaehkäisevää vaikutusta. (Ivanovic ym., 2019.)

Lehtimangoldi on nitraatinkerääjä, joten suurissa määrissä käytettynä on suositeltavaa käyttää sitä ryöpättynä, aivan kuten pinaattia. Nuoret lehdet voi kuitenkin syödä myös raakana. Nitraatin kerääntymistä voi vähentää huomattavasti oikeilla viljelyolosuhteilla. Rungas valo, riittävä kastelu ja niukka typpilannoitus ovat tekijöitä, joilla lehtien nitraattipitoisuutta voidaan alentaa. Versot ja nuoret lehdet sisältävät vähemmän nitraattia kuin täysikasvuisen kasvin lehdet. (Kekkilä, n.d.)

Vaikka lehtimangoldi on monissa maissa todella yleinen lehtivihannes, sitä on tutkittu melko vähän. Lehtimangoldin funktionaalisista yhdisteistä tehdyssä kokooma-artikkelissa havaittiin, että lehtimangoldin versoja koskevia tieteellisiä tutkimuksia ei ole tehty lainkaan. Lisäksi artikkelin johtopäätöksissä todettiin, että lehtimangoldin sisältämistä funktionaalisista yhdisteistä tarvitaan lisätutkimusta. (Gamba ym., 2020.)

5 Aineisto ja menetelmät

Tutkimuksen aineisto kerättiin kasvatuskokeessa, jossa lehtimangoldin miniversoja kasvatettiin olosuhdekaapeissa. Kasvatuskokeen päätyttyä versot punnittiin ja pakastettiin. Pakastetut miniversot kuivattiin ja jauhettiin. Lehtijauheista uutettiin fenoliset yhdisteet kiihdytetyllä liuotinuutolla, jonka jälkeen uutteen kokonaisfenolipitoisuus analysoitiin spektrofotometrisesti. Tulokset analysoitiin tilastollisesti.

5.1 Kasvatuskoe, valokäsittelyt ja koeasetelma

Kasvatuskoe tehtiin 25.1–7.3.2023 olosuhdekaapeissa (Fitoclima S600, Aralab), joissa pystytään säätämään valon intensiteettiä, lämpötilaa, suhteellista ilmakeuhetta ja ilmanvaihdon tehoa. Molemmissa olosuhdekaapeissa on kolme kasvatushyllyä (kuva 2), joille kullekin on mahdollista saada erilainen spektri vaihtamalla kasvatuksessa käytettäviä valaisinputkia. Tässä kokeessa käytettiin loisteputkia (Lumilux Cool White; Osram) sekä LED-valaisimia (System).

Kokeessa oli kolme eri valokäsittelyä. Matalan valointensiteetin käsittelyssä (lyhenne LP170) oli neljä loisteputkea, joista saatava valon intensiteetti oli $\sim 170 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$. Korkean valointensiteetin käsittelyssä (LP300) loisteputkia oli kahdeksan ja niiden intensiteetti oli $\sim 300 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$. Korkean valointensiteetin LED-valokäsittelyssä yhdistettiin kaksi punaista (Hyper Red; 660 nm) ja kaksi sinistä (Deep Blue; 450 nm) LED-putkea ja intensiteetti säädettiin tasolle $\sim 300 \mu\text{mol}/\text{s}/\text{m}^2$

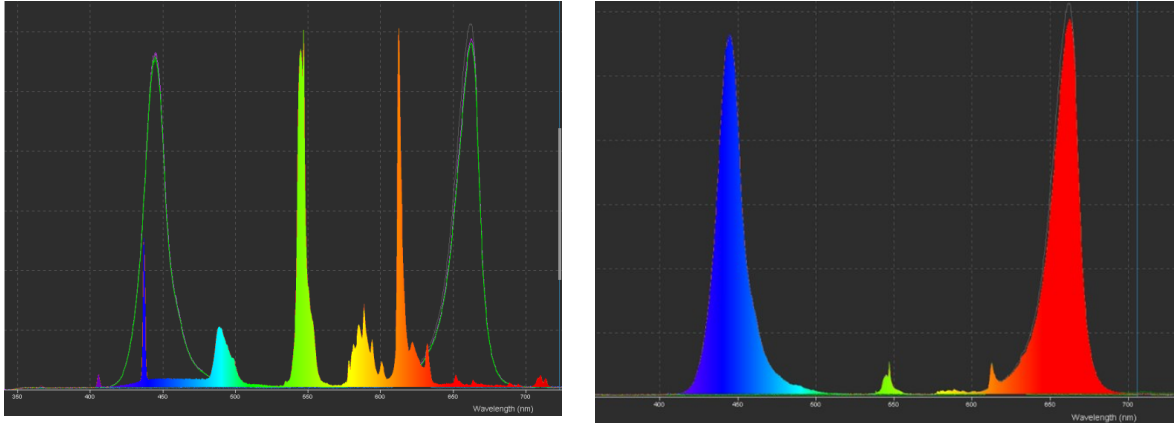
Kuva 2. Olosuhdekaapin kolme kasvatushyllyä ja kokeen valokäsittelyt. Kuvassa toisen kasvatuserän mukainen hyllyjärjestys, jossa ylähyllyllä korkean intensiteetin valokäsittely (LP300), keskihyllyllä punaisen ja sinisen LED-valojen yhdistelmä (LED300) ja alahyllyllä matalan intensiteetin käsittely (LP170). (kuva: Julkunen, 2023)



Ennen kokeen alkua valon intensiteetit tarkistettiin mittauksin. Mittaukset tehtiin Li-Cor LI-1500 Light Sensor Logger -mittarilla. Valon intensiteetti mitattiin kolmesta aiemmin määritetystä mittauspisteestä. Valon intensiteetti mitattiin erikseen jokaiselta hyllyltä, molemmista kaapeista. Koska kaappien sisämateriaalit ovat erilaiset ja heijastavat valoa eri tavalla, valotaso säädettiin kaappikohtaisesti siten, että molempien olosuhdekaappien intensiteetit olivat mahdollisimman samanlaiset.

Kokeen valokäsittelyin spektrit mitattiin Ocean SR-spektrometrillä (Ocean Insight, USA). Kuva 3 havainnollistaa tutkimuksen LED-valokäsittelyn ja loisteputkivalaisimien spektrien eroja. Loisteputkivalaisimen spektri sisältää paljon vihreää ja oranssia valoa, mutta vain vähän punaista ja sinistä.

Kuva 3. Vasemmalla on käsittelyissä LP170 ja LP300 käytetyn loisteputkivalaisimen spektri. Kuvassa ohuena vihreällä näkyvä viiva kuvaa kasvatuskokeen LED-valotuksen (LED300) spektriä. Oikeanpuoleisessa kuvassa kokeessa käytetyn LED-valotuksen (LED300) spektri. Spektrit mitattiin Ocean SR-spektrometrillä. Kuvat ovat kuvakaappauksia Ocean Insight-ohjelmasta.



Kokeessa käytettiin yhtä aikaa kahta olosuhdekaappia ja kasvatuseriä oli peräkkäin kolme. Kokeessa oli siten yhteensä kuusi toistoa. Jokaisessa toistossa oli 42 kasvia, joista reunakasveja oli 16 ja koekasveja 26. Valohyllyjen järjestystä kaapeissa vaihdettiin jokaisen kasvatuserän jälkeen siten, että jokainen valokäsittely oli kerran kullakin hyllytasolla (kuva 4).

Kuva 4. Valokäsittelyjen (LP170, LP300 ja LED300) paikat olosuhdekaappien hyllyillä eri kasvatuserissä. Kukin valokäsittely oli kerran jokaisella kasvatushyllyllä.

	Kasvatuseriä 1	Kasvatuseriä 2	Kasvatuseriä 3
Ylähylly	LP170	LP300	LED300
Keskihylly	LP300	LED300	LP170
Alahylly	LED300	LP170	LP300

5.1.1 Kylvö ja itäminen

Lehtimangoldin siemenet ('Rhubarb Chard', Schetelig Oy) kylvettiin turvepohjaisella, kostutetulla kasvualustaseoksella (VMH60, Kekkilä Oyj) täytettyihin ruukkuihin (Ø 7,5 cm), jotka asetettiin 21-paikkaisiin lokerikkoihin (31 x 52 cm). Olosuhdekaapin yhdelle hyllylle mahtui rinnakkain kaksi 21-paikkaista taimilokerikkoa (kuva 3). Lehtimangoldeja kylvettiin yksi siemen/ruukku. Ruukut kasteltiin ja asetettiin pimeään olosuhdekaappiin itämään. Olosuhdekaapin lämpötila asetettiin itämisen ajaksi 22 °C:n ja ilman suhteellinen kosteus 80 %:n.

Taimet itivät 4–5 vuorokaudessa. Koska lehtimangoldin siemen on moni-ituinen, yhdestä siemenestä itää useita taimia. Jotta lähekkäin kasvavat lehdet eivät varjostaisi toisiaan, ylimääräiset taimet poistettiin ja jokaiseen ruukkuun jätettiin kasvamaan yksi taimi. Itämisen jälkeen hyllyjen valotus säädettiin tutkittavalle tasolle.

5.1.2 Kasvatusolosuhteet

Itämisen jälkeen olosuhdekaapit ohjelmoitiin niin, että vuorokausittaisen valojakson pituudeksi tuli 16 h ja pimeän jakson pituudeksi 8 h. Valojakson aikana kaapin asetustemperatuurina oli 22 °C ja suhteellinen ilmankosteus 60 %. Pimeäjakson ajaksi lämpötila pudotettiin 19 °C:seen ja ilmankosteus nostettiin 70 %:iin.

Taimia kasteltiin päältä kasteluna puhtaalla vedellä tarpeen ja kasvuvaiheen mukaan, noin joka toinen päivä. Kastelun yhteydessä koeruukkuja siirreltiin satunnaisesti eri kohtiin saman hyllyn taimilokerikoissa, jotta valotuksen mahdollisesta vaihtelusta johtuvat erot eivät vaikuttaisi tuloksiin. Koska kasvatuskoe oli lyhyt, taimia ei lannoitettu kokeen aikana.

5.2 Sadonkorjuu, kasvinäytteiden käsittely ja analysointi

Versojen kasvatusaika kylvöstä sadonkorjuuseen oli 17 vrk. Sadonkorjuu tehtiin valojakson aikana siten, että taimet kasteltiin sadonkorjuupäivän aamuna ja sadonkorjuu suoritettiin samassa järjestyksessä, jossa taimilokerikot oli kasteltu. Reunakasveja (16 kpl/hylly) ei otettu mukaan analyysiin.

Taimet leikattiin kasvualustan pinnan tasolta eli sekä varsi että lehdet otettiin mukaan analyysiin. Yhdessä käsitellyn taimia käsiteltiin yhtenä koontinäytteenä eli 26 miniversoa

kerättiin muoviseen koeputkeen, jonka jälkeen putki suljettiin ja tuorepaino punnittiin välittömästi sadonkorjuun jälkeen. Punnituksen jälkeen näyteputket säilytettiin pakastimessa -80 C°:ssa.

Pakastamisen jälkeen näytteet kylmäkuivattiin 26 tunnin ajan kaappimallisella kylmäkuivurilla (Christ Alpha 1–4 LSC, Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Saksa), jossa kuivuminen tapahtuu sublimaatiolla alhaisessa ilmanpaineessa. Kylmäkuivaus aiheuttaa materiaalille ja sen sisältämille yhdisteille vähemmän vaurioita kuin muut kuivausmenetelmät. Kuivatuista näytteistä määritettiin kuivapainot ja ne jauhettiin hienoksi jauheeksi pakastimessa jäähdytetyllä morttelilla.

5.2.1 Kiihdytetty liotinuutto

Uutto tehtiin kiihdytetyllä liotinuutolla, Dionex ASE 350 -uuttolaitteella (ThermoFisher, USA). Kiihdytetyssä liotinuutossa lämpötilan ja paineen yhdistelmä nopeuttaa ja tehostaa uuttoprosessia. Kiihdytettyyn liotinuuttoon tarvittava näytemäärä (0,1 g) punnittiin ja näytejauhe sekoitettiin piimaahiekkaan (Dionex™ ASE™ Prep DE, Thermo Scientific Inc, USA). morttelissa ja 20 ml:n uuttosolu täytettiin seoksella. Uuttoliuoksena käytettiin 96 %:sta etanolia, uuttolämpötila oli 110°C., uuttoaika 10 minuuttia, paine 1500 psi ja uuttokierroksia oli kolme (Repajic ym. 2020).

Uuttamisen jälkeen uutteen tilavuus tasattiin 50 ml:n mittapulloon. Mikäli uutetta oli yli 50 ml, ylimääräinen neste haihdutettiin typpihaihduttimella. Mikäli uutetta oli vähemmän kuin 50 ml, siihen lisättiin 96-prosenttista etanolia niin paljon, että uutteen kokonaismäärä oli 50 ml.

5.2.2 Kokonaisfenolipitoisuuden määrittäminen

Kokonaisfenolipitoisuuden analysoinnissa käytettiin Folin-Ciocalteun menetelmää (Repajic ym. 2020). Folin-Ciocalteun testissä värimuodostusreaktio perustuu alkaalisen kupariliuoksen reaktioon peptidisidosten kanssa, jossa muodostuu sininen väri. (Turpeenoja, 2003, s.182)

Fenolipitoisuuden analysointia varten sekoitettiin 200 µl näytettä, 1 ml Folin-Ciocalteu-reagenssia laimennettuna suhteessa 1:10 ja 0,8 ml 7,5 %:sta natriumkarbonaattia (Na₂CO₃). Aineet sekoitettiin huolellisesti koeputkisekoittimella (IKA MS2 Minishaker) ja seisotettiin 30 minuuttia pimeässä. Sen jälkeen näytteet sekoitettiin huolellisesti uudelleen ja liuos pipetoitiin Eppendorf-putkiin, joissa liuosta sentrifugoitiin 6000 rpm:n nopeudella viiden minuutin ajan

sakan erottamiseksi. Liuos pipetoitiin muovisiin kyvetteihin varovasti niin, että pohjalle erottunut sakka ei sekoittunut näyteliuokseen.

Näytteiden kokonaisfenolipitoisuus määriteltiin Shimadzu UV-1800 -spektrofotometrillä (Shimadzu Corporation, Japani) aallonpituudella 765 nm. Ennen varsinaisia mittauksia spektrofotometri nollattiin RO-vedellä. Standardisuorana käytettiin gallihappokantaliuoksesta 100 mg/100 ml (Extrasynthese, Ranska) Folin-Ciocalteu-menetelmän mukaisesti valmistettua standardisuoraa, jonka gallihappopitoisuudet olivat 5, 10, 20, 30, 40, 100, 150 ja 200 mg GAE/l. Niitä vastaavat absorbanssit olivat 0,065, 0,130, 0,253, 0,371, 0,483, 1,123, 1,588 ja 2,112. Standardisuoran perusteella spektrofotometri mittasi uutesta kokonaisfenolipitoisuuden yksikössä mg GAE/l (GAE = gallihappoekvivalentti). Siitä laskettiin kuivapainoon suhteutettu kokonaisfenolipitoisuus yksikössä mg GAE/g kp käyttämällä kaavaa:

$$C = cV/m$$

C = fenolisten yhdisteiden kokonaismäärä (mg GAE/g)

c = standardisuoran perusteella määritetty gallihappopitoisuus (mg GAE/l)

V = uutteen tilavuus (ml)

m = näytteen paino (g)

5.3 Tulosten käsittely ja tilastollinen analysointi

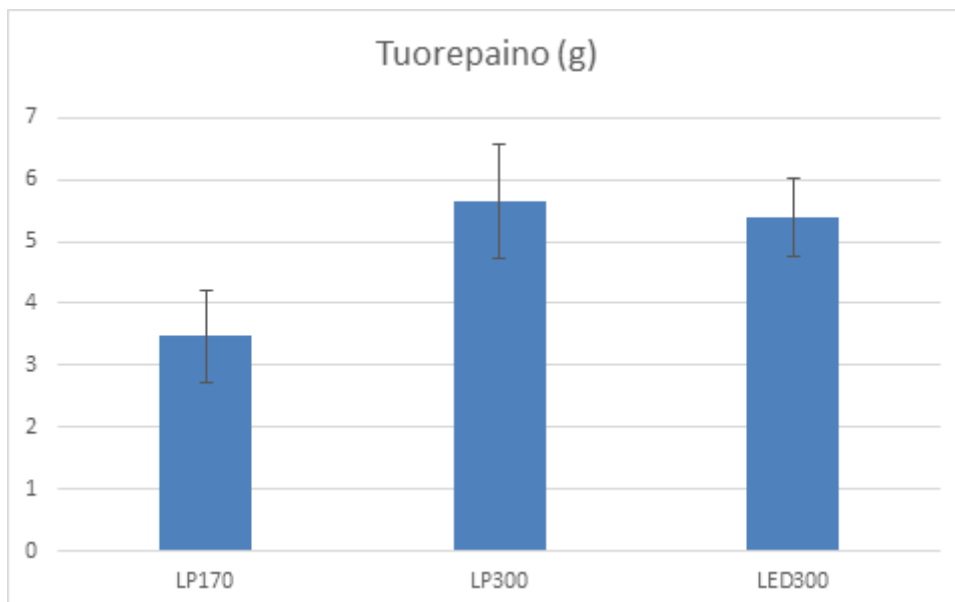
Näytteiden tuore- ja kuivapainoille sekä kuivapainoon suhteutetulle kokonaisfenolipitoisuudelle laskettiin kuuden toiston keskiarvot ja keskihajonnat ($\bar{x} \pm s$) Microsoft Excel -taulukkolaskentaohjelmalla. Tuore- ja kuivapainojen sekä fenolipitoisuuksien tulokset analysoitiin JMP Pro 16- tilasto-ohjelmalla. Tulosten normaalijakautuneisuus analysoitiin Shapiro-Wilkin testillä ja varianssien yhtäsuuruus Levenen testillä.

Testien perusteella tulokset täyttivät parametrisen testin käytön kriteerit, joten niiden analysoimisessa käytettiin yksisuuntaista varianssianalyysia (Anova) ja parivertailuissa Studentin t-testiä. Merkitsevyytasona kaikissa testeissä käytettiin $p < 0,05$.

6 Tulokset

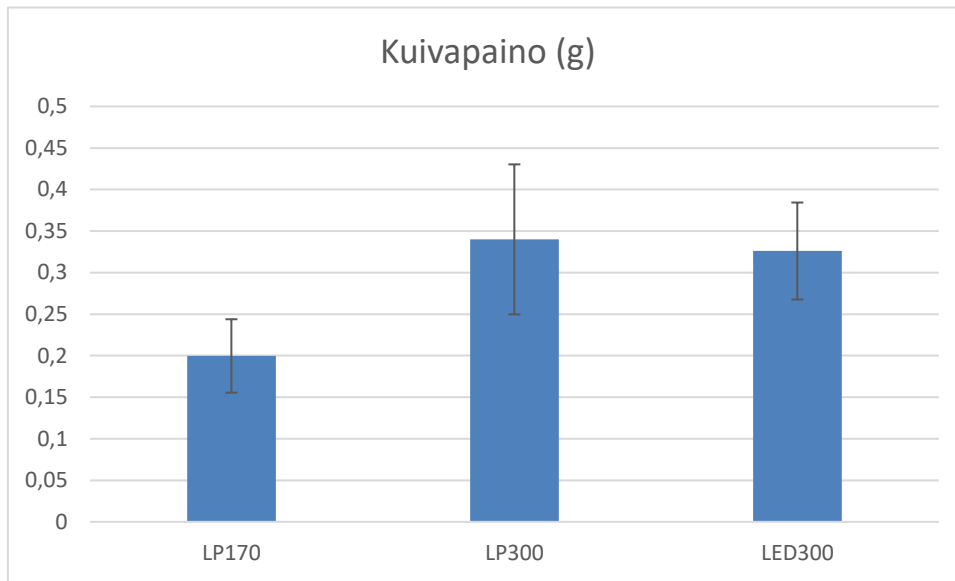
Käsittelykohtaisesti tarkasteltuna eniten biomassaa, keskimäärin 5,6 g ($\pm 0,9$ g), tuottivat korkean intensiteetin loisteputkivalotuksessa (LP300) kasvaneet mangoldit (kuva 5). Lähes yhtä paljon biomassaa, 5,4 g ($\pm 0,6$ g), saatiin LED-valotuksessa (LED300) kasvaneista mangoldeista. Matalassa valon intensiteetissä (LP170) kasvaneet kasvit painoivat keskimäärin 3,5 g ($\pm 0,7$ g). Korkeassa intensiteetissä sekä loisteputki- että LED-valotuksessa kasvaneiden versojen tuorepaino erosi matalassa intensiteetissä kasvaneista ($p < 0,05$), mutta keskenään niiden välillä ei ollut eroa ($p > 0,05$).

Kuva 5. Tuorepainojen keskiarvot ja keskihajonnat (g) matalan intensiteetin valokäsittelyssä (LP170), korkean intensiteetin loisteputkivalotuksessa (LP300) ja LED-valokäsittelyssä (LED300) ($n=6$).



Alhaisin kuivapaino oli matalan intensiteetin (LP170) kasveilla, joiden kuivapaino oli keskimäärin 0,2 g ($\pm 0,04$ g). Matalin kuivapaino, 0,34 g ($\pm 0,09$ g), oli korkean intensiteetin loisteputkivalotuksessa (LP300) kasvaneilla kasveilla. LED-valotuksen (LED300) miniversojen kuivapainot olivat hieman alhaisempia kuin korkeassa intensiteetissä kasvaneiden, mutta suurempia kuin matalassa intensiteetissä kasvaneet (Kuva 6). LP170-käsittelyn kasvien kuivapaino erosi tilastollisesti merkitsevästi ($p < 0,05$) sekä korkean intensiteetin valokäsittelyssä (LP300) kasvaneiden kasvien kuivapainoista että LED-valotuksessa (LED300) kasvaneiden miniversojen kuivapainosta, joka oli 0,29 g ($\pm 0,06$ g). Keskenään näiden kahden käsittelyn (LP300 ja LED300) välillä ei ollut eroa ($p > 0,05$).

Kuva 6. Kuivapainojen keskiarvot ja keskihajonnat matalan intensiteetin valokäsittelyssä (LP170), korkean intensiteetin loisteputkivalaisussa (LP300) ja LED-valokäsittelyssä (LED300) (n=6).



6.1 Versojen visuaalinen arviointi

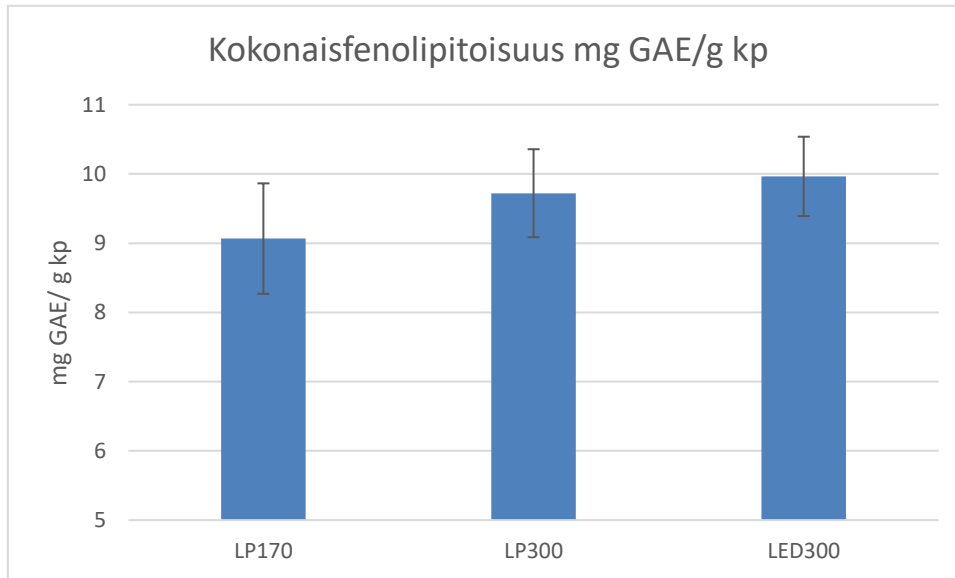
Sadonkorjuun yhteydessä havaittiin, että matalassa valon intensiteetissä (LP170) kasvaneiden taimien varret olivat pidempiä ja lehdet pienempiä kuin muissa käsittelyissä. Korkeassa intensiteetissä loisteputkivalossa (LP300) kasvaneiden taimien lehdet olivat isoimpia ja taimet kasvoivat tasaisemmin kuin muissa käsittelyissä. LED-valotuksessa (LED300) kasvaneiden taimien varret olivat selkeästi lyhyempiä ja paksumpia kuin muissa käsittelyissä ja versot kehittyivät muita nopeammin, sillä osaan taimista ehti alkaa kehittyä ensimmäisiä varsinaisia kasvulehtiä. Missään käsittelyssä ei koehen lopussa havaittu kasvupoikkeuksia esim. lehtivaurioita.

6.2 Kokonaisfenolipitoisuus

Keskimäärin korkein kokonaisfenolipitoisuus, 9,96 mg ($\pm 0,6$ mg) GAE/g kp, oli LED-valokäsittelyn (LED300) saaneissa näytteissä (kuva 7). Matalan intensiteetin valokäsittelyssä (LP170) kasveissa kokonaisfenolipitoisuus oli alhaisin, 9,07 mg ($\pm 0,8$ mg) GAE/g kp. LED300 ja LP170 käsittelyiden välinen ero oli tilastollisesti merkitsevä ($p < 0,05$). Korkean intensiteetin loisteputkivalaistuksessa (LP300) kasvaneiden miniversojen kokonaisfenolipitoisuus oli 9,72

mg ($\pm 0,6$) GAE/g ja se ei eronnut LED-valotuksessa kasvaneista ($p > 0,05$) eikä käsittelystä LP170 ($p > 0,05$).

Kuva 7. Kokonaisfenolipitoisuuksien keskiarvot ja keskihajonnat matalan intensiteetin valokäsittelyssä (LP170), korkean intensiteetin loisteputkivalaisussa (LP300) ja LED-valokäsittelyssä (LED300) (n=6).



7 Tulosten tarkastelu

Tässä opinnäytetyössä korkeampi valointensiteetti lisäsi mangoldinversojen kasvua sekä käytettäessä loisteputkivalaisimia että LED-valotuksessa. Korkean valointensiteetin kasvua lisäävä vaikutus oli odotettua, koska valon määrän lisääntyessä fotosynteesi tehostuu ja kasvin kasvu nopeutuu (Järvinen ym., s.61). Tämä vaikutus tulee esille myös aiemmissa tutkimuksissa, joissa on käytetty erilaisia valon intensiteettejä. Esimerkiksi basilikan versot kasvoivat paremmin valon intensiteettiä nostettaessa, mutta toisaalta tutkimuksessa havaittiin, että lehtivaurioiden määrä lisääntyi korkeassa intensiteetissä (Hikosaka ym., 2021). Tässä kasvatuskokeessa lehtivaurioita ei esiintynyt, mikä saattaa johtua lyhyestä kasvatusajasta tai kertoa siitä, että mangoldinversot kestävät hyvin korkeaa valon intensiteettiä.

Tämän kasvatuskokeen perusteella matala valon intensiteetti vähensi paitsi mangoldinversojen kasvua myös niiden fenolisten yhdisteiden tuottoa. Sama havainto on tehty aiemmin myös Orlandon ym. (2022) tutkimuksessa, jossa kasvatettiin kuutta versolajia

eri valointensiteeteissä ja spektreissä sekä Samuolienén ym. (2013) kokeessa, jossa kasvatettiin Brassicaceae- suvun versoja eri valon intensiteeteissä (110–550 $\mu\text{mol/s/m}^2$). Viimeksi mainitussa tutkimuksessa todettiin, että useimpien lajien kasvulle optimaalinen intensiteetti oli joko 320 tai 440 $\mu\text{mol/s/m}^2$. Matalammilla intensiteeteillä sekä kasvu että fenoliset yhdisteet jäivät pääosin alhaisimmiksi, mutta korkein intensiteetti ei enää tuottanut positiivista vaikutusta kasvuun ja kasvien sisältämiin fenolisiin yhdisteisiin.

Tässä opinnäytetyössä käytetty punaisen ja sinisen spektrin yhdistäminen on Appolloni ym:n (2022) koontitutkimuksen mukaan yleisin valoyhdistelmä tutkittaessa versojen ja muiden terveysvaikutteisten kasvien sisältämiä sekundaarimetaboliitteja. Punaisen ja sinisen yhdistelmä vaikuttaa myös olevan monelle kasvilajille se, joka lisää fenolisten yhdisteiden määrää. Koontitutkimuksen johtopäätöksissä huomautetaan kuitenkin, että yhdestä kasvilajista saatuja tuloksia on mahdoton yleistää muihin lajeihin, sillä tulokset vaihtelevat lajista ja lajikkeesta riippuen paljon. (Appolloni ym., 2022)

Tämän kasvatuskokeen tulosten perusteella punainen ja sininen spektri yhdistettynä korkeaan valon intensiteettiin lisää fenolisten yhdisteiden määrää lehtimangoldin miniversoissa verrattuna matalassa valon intensiteetissä kasvaneisiin miniversoihin. Huomattava on kuitenkin, että korkean valointensiteetin käsittelyjen kokonaisfenolipitoisuudet eivät keskenään eronneet toisistaan tilastollisesti merkitsevästi, joten sinisen ja punaisen fenolien tuottoa lisäävää vaikutusta ei voitu osoittaa yksiselitteisesti. Punaisen ja sinisen spektrin yhdistelmä on kuitenkin muissa kasvilajeissa, esimerkiksi basilikan (*Lobiuca* ym., 2017) ja vuonankaalin (*Valerianella locusta* var. *oleracea*) (Długosz-Grochowska ym., 2016) versoissa, vaikuttanut positiivisesti kokonaisfenolipitoisuuteen. Toisaalta eräässä kyssäkaalin (*Brassica oleracea* var. *gongylodes*) versoja koskeneessa tutkimuksessa havaittiin, että sininen spektri yksin oli tehokkaampi kokonaisfenolipitoisuuden lisääjä kuin sininen ja punainen yhdistettynä (Sathasivam ym., 2023). Tämän kasvatuskokeen perusteella ei voidakaan vielä tehdä johtopäätöksiä siitä, että valittu sinisen ja punaisen yhdistelmä olisi lehtimangoldin versojen fenolipitoisuuden lisäämisessä tehokkain.

Kasvuun ja fenolisten yhdisteiden määrään vaikuttavat valotuksen lisäksi myös muut kasvutekijät. Esimerkiksi kuivuusstressi ja niukka typpilannoitus on mainittu tekijöinä, jotka voivat vaikuttaa fenoliyhdisteiden muodostumiseen (Holopainen ym. 2018). Koska kasvatuskoe oli melko lyhyt, kasveja ei lannoitettu kokeen aikana ja kastelu pystyttiin hoitamaan tasaisesti. Siksi voidaan olettaa, että muilla tekijöillä kuin valotuksella ei ollut vaikutusta kokeessa havaittuihin eroihin, vaan ne johtuivat valokäsittelyiden vaikutuksesta.

8 Johtopäätökset ja pohdinta

Tässä opinnäytetyössä havaittiin, että lehtimangoldin miniversojen reaktio valon intensiteetin ja spektrin muutokseen oli samantyyppinen kuin useimmissa aiemmissa muiden kasvilajien versojen kasvatusta koskeneissa tutkimuksissa. Korkeampi intensiteetti lisäsi kasvua sekä käytettäessä loisteputkivalaisimia että LED-valotuksessa.

Tässä tutkimuksessa osoitettiin, että lehtimangoldin miniversojen kokonaisfenolipitoisuuden voi mahdollisesti vaikuttaa kasvattamalla miniversoja korkean intensiteetin valotuksessa, jossa on tavanomaista enemmän punaista ja sinistä aallonpituutta. Pelkästään valon intensiteetin nosto ei tuonut tilastollisesti merkittävää eroa suhteessa matalan intensiteetin valokäsittelyyn, mutta toisaalta tilastollista eroa myöskään korkean intensiteetin loisteputkivalaisun ja korkean intensiteetin LED-valotuksen välillä ei ollut. Spektrin muutos yhdistettynä korkeaan valon intensiteettiin lisää mahdollisesti fenolisten yhdisteiden tuottoa, mutta aihe vaatii lisätutkimusta.

Koska valotuksen vaikutuksesta mangoldin miniversojen kasvuun ja kehitykseen ei ollut aikaisempia tutkimuksia, saatiin opinnäytetyössä tehdystä kasvatuskokeesta uutta tietoa, jota voidaan hyödyntää versojen kerrosviljelyssä ja jatkotutkimusten suunnittelussa. Tutkimuksen tulokset herättävät mielenkiintoisia jatkotutkimusaiheita valon intensiteetin ja spektrin vaikutuksesta lehtimangoldin kasvuun ja kokonaisfenolipitoisuuteen. Olisiko esimerkiksi pelkkä valkoisten LED-valaisimien käyttäminen tuottanut samankaltaiset tulokset kuin tässä tutkimuksessa käytetty sinisen ja punaisen spektrin yhdistelmä? Vai olisiko sininen tai punainen valo yksinään toiminut fenolisten yhdisteiden lisääjänä paremmin kuin niiden yhdistäminen? Entä olisiko vielä korkeampi valon intensiteetti lisännyt fenolisten yhdisteiden määrää? Olisi mielenkiintoista tutkia myös sitä, miten fenolisten yhdisteiden määrä muuttuu lehtimangoldin kasvaessa isommaksi eli onko miniversojen kokonaisfenolipitoisuus suurempi kuin pidemmälle kehittyneen kasvin.

Valon vaikutus kasvien sekundaarimetaboliaan on kiehtova tutkimusaihe, sillä siihen liittyy paljon asioita, joita ei vielä tiedetä. Kun uudet tiedot fenolisten yhdisteiden terveysvaikutuksista yhdistetään tietoon siitä, kuinka näiden yhdisteiden tuottoon voidaan vaikuttaa viljelytekniikan muutoksilla, voidaan mahdollisesti tulevaisuudessa kasvattaa hyvältä maistuvia ja houkuttelevan näköisiä terveysvaikutteisia elintarvikkeita ja parantaa sekä ihmisten ravitsemusta että kerrosviljelyn kannattavuutta.

Lähteet

- Appolloni, E., Giuseppina, I., Pennisi, E., Carott, L., Paucek, I., Quaini, S., Orsini, F., and Gianquinto, F. (2022) Beyond vegetables: effects of indoor LED light on specialized metabolite biosynthesis in medicinal and aromatic plants, edible flowers, and microgreens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 102(2) <https://doi-org.ezproxy.hamk.fi/10.1002/jsfa.11513>
- Brazaitytė A., Miliauskienė J., Vaštakaitė-Kairienė, V., Sutulienė R., Laužikė K., Duchovskis P. and Małek, S. (2021) Effect of Different Ratios of Blue and Red LED Light on Brassicaceae Microgreens under a Controlled Environment. *Plants*. 10(4) <https://doi.org/10.3390/plants10040801>
- Cannadb.org (2023) [Kattava kasvatuslamppu opas \(2019\)](#).
- Caracciolo, F., El-Nakhel, C., Raimondo, M., Kyriacou, M.C., Cembalo, L., De Pascale S. and Roupheal, Y. (2020). Sensory Attributes and Consumer Acceptability of 12 Microgreens Species. *Agronomy* 2020. <https://doi.org/10.3390/agronomy10071043>
- Długosz-Grochowska, O., Kołton, A., and Wojciechowska, R. (2016) Modifying folate and polyphenol concentrations in Lamb's lettuce by the use of LED supplemental lighting during cultivation in greenhouses. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.07.020>
- Fineli. (n.d.). *Elintarvikkeiden kansallinen koostumustietopankki*. Haettu 16.1.23. osoitteesta <https://fineli.fi/fineli/fi/elintarvikkeet?q=>
- Gamba, M., Raguindin, P., Asllanaj, E., Merlo, F., Glisic, M., Minder, A., Bussler, W., Metzger B., Kern, H. and Muka, T. (2020). Bioactive compounds and nutritional composition of Swiss Chard (*Beta Vulgaris* L. var. *cicla* and *flavescens*): A Systematic Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. (61)20. <http://dx.doi.org/179910.1080/10408398.2020.326>
- Hikosaka, S., Moriyama, F. and Goto, E. (2021) Effects of Photosynthetic Photon Flux Density and Red/Blue Light Ratio on the Leaf Shape and Concentrations of Functional and Aromatic Compounds in Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.) *The Horticulture Journal* 90(4) <https://doi.org/10.2503/hortj.UTD-273>

- Holopainen J., Kivimäenpää M. and Julkunen-Tiitto R. (2018) New Light for Phytochemicals. Trends in Biotechnology. <https://doi-org.ezproxy.hamk.fi/10.1016/j.tibtech.2017.08.009>
- Ivanović, L., Milašević, I., Topalović, A., Đurović, D., Mugoša, B., Knežević, M. and Vrvic, M. (2019), Nutritional and phytochemical content of Swiss chard from Montenegro, under different fertilization and irrigation treatments. *British Food Journal* 121(2) <https://doi-org.ezproxy.hamk.fi/10.1108/BFJ-03-2018-0142>
- Järvinen, M., Karjalainen, K. ja Vuollet, A. (2018) Kasvihuoneviljely – tuotantotekniikan perusteet. Opetushallitus.
- Kaukoranta, T., Jokinen, K., Näkkilä, J. ja Särkkä, L. 2017. LED-valotusta kasvihuoneeseen. Tutkimustuloksia ja kokemuksia. Luonnonvara- ja biotalouden tutkimus 13/2017. https://jukuri.luke.fi/bitstream/handle/10024/538474/luke-luobio_13_2017%202.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Kekkilä. (n.d.) *Kasvikirjasto – mangoldi*. Haettu 2.9.2023 osoitteesta [Mangoldi - Kekkilä.fi](http://Mangoldi-Kekkilä.fi) (kekkila.fi)
- Keskitalo, M. 2001. Fenolisten yhdisteiden biokemia ja esiintyminen. Teoksessa Hyvärinen H, (toim.) *Kasvipenäiset biomolekyylit – fenoliset yhdisteet ja terpeenit*. Kirjallisuuskatsaus. [MTT:n julkaisuja. Sarja A 100](http://MTT:n_julkaisuja.Sarja_A_100)
- Kozai, T. (2018) Smart plant factory. The next generation indoor vertical farms. Springer. 456 s. [ProQuest Ebook Central - Reader \(hamk.fi\)](http://ProQuest_Ebook_Central-Reader_hamk.fi)
- Li, Q. and Kubota, C. (2009) Effects of supplemental light quality on growth and phytochemicals of baby leaf lettuce. *Environmental and experimental botany* 67(1).
- Lobiuc, A., ym. (2017) Blue and red LED illumination improves growth and bioactive compounds contents in acyanic and cyanic *Ocimum basilicum* L. microgreens. *Molecules* 22(12) <https://doi.org/10.3390/molecules22122111>

- Meas, S., Luengwilai, K. and Thonget, T. (2020) Enhancing growth and phytochemicals of two amaranth microgreens by LEDs light irradiation. *Scientia Horticulturae* (265) <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109204>
- Mzoughi, Z., Chahdoura, H., Chakroun, Y., Cámara, M., Fernández-Ruiz, V., Morales, P., Mosbah, H., Flamini, G., Snoussi, M. and Majdoub, H. (2019). Wild edible Swiss chard leaves (*Beta vulgaris* L. var. *cicla*): Nutritional, phytochemical composition and biological activities. *Food Research International* (119). <https://doi-org.ezproxy.hamk.fi/10.1016/j.foodres.2018.10.039>
- Ninfali, P., and Angelino, M. (2016) Nutritional and functional potential of *Beta vulgaris* *cicla* and *rubra*.
- Orlando, M., Trivellini, A., Incrocci, L. Ferrante, A. and Me, A., (2022) The Inclusion of Green Light in a Red and Blue Light Background Impact the Growth and Functional Quality of Vegetable and Flower Microgreen Species. *Horticulturae* 2022, 8(3), 217. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8030217>
- Park, C., Park, Y., Yeo, H, Kim, J, and Park, S. (2020) Effects of Light-Emitting Diodes on the Accumulation of Phenolic Compounds and Glucosinolates in *Brassica juncea* Sprouts. *Horticulturae* 2020, 6(4), 77; <https://doi.org/10.3390/horticulturae6040077>
- Repajić, M., Ekić, S., Kruk, V. and Dragović-Uzelac, V. (2020) Effect of accelerated solvent extraction conditions on the isolation of bioactive compounds from fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds. *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition* 15 (3-4)
- Samuolienė, G., Brazaitytė, A., Jankauskienė, J., Viršilė, A., Sirtautas, R., Novičkovas, A., Sakalauskienė, S., Sakalauskaitė, J., and Duchovskis, P. (2013) LED irradiance level affects growth and nutritional quality of *Brassica* microgreens. *Open Life Sciences* 8(12). <https://doi-org.ezproxy.hamk.fi/10.2478/s11535-013-0246-1>
- Sathasivam, R., Sang Un P., Jae Kwang K., Young Jin P., Min Cheol K., Bao Van N., and Sook Young L. (2023). Metabolic Profiling of Primary and Secondary Metabolites in Kohlrabi (*Brassica oleracea* var. *gongylodes*) Sprouts Exposed to Different Light-Emitting Diodes. *Plants* 12(6) <https://doi.org/10.3390/plants12061296>

Taulavuori, K., Pyysalo, A., Taulavuori, E. and Julkunen-Tiitto, R. (2018) Responses of phenolic acid and flavonoid synthesis to blue and blue-violet light depends on plant species. *Environmental and Experimental Botany* (150)

Teiz, L. & Zeiger, E. (2006) Plant physiology. 4. painos. Sinauer Associates.

Turpeenoja, L. (2003) Biokemiaa. 4.painos. Opetushallitus.

Voipio, I. (2001) Vihannekset – lajit. viljely, sato. Puutarhaliiton julkaisuja nro 316.