



EESTI MAAÜLIKOOL
Põllumajandus- ja keskkonnainstituut

Rachel Puusta

**MÕNEDE EESTIS KASVATATUD ÕUNTE (*Malus domestica*
Borkh.) ALLERGEENSUS JA ANTIOKSÜDANTIDE
SISALDUS SÕLTUVALT SORDIST JA VILJELUSVIISIST
ALLERGENECITY AND CONTENT OF ANTIOXIDANTS IN
SOME ESTONIAN APPLES (*Malus domestica* Borkh.)
DEPENDING ON CULTIVAR AND CULTIVATION SYSTEM**

Magistritöö

Aianduse õppekava

Juhendajad: dotsent Ulvi Moor, *Ph.D*

teadur Tõnu Tõnutare, *Ph.D*

Estonian University of Life Sciences Kreutzwaldi 1, Tartu 51014		Abstract of Master's Thesis	
Author: Rachel Puusta		Specialty: Horticulture	
Title: Allergenicity and content of antioxidants in some Estonian apples (<i>Malus domestica</i> Borkh.) depending on cultivar and cultivation system.			
Pages: 44	Figures: 6	Tables: 0	Appendixes: 0
Department: Horticulture Field of research: 1.6 agriculture; plant production; horticulture Supervisors: Ulvi Moor, <i>Ph. D</i> Tõnu Tõnutare, <i>Ph. D</i> Place and date: Tartu, 2018			
<p>The cultivation and consumption of apples is widespread, as fresh and delicious fruits are available throughout the year and contain several compounds that are beneficial to health. Apples may also contain allergens, which are less known. Consumers tend to prefer organic products as they are considered healthier. However, organic products may also have higher allergen content, since production of allergens may be induced by the same stress factors as polyphenols and vitamins, which content have been claimed to be higher in organic apples.</p> <p>The aim of the current study was to determine the content of main antioxidants and allergen Mal d 1 in seven apple cultivars grown under organic and conventional cultivation systems. The following cultivars were used in the experiment: 'Krista', 'Sputnik', 'Katre', 'Alesja', 'Cortland', 'Talvenauding' and 'Tellissaare'.</p> <p>Apples grown in organic orchard tended to contain more total phenolics, including flavonoids and had higher antioxidant activity. Cultivation system did not have consistent effect on the level of ascorbic acid and allergen Mal d 1. The effect of cultivation system on the content of antioxidants and allergen Mal d 1 was cultivar dependent. However, as the average of the experiment, the fruit grown in organic orchards contained more ascorbic acid, phenolic compounds, flavonoids and had higher antioxidant capacity. The reason could be related to the stress factors and nitrogen availability. In organic orchards, no plant protection pesticides were used and the trees were fertilized in lesser amount than in conventional orchard. Higher antioxidant capacity of organic apples was a consequence of higher content of phenolic compounds, including flavonoids. The higher the content of these compounds, the higher the antioxidant capacity. Mal d 1 content in apples was more affected by cultivar than cultivation system.</p>			
Keywords: allergen Mal d 1, ascorbic acid, phenolic compounds, flavonoids, antioxidant capacity			

SISUKORD

SISSEJUHATUS	5
1. ÕUNAPUUDE MAHE- JA TAVAVILJELUSVIISIDE ERISUSED	8
2. ÕUNTES LEIDUVAD PEAMISED INIMTERVISELE KASULIKUD ÜHENDID	11
2.1. Polüfenoolid.....	11
2.2. Vitamiinid.....	12
2.3. Orgaanilised happed.....	13
2.4. Mineraalained	14
3. ÕUNTES LEIDUVAD PEAMISED ALLERGEENID	15
4. KATSEMETOODIKA	17
4.1. Katses kasutatud sordid ja nende kasvutingimused	17
4.2. Laboratoorsed tööd.....	18
4.3. Statistiline analüüs.....	20
5. TULEMUSED JA ARUTELU.....	21
5.1. Askorbiinhappe sisaldus	21
5.2. Fenoolsete ühendite üldsisaldus	23
5.3. Flavonoidide üldsisaldus.....	25
5.4. Antioksidatiivne aktiivsus.....	27
5.4.1. Antioksidatiivne aktiivsus FRAP meetodil.....	27
5.4.2. Antioksidatiivne aktiivsus ABTS meetodil	28
5.5. Allergeen Mal d 1 sisaldus.....	30
KOKKUVÕTE.....	32
KASUTATUD KIRJANDUS.....	34
LISAD	43
Lisa 1. Lihtlitsents lõputöö salvestamiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks ning juhendaja(te) kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta.....	44

SISSEJUHATUS

Eesti puuviljakasvatuses on üheks suurima tootmispotentsiaaliga kultuuriks õunapuu, mis on olnud puuviljakultuuride seast kasvupinnalt ja saagi poolest esirinnas (Põllumajandusministeerium 2015). Samuti on õunte kasvatamine ja tarbimine laialt levinud üle kogu maailma (Judzientiené, Misiūnas 2017; Afonso *et al.* 2017). Osaliselt on õunte tarbimine levinud seetõttu, et värsked ja maitsvad viljad on saadaval aastaringelt, teisalt aga seepärast, et neid peetakse tervisele kasulikuks (Konopacka *et al.* 2010).

Õunad sisaldavad rikkalikult inimtervisele kasulikke bioaktiivseid ühendeid, millest peamisteks on polüfenoolid, vitamiinid, orgaanilised happed ja mineraalained (Tsao *et al.* 2015; Bondonno *et al.* 2017; Todea *et al.* 2014). Paljud nendest ühenditest on tugevad antioksüdandid (Paquariello *et al.* 2012). Antioksüdantidel on võime neutraliseerida organismis vabasid radikaale. Terves organismis on vabad radikaalid ja antioksüdandid omavahel tasakaalus. Kui tasakaal muutub ebastabiilseks, ohustavad organismi erinevad terviseprobleemid. Õunad on madala energeetilise väärtusega, seega sobivad need hästi igapäevasesse toiduratsiooni kasulike ühendite allikaks (Kelt *et al.* 1997; O'Neil *et al.* 2015). Nii antioksüdantide sisaldus kui ka vilja antioksüdatiivsed omadused sõltuvad paljudest faktoritest, nagu näiteks sort, kasvatustehnoloogia, koristusaeg, tarbimisküpsus ja säilitamistingimused (Boyer, Liu 2004; Kalinowska *et al.* 2014).

Vähem teatakse õuntes leiduvatest ainetest, mis võivad põhjustada allergilisi reaktsioone (Marzban *et al.* 2005; Fernandes-Cruz *et al.* 2010). Õuntest põhjustatud allergia on Euroopas tõusev probleem, õuna-allergeenid on esinemise järgi 24-st toiduallergeenist neljandal kohal (Pagliarani *et al.* 2013; Burney *et al.* 2010). Õuntes esinevad peamised allergeenid on Mal d 1, Mal d 2, Mal d 3 ja Mal d 4 (Paquariello *et al.* 2012). Õuna-allergeenide allergeensus võib sõltuda sordist, kasvatustehnoloogiast ja kasvatus- ning säilitamistingimustest (Pagliarani *et al.* 2009; Pagliarani *et al.* 2011; Marzban *et al.* 2005; Matthes, Schmitz-Eiberger 2009; Kiewning, Schmitz-Eiberger 2014; Sancho *et al.* 2006). Erinevad allergeenid põhjustavad erineva iseloomuga allergilisi reaktsioone (Kiewning *et al.* 2013). Tootjaid ja tarbijaid huvitab erinevate faktorite mõju õunte allergeensusele, kuna sellise teadmisega on võimalik

vähendada viljade allergeenseid omadusi ja valida tarbimiseks madala allergeensusega sordi õun (Botton *et al.* 2008).

Tarbijad eelistavad üha enam mahetooteid, kuna neid peetakse tervislikumaks (Moor *et al.* 2016). Moor *et al.* (2014) leidsid, et 29,6% küsitatud eestlastest eelistas kindlasti ja 48,1% eelistaksid pigem mahedalt kasvatatud õunu. Samas uuringus selgus veel, et õunte tervislikkus on Eesti tarbijatele väga oluline. Mahedalt kasvatatud õunte tervislikkus seisneb selles, et need ei sisalda taimekaitsevahendite jääke ning neis arvatakse olevat rohkem tervisele kasulikke ühendeid (Chryssohoidis 2000; Malik *et al.* 2009; Mitchell *et al.* 2007). Inimtervisele kasulike ühendite sisaldus võib olla mahetoodetes kõrgem, kuna paljud neist on taime kaitsvad sekundaarsed metaboliidid ja nende sünteesi indutseerivad erinevad stressifaktorid (Malik *et al.* 2009; Mitchell *et al.* 2007). Maheviljeluses on sünteetiliste taimekaitsevahendite kasutamine keelatud, seega võib taim kannatada erinevate stressifaktorite all rohkem kui tavaviljeluses. Samas on allergeenid oma olemuselt täpselt samasugused sekundaarsed metaboliidid ja neid sünteesitakse samal põhjusel (Sancho *et al.* 2006; Marzban *et al.* 2005).

Varasemalt on uuritud Eesti õunasortide mõju erinevate kasulike ühendite ja mükotoksiinide sisaldusele ning analüüsitud neid mõjutavaid tegureid (Nõmm *et al.* 2001; Heinmaa, Moor 2012; Mainla *et al.* 2013. Moor *et al.* 2017). Seni pole Eesti õunasortide allergeensust määratud ja informatsiooni leidub vaid levinud välismaiste õunasortide kohta.

Käesoleva töö hüpoteesiks püstitati järgnev:

- Maheviljeluses kasvatatud õuntes võib võrreldes tavaviljeluses kasvatatud õuntega olla kõrgem antioksidantide sisaldus, aga ka suurem allergeenide sisaldus.

Käesoleva töö eesmärgiks oli teha kindlaks mahe- ja tavaviljeluses kasvatatud seitsme õunasordi peamiste antioksidantide ja allergeen Mal d 1 sisaldus.

Magistritöö autor on tänulik juhendajatele Ulvi Moorile ja Tõnu Tõnutarele, kes aitasid heade nõuannetega katse läbiviimisel ja töö koostamisel. Katsetööd viidi läbi Core Organic Plus programmi projekti FavorDeNonDe raames, mida finantseeris Maaeluministerium. Tänuõnad kuuluvad ka professor Wilfried Scwab'ile ja doktorant Elisabeth Kurze'le, kelle juhendamisel teostati allergeen Mal d 1 määramised Saksamaal Müncheni Tehnikaülikoolis, ning Sihtasutusele Archimedes, kes finantseeris õpirännet Saksamaale. Suur tänu Polli

Aiandusuuringute Keskuse tootmisjuhile Kersti Kahule ja TÜ Vasula Aia eestvedajale Imbi Rohejärvele koostöö eest.

1. ÕUNAPUUDE MAHE- JA TAVAVILJELUSVIISIDE ERISUSED

Eestis kasvatatakse õunapuid nii tava- kui ka maheviljeluses. Eesti Statistikaameti andmetel (2018) oli 2017. aastal Eestis õuna- ja pirnipuude istandike pindala kokku 2522 ha, millest oli maheviljeluses vaid 365,50 ha (lisaks 49,86 ha hetkel ülemineku ajal olevaid alasid) (Mahepõllumajanduse register 2017). Kahe viljelusviisi peamine erinevus seisneb hooldusvõtetes (Kahu 2009). Uute istandike rajamisel on erinevused ka istutuskeemis ja istandiku ettevalmistamises.

Hooldusvõtete peamine erinevus seisneb lubatud taimekaitsevahendite ja väetiste valikus. Tavaviljelusviisis on lubatud kasutada sünteetilisi taimekaitsevahendeid ja mineraalväetisi, ent maheviljeluses on nende kasutamine rangelt reguleeritud (Eesti Mahepõllumajanduse Sihtasutus 2008). Maheviljeluses on lubatud kasutada keskkonnasõbralikke alternatiivseid ehk erinevaid loodusliku päritoluga tõrjevahendeid (näiteks isetehtud taimeleotised). Viimases on olulisel kohal taimekahjustajate ennetav tõrje, sest otsest tõrjet teostatakse alles siis kui tõrjekriteerium on ületatud (Kahu, Luik 2016). Nii tava- kui ka maheviljeluses kasutatakse umbrohu tõrjumiseks reavahede niitmist või kultiveerimist, kuid tavaviljeluses kasutatakse sellele lisaks herbitsiide (Kahu 2009). Maheviljeluses on aga põhirõhk suunatud reavahede multšimisele. Istandiku eelväetamise ajal viiakse mõlema viljelusviisi puhul mulda orgaanilist väetist, kuid tavaviljeluses antakse lisaks ka mineraalväetisi. Kasvuaegne väetamine teostatakse samadel põhimõtetel, kuid tavaistandikus kasutatakse eelkõige mineraalväetisi ja maheistandikus kasutatakse erinevaid orgaanilisi väetisi ning lubatud preparaate.

Tavaviljelusviisis istutatakse puud võimalikult tihedalt, sest kasvutiheduse suurenedes tõuseb hektarisaak (Kivistik 1983). Kahu (2009) andmetel on maheistandiku keskmine saagikus ligikaudu 3000-5000 kg/ha ja tavaistandikus 7000-10 000 kg/ha. Samuti võimaldab tihedam istutuskeem mehhaniseerida töid maksimaalselt (Kivistik 1983). Samas võivad tiheda istutuskeemiga istandikes levida taimekahjustajad (Kahu 2012). Maheviljeluses soovitatakse istutada puud hõredamalt, et vältida sellest tingitud negatiivseid mõjusid (Kahu, Luik 2016). Samas ei tasu puud liiga hõredalt istutada, kuna siis jääb hektarisaak väga

madalaks (Kivistik 1983). Lisaks soovitatakse maheistandikus istutada puude vahele õitsvaid taimi, sest selliselt suureneb bioloogiline mitmekesisus ja kahjurite ning kasurite vahel püsib tasakaal (Kahu, Luik 2016).

Maheviljeluses soovitatakse kasutada mahepõllumajandusliku päritoluga istikuid, kuid kuna neid on Eestis väga vähe saadaval, on Põllumajandusameti nõusolekul lubatud kasutada ka tavatootmisest pärit istikuid (Kahu 2009). Sealjuures on oluline ka sordivalik: maheviljeluses eelistatakse haiguskindlamaid sorte, sest lubatud taimekaitsevahendite hulk on piiratud (Kahu, Luik 2016; Eesti Mahepõllumajanduse SA 2017). Eestis ohustavad õunapuid eelkõige õunapuu-kärntõbi ja puuviljamädanik, seega võiksid sordid olla antud haigustele vähem vastuvõtlikumad. Erinevusena võib välja tuua ka sortide mitmekesisuse, maheistandikus soovitatakse kasvatada vähemalt 4-5 erinevat sorti, et hoida mitmekesisust ja vähendada erinevaid riske (Kahu 2009; Kahu, Luik 2016). Tavaviljelusele ei ole aga piiranguid pandud.

Istandiku rajamisel on oluline pookealuse valik, sest sellest sõltuvad mitmed õunapuu omadused (Kahu, Luik 2016). Pookealuse valiku abil reguleeritakse õunapuude kasvu ja mõjutatakse viljakande algust, saagikust ning saagi kvaliteeti (Univer *et al.* 2012). Tavaviljeluses soovitatakse kasutada nõrgakasvulisi kloonaluseid, mille peamiseks eelisteks on varasem viljakande algus, rikkalikum ja kvaliteetsem saak ning lihtsam puude hooldamine ning saagi koristamine (Haak 2003). Nõrgakasvulised kloonalused võimaldavad tihendada istandikke ja seeläbi suurendada saagikust (Kivistik 1983). Mida madalamad on puud, seda suurem on tööviljakus hooldus- ja koristustöödel. Samas suureneb kasvutugevuse vähenemisega puude nõudlikkus kasvutingimuste ja agrotehnika suhtes. Lisaks eelnevale on nõrgakasvulistel alustel kasvavatel õunapuudel lühem eluiga ja väiksem saak ühe puu kohta ning viljade kehvem säilivus. Eelnevalt nimetatud puuduste tõttu soovitatakse maheistandikus kasutada veidi tugevama kasvuga kloonaluseid kui tavaistandikus (Kahu, Luik 2016).

Polli Aiandusuuringute Keskuse teaduri Kersti Kahu soovitusel ei tohiks maheviljelusviisiga õunapuu istandiku suurus ületada 2-3 hektarit (Kahu 2009). Sealjuures pole tavaviljelusviisiga istandikule piiranguid pandud, kuid suuremad istandikud soovitatakse jagada kvartaliteks, et lihtsustada hooldustööd ja saagikoristust. Samuti on maheistandiku eluiga natukene lühem kui tavaistandikul; Kahu (2009) andmetel on tugevakasvulisel ja

seemikalusel istandike eluiga maheviljeluses 25-30 aastat, keskmisel ja nõrgakasvulisel vegetatiivalusel 12-15 aastat ning tavaistandikes vastavalt 30-35 ja 15-20 aastat.

2. ÕUNTES LEIDUVAD PEAMISED INIMTERVISELE KASULIKUD ÜHENDID

2.1. Polüfenoolid

Polüfenoolsed ühendid on taime sekundaarsed metaboliidid, millest paljud on antioksüdandid või füsioloogiliselt aktiivsed ained, mis on inimesele kasulikud (Chen *et al.* 2006; Andrikopoulos *et al.* 2002). Polüfenoolid on redutseerivad ained ja koos teiste sarnaste ühenditega (vitamiin C, E ja karotenoidid), kaitsevad nad keharakke oksüdatiivse stressi eest (Scalbert, Williamson 2000). Mitmetest epidemioloogilistest uuringutest on selgunud, et polüfenoolid võivad ennetada südame-veresoonkonna ja neurodegeneratiivseid haiguseid ning kartsinogeneesi ja vananemist (He *et al.* 2016; Grosso *et al.* 2017; Liu *et al.* 2014; Liu *et al.* 2017). Samuti on leitud, et õuntes sisalduvad polüfenoolid alandavad kolesterooli (Aprikian *et al.* 2002; Aprikian *et al.* 2001).

Õuntes leidub polüfenoolsetest ühenditest peamiselt flavonoide: kaneelhappe derivaate (klorogeenhape), flavanoole (katehiin, epikatehiin, protsüanidiin), flavanoole (kvertsetiin glükosiid), dihidrohalkoone (floridisiin) ja antotsüaane (tsüanidiin) (Tsao *et al.* 2005; Mainla *et al.* 2009). Kõige enam leidub õuntes flavanoole; Vrhovsek *et al.* (2004) teostatud katses määrati kaheksast rahvusvaheliselt levinud õunasordist erinevaid polüfenoolide ja selgus, et polüfenoolide üldkogusest moodustasid flavanoolid 71-90%. Seda kinnitasid Tsao *et al.* (2005) katsed, mille andmetel on epikatehiin üheks olulisemaks polüfenooliks õunas. Flavanoolidele järgnesid koguseliselt kaneelhappe derivaadid (polüfenoolide üldsisaldusest 4-18%) ja flavanoolid (polüfenoolide üldsisaldusest 1-11%) (Vrhovsek *et al.* 2004). Kõige väiksema osakaalu moodustasid dihidrohalkoonid (2-6%) ja antotsüaniinid (0-3%). Samas leidsid Mainla *et al.* (2011), et erinevate polüfenoolide kontsentratsioon erines sorditi. Eestis kasvatatud õuntega tehtud katsetest selgus, et need sisaldavad kõige enam floridisiini (Mainla *et al.* 2011).

Polüfenoolsete ühendite sisaldus varieerub ühe õuna eri osades (Khanizadeh *et al.* 2008). Reeglina on neid viljakoores tunduvalt rohkem kui viljalihas (Tsao *et al.* 2005). Tsao *et al.* (2005) andmetel sisaldab viljakoor flavonoide kolm kuni kuus korda rohkem kui viljalihas.

Mida rohkem on polüfenoolseid ühendeid, seda suurem on vilja antioksidatiivne aktiivsus. Wolfe *et al.* (2003) andmetel on koorimata õunte antioksidatiivne aktiivsus kõrgem kui kooritud õuntel. Ühenditest oli kõige kõrgem antioksidatiivne aktiivsus antotsüanidiinil ja protsüanidiinidel ning kõige madalam floridsiinil ja kvartsetiini glükosiidil (Tsao *et al.* 2005). Samuti kajastasid Tsao *et al.* (2005) tulemused, et õuna viljakoore ja -liha antioksidatiivse aktiivsuse FRAP väärtustel oli kõige tugevam positiivne lineaarne seos flavanoolidega, eelkõige protsüanidiinidega. Kui võtta arvesse, et flavanoole oli ka koguseliselt kõige enam, võib järeldada, et need on ühed olulisemad antioksidatiivsete omadustega ühendid õunas. Sama ei saa väita antotsüaniini kohta; selle ühendi antioksidatiivne aktiivsus oli küll kõige kõrgem, kuid sisaldus õunas oli vaid 5,4% kogu polüfenoolide kogusest (Tsao *et al.* 2003).

2.2. Vitamiinid

Vitamiinid on erineva keemilise loomuga madalmolekulaarsed ühendid, mis jaotuvad rasvlahustuvateks (vitamiin A, D, E ja K) ja vesilahustuvateks (vitamiin C ja B-grupi vitamiinid) (Kelt *et al.* 1997; Pitsi *et al.* 2017). Õuntes leidub kokku ligikaudu 11 erinevat vitamiini, millest olulisemad on vitamiin C, E ja B ning P-vitamiin (Kelt 1997; Bondonno *et al.* 2017).

Askorbiinhape on üks oluline antioksidante puu- ja juurviljades (Davey *et al.* 2006). Askorbiinhappe rikkad toidud võivad ennetada efektiivselt vähki, südame-veresoonkonnahaiguseid ja aeglustada vananemist. Inimestel puudub võime askorbiinhapet ise sünteesida, seega tuleb seda toiduga tarbida (Li *et al.* 2008). Õuntes leidub seda teiste viljadega võrreldes suhteliselt vähe (Davey *et al.* 2006). Kelt (1997) nimetas õuna keskmise askorbiinhappe sisaldusega puuviljade hulka. Askorbiinhappe sisaldus varieerub suuresti viljaliha- ja koore vahel ning samuti päikselisel ja varjulisel küljel oleva viljakoore vahel (Li *et al.* 2008; Cheng *et al.* 2004). Ma, Cheng (2004) katse tulemused kajastasid, et päikest saanud sordi 'Gala' viljakoor sisaldas rikkalikumalt askorbiinhapet kui varjulisel küljel asuv viljakoor. Samas puudus päikselisel ja varjulisel poolel oleva viljaliha vahel selline erinevus (Li *et al.* 2008). Li *et al.* (2008) katse tulemused kajastasid, et toored õunad sisaldavad

askorbiinhapet rohkem kui küpsed õunad. Samuti on leitud, et talveõunad on askorbiinhappe rikkamad kui sügisõunad (Nõmm *et al.* 2001).

Õuna vitamiinide väärtust tõstab ka P-vitamiini suur sisaldus (Kelt 1997). P-vitamiinide alla kuuluvad eelnevalt kirjeldatud polüfenoolid katehiin ja leukoantotsüanidiin. Askorbiinhape ja P-vitamiinid on omavahel sünergendid ehk nad suurendavad teineteise aktiivsust. Seetõttu on eriti väärtuslikud selliseid sordid, mis sisaldavad mõlemaid vitamiine rikkalikult. Kelt (1997) andmetel on Eesti sortidest selliseks 'Tellissaare'.

Õunad sisaldavad väikesel määral ka karoteeni, mis kuulub kollaste pigmentide, karotenoidide hulka (Nõmm *et al.* 2001). Organismis lõhustuvad karotenoidid seedetrakti mikroflooras vitamiin A-ks ja seega on tema provitamiiniks. Vitamiinil A on organismis mitmeid olulisi funktsioone: oluline roll nägemisel, epiteeli hea seisundi säilitamine ja limaskestade normaalne areng, immuunsüsteemi toetamine ning osaleb paljude rakkude kasvus ja arengus (Blomhoff 1994; Gudas *et al.* 1994; Ross *et al.* 2000). Nõmm *et al.* (2001) andmetel on Eestis kasvatatud õuntes karoteeni 0,03...0,48 mg/100g kohta, mis on rohkem kui kirjanduse andmetel (Toit ja toitumine 1997; Kaarma, Saluste 1990). Kõige rikkalikumalt sisaldas karoteeni sordi 'Liivi Kuldrenett' ja 'Talvenauding' õunad (Nõmm *et al.* 2001).

2.3. Orgaanilised happed

Orgaanilised happed on puuviljade ja marjade oluline koostisosa. Neil on suur roll vilja maitse ja organoleptiliste omaduste kvaliteedis (Liu *et al.* 2016). Nimelt kujuneb vilja maitse suhkrute ja orgaaniliste hapete kontsentratsioonist ja vahekorrast (Hecke *et al.* 2006). Orgaanilistel hapetel on ka mitmeid kasulikke mõjusid inimtervisele. Need parandavad organismi ainevahetust ja stimuleerivad peensoole tegevust ning ärritavad mao seedemahlu, soodustades sellega toidu paremat seedimist ja teiste toidukomponentide omastamist (Kelt *et al.* 1997). Inimene vajab ööpäevas 2g orgaanilisi happed ja neid saab ta põhiliselt puuviljadest ja marjadest.

Orgaanilistest hapetest domineerib õuntes õunhape, mis moodustab hapumaitsetes õuntes 80-90% ja magusamaitsetest 50% hapete üldkogusest (Yamaki 1984). Lisaks õunhappele

sisaldavad õunad sidrunhapet, merivaikhapet, fumaarhapet, malehapet ja vähem oblik- ning salitsüülhapet (Kelt *et al.* 1997; Zhang *et al.* 2010).

Orgaaniliste hapete sisaldus varieerub sorditi (Sun *et al.* 2000). Zhang *et al.* (2010) katse tulemused kajastasid, et õunhappe, merevaikhappe, fumaarhappe ja malehappe sisaldus ($\mu\text{g g}$ värske materjali kohta) tõusis kahe kuni nelja nädala jooksul pärast õitsemist, siis langes järk-järgult kuni vilja valmimiseni. Sidrunhappe ja kiniinhappe sisaldus hakkas langema kaks nädalat pärast õitsemist ning langus kestis kuni saagikoristuseeni (Zhang *et al.* 2010). Sealjuures on orgaaniliste hapete sisaldus värsketes õuntes kõrgem kui säilitusperioodi läbinud õuntes (Sun *et al.* 2000). Kadu võib tuleneda sellest, et orgaanilisi happeid kasutatakse hingamiseks.

2.4. Mineraalained

Õunad on heaks mineraalainete allikaks (Todea *et al.* 2014). Mineraalaineid jaotuvad makroelementideks, mille sisaldus organismis on üle 0,01%, ning mikroelementideks, mille sisaldus organismis on alla 0,01% (Pitsi *et al.* 2017). Mineraalained on organismis vajalikud mitmete füsioloogiliste funktsioonide toimimiseks.

Makroelementidest leidub õuntes kõige rikkalikumalt kaaliumi, lämmastikku, magneesiumi, kaltsiumi, fosforit ja naatriumi (Henriques *et al.* 2010; Manzoor *et al.* 2012; Nachtigall, Dechen 2006). Mikroelementidest on esindatud raud, mangaan, tsink ja vask (Henriques *et al.* 2010). Õuntes leiduv raud on labiilses olekus ja on organismi poolt suhteliselt kergesti omastatav. (Kelt *et al.* 1997). Õunte mineraalainete sisaldus sõltub suuresti ilmastikust, päikselisel aastal on nende sisaldus tunduvalt suurem (Leis *et al.* 2002). Mineraalainete poolest on rikkamad väiksema massi ja tihedama viljalihaga õunad ning koredama viljalihaga õunad sisaldavad neid tunduvalt vähem (Kelt *et al.* 1997). Samuti on leitud, et viljakoores on mineraalaineid rohkem kui viljalihas (Gorinstein *et al.* 2001). Õunte mineraalainete kogused varieeruvad vilja arenemise jooksul, kõige kõrgem sisaldus on pärast õitsemist esialgses viljaalgmes ning kasvades hakkab järk-järgult langema (Nachtigall, Dechen 2006).

3. ÕUNTES LEIDUVAD PEAMISED ALLERGEENID

Allergeenid on oma olemuselt kehvõõrad valgud või keemilised ühendid, mis kutsuvad organismil esile ülitundlikkuse ehk allergia (Kahn, Loit 2009). Allergia võib avalduda erinevate sümptomitena; selleks võib olla astma, allergiline nohu, allergiline silma sidekestapõletik, atoopiline dermatiit, nõgestõbi või anafülaksia. Õuna-allergeenid Mal d 1, Mal d 2, Mal d 3 ja Mal d 4 on erineva allergeense iseloomuga ja omavad isesugust leviku mustrit (Marzban *et al.* 2005; Puehringer *et al.* 2000).

Allergeen Mal d 1 on üks peamisi õuna-allergeene, mis põhjustab allergiat eelkõige Põhja- ja Kesk-Euroopas (Puehringer *et al.* 2000; Puehringer *et al.* 2003). Allergeen kuulub patogeneesiga seotud proteiinide hulka, seega arvatakse sel olevat oluline roll nii taime arengus kui ka kaitses (Puehringer *et al.* 2000; Atkinson *et al.* 1996). Selliste proteiinide sünteesi indutseerivad mitmesugused biotilised ja abiotilised stressifaktorid (Breiteneder, Ebner 2000). Allergeeni Mal d 1 sisaldus õuntes sõltub suuresti sordist, tarbimisküpsusest ja säilitustingimustest (Marzban *et al.* 2005). Mitmed katsetulemused on kajastanud, *et allergeeni Mal d 1 sisaldus tõuseb kasvuperioodi ja säilitusperioodi vältel* (Schmitz-Eiberger, Matthes 2011; Bolhaar *et al.* 2005; Sancho *et al.* 2006; Vieths *et al.* 2002).

Allergeeni Mal d 1 põhjustatud allergia on reeglina seotud õietolmuallergiatega (Vanek-Krebitz *et al.* 1995). Eelkõige põhjustab Mal d 1 ristreaktsiooni kase õietolmu allergeeniga Bet v 1, sest nad on omadustelt sarnased (Krath *et al.* 2009). Kirjanduse andmetel võib kuni 70% kase õietolmu allergiaga patsientidel esineda õuna või teiste toiduallergeenidega kokkupuutel oraalne allergiasündroom (Geroldinger-Simic *et al.* 2011; Fernandez-Rivaz *et al.* 2006; Vieths *et al.* 2002; Kiniciyam *et al.* 2016). Allergia võib avalduda põhiliselt värsket õuna süües, sest allergeen Mal d 1 hävineb toidutöötlemisel (Bolhaar *et al.* 2005).

Allergeen Mal d 2 on harva esinev allergeen, mis põhjustab allergiat nii vahemeremaades kui ka Põhja- ja Kesk-Euroopas (Marzban *et al.* 2005; Fernandez-Rivas *et al.* 2006). Allergeen kuulub samuti patogeneesiga seotud proteiinide perekonda ja sarnaselt allergeenile Mal d 1, kutsuvad selle sünteesi esile mitmed stressifaktorid (Breiteneder 2004). Antud allergeeni leidub rikkalikult küpses õunas, olles jaotunud viljaliha ja -koore vahel ühtlaselt (Hsieh *et al.* 1995; Marzban *et al.* 2005).

Allergeen Mal d 2 võib põhjustada ristreaktsiooni kase õietolmu, kiivi, kirsi ja virsiku allergeenidega (Szamos *et al.* 2011; Palacin *et al.* 2012). Allergeen põhjustab tõsisemaid sümptomeid kui allergeen Mal d 1, sest Mal d 2 proteiinid on stabiilsed ja peavad vastu toidutöötlemisele ja seedimisprotsessile (Szamos *et al.* 2011; Breiteneder, Raudauer 2004).

Allergeen Mal d 3 põhjustab allergilisi reaktsioone põhiliselt Vahemeremaades (Borges *et al.* 2008). Allergeen kuulub patogeneesiga seotud proteiinide perekonda ja selle sünteesi kutsuvad esile peamiselt abiootilised stressifaktorid (Sancho *et al.* 2006).

Allergeen Mal d 3 võib põhjustada allergilist nahalöövet viljakoorega kokkupuutel, seetõttu võib allergeensust vähendada õuna koorimine (Paquariello *et al.* 2012; Borges *et al.* 2006). Samuti võib allergeen kutsuda esile ristreaktsiooni virsiku allergeeniga Pru p 3 (Andersen *et al.* 2011). Allergeen Mal d 3 põhjustab tõsisemaid sümptomeid, nagu allergeen Mal d 2, olles samuti stabiilne ja vastupidav (Marzban *et al.* 2005; Fernandez-Rivas *et al.* 2006). Allergeen Mal d 3 sisaldus tõuseb vilja valmides (Pagliarani *et al.* 2009).

Allergeen Mal d 4 on harva esinev allergeen, mis põhjustab allergiat nii Vahemeremaades kui ka Põhja- ja Kesk-Euroopas (Marzban *et al.* 2005; Fernandes-Rivas *et al.* 2006). Täpsemad geograafilise leviku mustrid pole veel teada. Allergeen kuulub profiliinide hulka (Gao *et al.* 2005).

Allergeen Mal d 4 kutsub esile ristreaktsiooni pirni, kirsi, klementiinis, heina- ja kaseõietolmu allergeenidega (Scheurer *et al.* 2001; Ioro *et al.* 2013; Ebner *et al.* 1995; Fernandez-Rivas *et al.* 2006; van Ree *et al.* 1995). Allergeen Mal d 4 laguneb kergesti toidutöötlemisel ja seedimisprotsessi käigus (Pagliarani *et al.* 2009).

4. KATSEMETOODIKA

4.1. Katses kasutatud sordid ja nende kasvutingimused

Katsed viidi läbi 2016. aastal Saksamaal, Müncheni Tehnikaülikooli looduslike produktide biotehnoloogia (ingl. *biotechnology of natural products*) teaduskeskuse laboratooriumites ja Eesti Maaülikooli mullateaduse laboratooriumis. Katses kasutati 7 erinevat õunasorti:

- `Krista`;
- `Sputnik`;
- `Katre`;
- `Alesja`;
- `Cortland`;
- `Talvenauding`;
- `Tellissaare`.

Kõikide sortide õunad korjati nii mahe- kui ka tavaviljelusega istandikest, mis asusid samas kohas. Sortide `Krista`, `Sputnik`, `Katre` ja `Alesja` puud kasvasid vegetatiivalusel MM106 ning sortide `Cortland`, `Talvenauding` ja `Tellissaare` puud kasvasid Antonovka seemikalusel.

Õunad korjati 2016. aasta sügisel Polli Aiandusuuringute Keskuse ja Vasula mahe- ja tavaviljelusviisidega õunaaedadest. Polli Aiandusuuringute Keskuse õunaaiad asuvad Viljandimaal, Polli külas. Nii mahe- kui ka tavaõunaaias teostatakse igal kevadel võralõikust. Tavaviljelusega aias teostati haiguste ja kahjurite vastast tõrjet kolmel korral, kasutades preparaate Decis Mega, Fastac, Chorus 75WG, Dithane NT ja Chore 250EC. Kevadel anti lämmastikku 30 g puu kohta ja sügisel kompleksväetist 8-11-23 30 g puu kohta. Maheviljelusega õunaaias väetati õunapuid maheväetisega Monterra 9-1-4 100 g puu kohta. Vasula õunaaiad asuvad Tartumaal, Vasula alevikus. Vasula maheviljelusega aias teostatakse võralõikust aeg-ajalt ja seda ei ole väetatud alates 2006. aastast. Tavaviljelusega õunaaias teostatakse võralõikust igal aastal ja kahjustajate tõrjeks kasutatakse preparaate

Fastac 50, Effector ja Score 250 EC. Igal kevadel väetatakse ammooniumnitraadiga, mida antakse 160 kg/ha kohta. Sügisel väetatakse mineraalväetisega NPK 0-8-28.

4.2. Laboratoorsed tööd

Laboratoorsete analüüside käigus määrati askorbiinhappe, fenoolsete ühendite ja flavonoidide sisaldus ning antioksidatiivne aktiivsus ja allergeen Mal d 1 sisaldus.

Askorbiinhappe sisaldus määrati redoks-tiitrimetriselt, kasutades DPI (diklorofenool-indofenool) meetodit (Aichert, Spiru 1996). Analüüsitava aine sisalduse määramiseks lõigati sektorid viiest õunast. Sektorid lõigati iga õuna kahest erinevast poolest. Saadud sektorid tükeldati noaga ning kaaluti ca 6 g täpsusega 0,001 g tiitrimisanumasse. Igast katsevariandist valmistati vähemalt 4 kaalutist. Vahetult peale kaalumist lisati anumasse askorbiinhappe lagunemise vältimiseks dosaatoriga 5 ml soolhappe (1% HCl) lahust ja materjal homogeniseeriti homogenisaatoriga Polytron 1600 (Kinematica AG, Šveits). Seejärel lisati tiitrimisanumasse 60 ml atsetaatpuhverlahust pH väärtusega 3.2 ja proovid asetati titraatori autosamplerisse Mettler-Toledo Rondolino (Mettler Toledo AG, Šveits). Tiitrimisprotsessi juhtimiseks ja analüüsiandmete kogumiseks kasutati programmi LabX (Mettler Toledo AG, Šveits). Kalibratsioonigraafiku koostamiseks vajalike kalibratsioonilahuste valmistamiseks kasutati analüütiliselt puhast askorbiinhapet firmalt Scharlau (kat nr. AC05151000). Askorbiinhappe analüüsi tulemused väljendati askorbiinhappe sisaldusena mg/100g värske materjali kohta.

Fenoolsete ühendite, flavonoidide üldsisalduse ja antioksidatiivse aktiivsuse määramiseks valiti 5 õuna, mille kahelt erinevalt küljelt lõigati sektorid. Sektorid tükeldati noaga väiksematest tükikesteks. Analüüsiks kaaluti analüütilistel kaaludel ca 4 g õunatükke täpsusega 0,001 g 50 ml Falcon tüüpi plastikust anumasse. Dosaatoriga lisati 5 ml 96 %-list etanoolilahust, ning homogeniseeriti saadud segu homogenisaatoriga Kinematica Polytron 1600 (Kinematica AG, Šveits). Homogeniseerimise protsessi lõpus loputati homogenisaatori tera dosaatorist lisatava 35 ml 96%-lise etanoolilahusega, vältimaks analüüsitava materjali kadu ning tagamaks kõigi proovide võrdset ruumala. Anumad suleti korgiga ning proove loksutati 30 minuti vältel plaatloksutil KS-15 Control (Edmund Bühler GmbH, Saksamaa)

kiirusel 200 rpm, seejärel tsentrifugiti kiirusel 500 rpm kasutades Eppendorf Centrifuge 5810 R. Saadud proovidest pipeteeriti 15 ml selget lahust 15 ml Falconi tüüpi anumasse ning asetati sügavkülmikusse Sanyo MDF-U333 (Sanyo Electronic Co. Ltd, Jaapan) temperatuurile -29°C kuni analüüside teostamiseni.

Fenoolsete ühendite üldsisaldus määrati Folin-Ciocalteu (edaspidi F-C) meetodiga (Sanchez-Rangel *et al.* 2013). Mikroplaadile kanti 10 μl ekstrakti/standardlahust/destilleeritud vett (null lahust), millele lisati 190 μl destilleeritud vett, 25 μl F-C reaktiivi ja 75 μl naatriumkarbonaati (7% Na_2CO_3). Igat varianti pipeteeriti vähemalt 3 korduses. Täidetud mikroplaati hoiti reaktsiooni täielikuks kulgemiseks 2 tundi pimedas, seejärel määrati optiline tihedus (A) lainepikkusel 765 nm. Kalibratsioonigraafiku koostamiseks kasutati analüütiliselt puhast gallushapet (Scharlau, kat nr. AC1180). Tulemused väljendati mg gallushapet/100g värske materjali kohta.

Flavonoidide üldsisaldus määrati kolorimeetrilisel meetodil (Meyers *et al.* 2003). Mikroplaati pipeteeriti 150 μl ekstrakti/standardlahust/destilleeritud vett (null lahust), millele lisati 25 μl naatriumnitraati (5% NaNO_3), 25 μl alumiiniumkloriidi (10% AlCl_3) ja 75 μl naatriumhüdrosiidi (4 % NaOH). Igast variandist pipeteeriti vähemalt 3 kordust. Optiline tihedus määrati lainepikkusel 510 nm. Kalibratsioonigraafiku valmistamiseks kasutati analüütiliselt puhast katehiini. Tulemused väljendati mg kat/100 g värske materjali kohta.

Antioksidatiivne aktiivsus määrati kahel erineval meetodil, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid (edaspidi ABTS) meetodil (Re *et al.* 1999) ja ferric reducing ability of plasma (edaspidi FRAP) meetodil (Benzie, Strain 1996.). **FRAP** meetodi puhul pipeteeriti mikroplaadi kaevu 10 μl ekstrakti/standardlahust/nulllahust, misjärel lisati 300 μl FRAP reaktiivi. Igast variandist teostati vähemalt kolm paralleelset pipeteerimist. Kalibratsioonilahuse valmistamiseks kasutati $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ (Sigma Aldrich, kat nr 31233). Optiline tihedus määrati lainepikkusel 593 nm. Tulemused väljendati mmol Fe/100g värske materjali kohta. **ABTS** meetodi korral pipeteeriti mikroplaadi kaevu 10 μl ekstrakti/standardlahust/destilleeritud vett (null lahust), millele lisati 190 μl ABTS lahust ning lasti 30 minutit seista. Igast variandist tehti vähemalt neli paralleelset pipeteerimist. Optiline tihedus määrati lainepikkusel 734 nm. Kalibratsiooniks valmistati Troloxi® lahust analüütiliselt puhtast reaktiivist (Aldrich kat.nr. 23,881-3). Tulemused väljendati $\mu\text{mol TE/g}$ värske materjali kohta.

Allergeen Mal d 1 sisaldus määrati ELISA (ingl. *sandwich enzyme-linked immunosorbent assay*) meetodiga (Björkstén *et al.* 1980; Matthes, Schmitz-Eiberger 2009), mis põhineb antigeen-antikeha spetsiifilisel reaktsioonil. Analüüsitava aine sisalduse määramiseks lõigati sektorid viiest õunast. Sektorid lõigati noaga ja külmutati koheselt vedelas lämmastikus ning hoiti külmkambris kuni katse teostuseni. Analüüsitava ekstrakti valmistamiseks homogeniseeriti õunatükid homogenisaatoriga. Mikroplaadi kaevukesed kaeti 100 µl antigeeniga Mal d 1, misjärel lasti seista temperatuuril 4°C üks ööpäev. Seejärel pesti mikroplaat 300 µl pesemise puhverlahusega (PBS + Tween 20) 3 korda. Siis lisati 200 µl 1% BSA lahust ja lasti reageerida toatemperatuuril 2 tundi, misjärel teostati eelnevalt kirjeldatud pesemisprotsessi. Seejärel lisati 50 µl standardlahust, mis oli PBS + Tween 20 lahuses ning antikeha mis oli 50 µl PBS 6+ Tween 20 lahuses. Mikroplaadil lasti seista temperatuuril 4°C neli tundi. Seejärel teostati neli korda pesemine puhverlahusega. Siis lisati mikroplaadi kaevukestesse 100 µl teist korda antigeeni. Lasti seista toatemperatuuril üks tund. Siis pesti mikroplaat viis korda 300 µl puhverlahusega. Seejärel lisati 100 µl TMB lahust ja lasti seista 15 minutit toatemperatuuril. Kinnitamine (ingl. *stopping*) tehti 100 µl 2 M väävelhappe lahusega. Optiline tihedus määrati lainepikkusel 450 nm. Allergeeni Mal d 1 analüüsi tulemused väljendati µg/g värskel materjalil kohta.

Kõikide spektrofotomeetriliste analüüside puhul kasutati optilise tiheduse määramiseks ClarioStar mikroplaadi lugerit (BMG Labtech GmbH, Saksamaa) ja andmete kogumiseks programmis MARS (BMG Labtech GmbH, Saksamaa).

4.3. Statistiline analüüs

Esiõalsed andmed sisestati andmetöötlusprogrammi Microsoft Excel 2016, kus kalibratsioonide abil arvutati välja lõplikud tulemused. Katseandmete töötlemiseks kasutati kahefaktorilist dispersioonanalüüsi. Joonistel ühesuguste tähtedega tähistatud väärtused ei ole statistiliselt oluliselt erinevad.

5. TULEMUSED JA ARUTELU

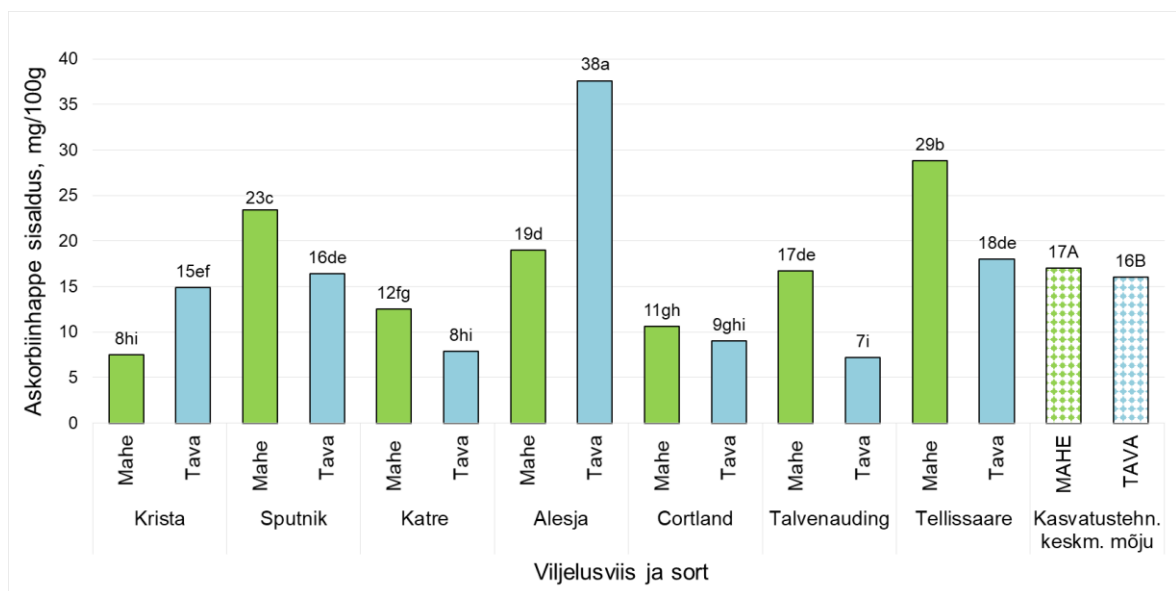
5.1. Askorbiinhappe sisaldus

Varasemalt tehtud uuringutest on selgunud, et Eestis kasvatatud õunad sisaldavad askorbiinhapet vahemikus 4,9...27,1 mg/100g (Nõmm *et al.* 2001) ja 3,4...17,3 mg/100g (Univer *et al.* 2018). Belgias tehtud katses leiti, et seal kasvatatud õunte askorbiinhappe sisaldus jäi vahemikku 2,9...25,6 mg/100g kohta (Planchon *et al.* 2004). Käesolevas katses jäi erinevast sordist õunte askorbiinhappe sisaldus vahemikku 7...38 mg/100 (joonis 1), sealjuures suurim sisaldus ületas eelnevalt kirjeldatud katsetes leitud väärtuseid. Eesti kaubandusvõrgust ostetud imporditud õunte askorbiinhappe sisaldus jäi vahemikku 2,6...7,7 mg/100g (Nõmm *et al.* 2001). Seega võib järeldada, et Eesti kaubandusest ostetud imporditud õunad võivad sisaldada vähem askorbiinhapet kui kohalikud õunad.

Kirjanduses on vastakaid andmeid viljelusviisi mõjust askorbiinhappe sisaldusele. Esch *et al.* (2010) leidsid, et viljelusviisil ei ole olulist mõju õunte askorbiinhappe sisaldusele. Bertazzi, Cristoferi (2010) leidsid, et maheviljeluses kasvanud õunad sisaldasid rohkem askorbiinhapet. Käesolevas katses ei olnud viljelusviisil kõikidele sortidele ühesuunalist mõju. Sortide `Sputnik`, `Katre`, `Talvenauding` ja `Tellissaare` puhul oli maheviljeluses kasvanud viljades kõrgem askorbiinhappe sisaldus kui tavaviljeluses kasvanud viljades, `Krista` ja `Alesja` puhul oli see aga vastupidi. Sordi `Cortland` õunte askorbiinhappe sisaldusele ei avaldanud viljelusviis statistiliselt usutavat mõju. Maheviljeluses kasvanud õuntes oli keskmine askorbiinhappe sisaldus statistiliselt oluliselt suurem kui tavaviljeluses kasvanud õuntes. Samas on inimtervise seisukohalt ühe milligrammine vahe ebaoluline. Logan *et al.* (1999) andmetel mõjutab askorbiinhappe sisaldust positiivselt vähene lämmastiku kättesaadavus. Maheviljeluses kasvanud õunad said vähem lämmastikku kui tavaviljeluses kasvanud õunad. Sellistes tingimustes suureneb heksoosi tootmine. Heksoos aga indutseerib askorbiinhappe sünteesi (Smirnoff, Wheeler 2000). See võib olla põhjuseks, miks maheviljeluses kasvanud õunad sisaldasid askorbiinhapet rikkalikumalt. Samuti ergutab lämmastikväetise kasutamine taime kasvu ja selle tulemusel võib õunapuu lehestik muutuda tihedamaks, vähendades võra valgustust ning seega võivad osad õunad võivad jääda varju. Varjulises kohas kasvav õun sisaldab vähem askorbiinhapet kui päikselises

kasvukohas kasvanud vili (Planchon *et al.* 2004). Mitmed autorid on leidnud, et kõrgem askorbiinhappe sisaldus suurendab taimede vastupanu abiootilise stressi vastu (Hemavathi *et al.* 2010; Huang *e al.* 2005; Li *et al.* 2010). See võib tähendada, et erinevad stressifaktorid võivad reguleerida taimedes askorbiinhappe sünteesi, kuid selle kohta on veel vähe andmeid (Wang *et al.* 2013). Sordi `Alesja` ja `Krista` tavaviljeluses kasvanud õunad sisaldasid poole rohkem askorbiinhapet kui maheviljeluses kasvanud viljad. Selline erinevus võib olla tingitud sellest, et erinevad sordid võivad reageerida stressitingimustele ja toitainetele erinevalt (Namask *et al.* 2015; Kucukyumuk, Erdal 2011). Samuti võib toitainete kontsentratsioon erineda ühe õunaaia piires (Kacar 1995).

Askorbiinhappe sisaldus sõltub rohkem sordist kui kasvatustehnoloogiast ja ilmastikutingimustest (Bassi *et al.* 2017). Katsevariantides olid kõige askorbiinhappe rikkamad tavaviljeluses kasvanud `Alesja` ja maheviljeluses kasvanud `Tellissaare` viljad (joonis 1). Samuti leidsid Nõmm *et al.* (2001), et sordi `Tellissaare` viljad sisaldavad kõige enam askorbiinhapet. Kõige vähem askorbiinhapet oli `Krista` ja `Cortland` maheviljades ning sortide `Katre`, `Cortland` ja `Talvenauding` tavaviljeluses kasvanud viljades.



Joonis 1. Õunte askorbiinhappe sisaldus (mg/100g) sõltuvalt viljelusviisist ja sordist ning kasvatustehnoloogia keskmise mõju askorbiinhappe sisaldusele. Sarnaste tähtedega tähistatud väärtused ei ole statistiliselt oluliselt erinevad. PD95% variandile = 4; PD95% kasvatustehnoloogia keskmisele mõjule = 1

Pitsi *et al.* (2017) andmetel on täiskasvanutele soovitatav askorbiinhappe päevane kogus 100 mg. Antud katsetulemuste põhjal võib järeldada, et päevase askorbiinhappe koguse saamiseks tuleb täiskasvanul päevas tarbida ligikaudu kaks tavaviiljeluses kasvanud `Alesja´ või seitse `Talvenauding´ õuna.

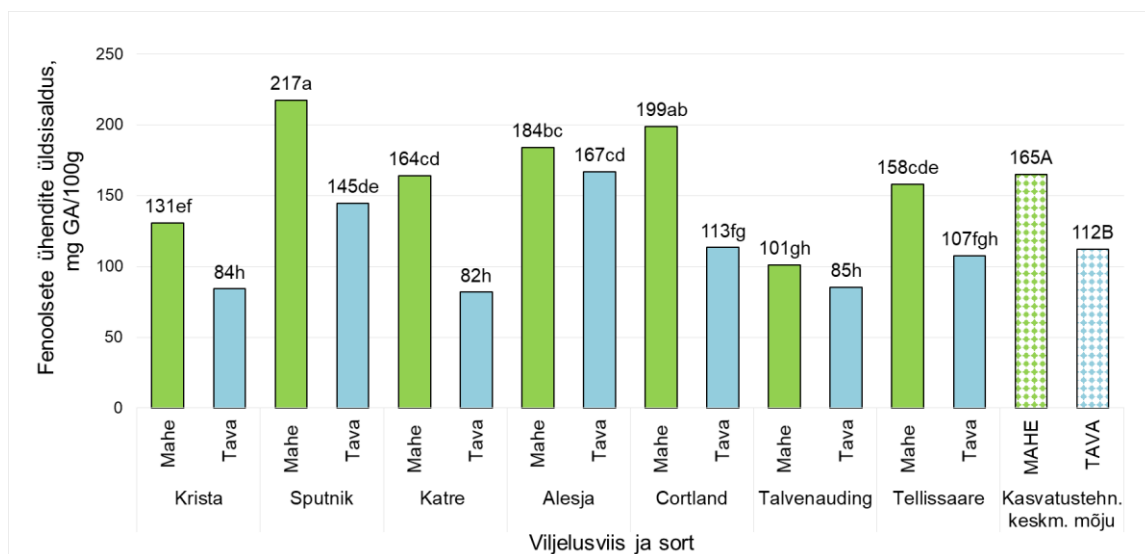
5.2. Fenoolsete ühendite üldsisaldus

Käesolevas katses jäi õunte fenoolsete ühendite üldsisaldus vahemikku 82...217 mg/100g (joonis 2). Ameerika Ühendriikide teadlased leidsid, et seal kasvatatud sordid `Golden Delicious´, `Rome Beauty´, `Idared´ ja `Cortland´ sisaldasid fenoolseid ühendeid vahemikus 119...159 mg/100g (Wolfe *et al.* 2003). Seega võivad mõned Eestis kasvatatud sortide viljad sisaldada fenoolseid ühendeid rikkalikumalt, kui meie kaubanduses levinud imporditud õunad. Serbias kasvatatud sortide õunad sisaldasid fenoolseid ühendeid keskmiselt 73...217 mg/100g (Mitic *et al.* 2013), mis on sarnane käesolevas töös leituga.

Erinevate autorite andmed viljelusviisi mõjust fenoolsete ühendite sisaldusele on vastuolulised. Mõned on leidnud, et maheviljeluses kasvanud viljad sisaldavad neid ühendeid rikkalikumalt (Petkovsek *et al.* 2010; Lamperi *et al.* 2008; Veberic *et al.* 2005). Samas leidsid Chinnici *et al.* (2004), et tavaviiljeluses kasvanud viljad sisaldavad rohkem fenoolseid ühendeid. Mõningates uuringutes ei avaldanud viljelusviis fenoolsete ühendite sisaldusele statistiliselt olulist mõju (Peck *et al.* 2009; Valavanidis *et al.* 2009). Käesolevas katses võis märgata tendentsi, et maheviljeluses kasvanud õunad sisaldasid rohkem fenoolseid ühendeid (joonis 2). Sortide `Krista`, `Sputnik`, `Katre`, `Cortland` ja `Tellisaare` puhul oli maheviljeluses kasvanud viljades oluliselt kõrgem fenoolsete ühendite sisaldus kui tavaviiljeluses kasvanud viljades. Sortide `Alesja` ja `Talvenauding` puhul ei olnud mõju statistiliselt oluline. Katse keskmisena oli maheviljeluses kasvanud õuntes oluliselt rohkem fenoolseid ühendeid kui tavaviiljeluses kasvanud õuntes. Maheviljeluses kasvanud õunte kõrgem fenoolsete ühendite sisaldus võib olla tingitud sellest, et maheviljeluses võivad õunapuud kannatada rohkem erinevate stressifaktorite mõju all. Lisaks on fenoolsete ühendite sisaldus negatiivses seoses biomassi tootmisega, kuna nende ühendite sünteesiks on tarvis samu ühendeid, mida kasutatakse taime kasvuks (Kraus *et al.* 2004; Haukioja *et al.* 1998). Tavaviiljeluses anti sortide `Krista`, `Sputnik`, `Katre` ja `Alesja` puhul iga õunapuu

kohta 30 g lämmastikku, kuid maheaias vaid 9 g puu kohta ning teiste sortide puhul ei saanud maheviljeluses olevad õunad üldse lämmastikväetist. Suurem lämmastiku kättesaadavus suurendab biomassi. Lisaks võivad lämmastikväetised pärssida taimedel fosfori omastamist (DeEll, Prange 1992). Seega võib maheviljeluses olla parem fosfori omastamine, mis võib varustada taime bioaktiivsete ühendite sünteesiks vajaliku energiaga (Weibel *et al.* 2000).

Katseõuntest olid kõige fenoolsete ühendite rikkamad maheviljeluses kasvanud `Sputnik` ja `Cortland` (joonis 2). Kõige väiksema fenoolsete ühendite sisaldusega olid tavaviljeluses kasvanud õunad sortidest `Krista`, `Katre` ja `Talvenauding`. Fenoolsete ühendite sisaldusele võivad avaldada mõju ka pookealused. Vegetatiivalustel kasvavate sortide õunad sisaldavad fenoolseid ühendeid rikkalikumalt kui seemikalusel kasvavad õunad (Mainla 2009). Sordi `Talvenauding` õunapuud kasvas seemikalusel Antonovka ja see võib olla põhjuseks, miks selle sordi viljade fenoolsete ühendite sisaldus oli madalam, kui teiste sortide viljades. Samas kasvasid samal seemikalusel veel sordid `Tellissaare` ja `Cortland` õunapuud, aga nende fenoolsete ühendite sisaldus sellist seost ei peegeldanud.



Joonis 2. Õunte fenoolsete ühendite üldsisaldus (mg GA/100g) sõltuvalt viljelusviisist ja sordist ning kasvatustehnoloogia keskmine mõju fenoolsete ühendite sisaldusele. Sarnaste tähtedega tähistatud väärtused ei ole statistiliselt oluliselt erinevad. PD95% variandile = 29; PD95% kasvatustehnoloogia keskmise mõjule = 11

Gimenez *et al.* (2007) andmetel tarbivad inimesed fenoolseid ühendeid rohkem kui teisi toidus sisalduvaid antioksüdante. Nimelt on ligikaudu 90% kogu toiduga saadavatest antioksüdantidest fenoolsed ühendid (Chun *et al.* 2005; Hervert-Hernandez *et al.* 2011). Brasiilia elanikud tarbivad ligikaudu 460 mg fenoolseid ühendeid päevas. Chun *et al.* (2005) leidsid, et Ameeriklased tarbivad fenoolseid ühendeid 450 mg päevas. Rohkem tarbivad aga Hispaania, Soome ja Prantsusmaa elanikud, vastavalt 820, 863 ja 1193 mg päevas (Tresserra-Rimbay *et al.* 2013; Ovaskainen *et al.* 2008; Perez-Jimenez *et al.* 2011). Kirjanduses puudub informatsioon, kui palju tuleks fenoolseid ühendeid päevas tarbida, et saada tervisele kasulike mõjusid. Pitsi *et al.* (2017) soovitab süüa vähemalt 300 g puuvilju päevas.

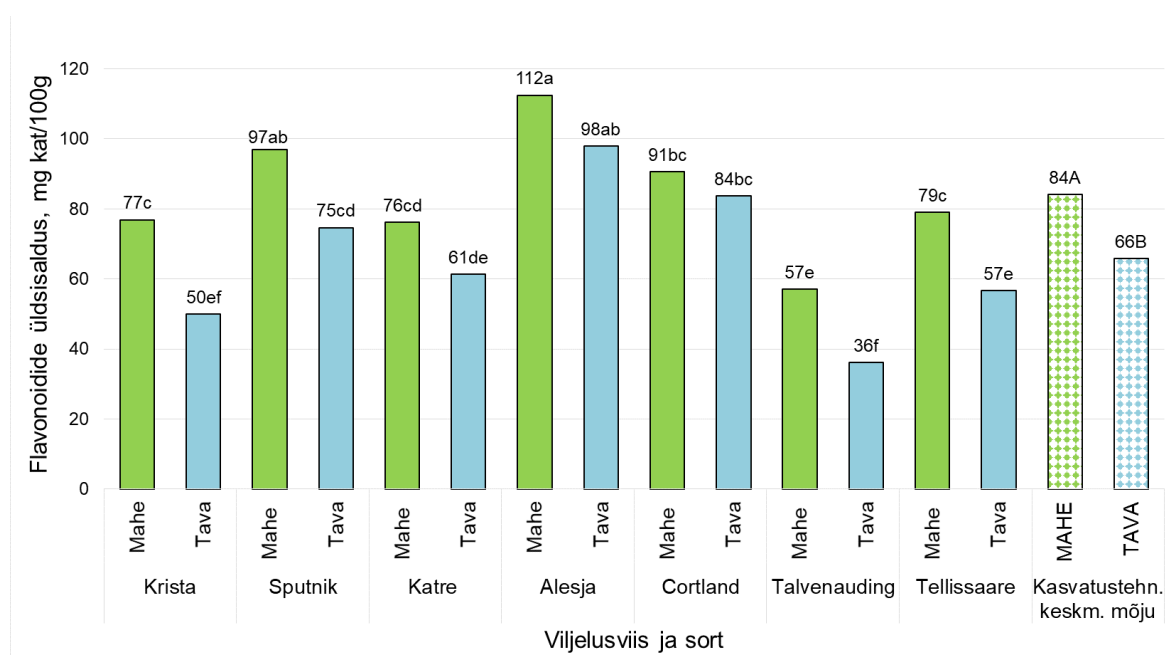
5.3. Flavonoidide üldsisaldus

Serbias tehtud katses selgus, et erinevast sordist õunte flavonoidide sisaldus oli vahemikus 37,2...112 mg/100g, sealjuures olid kõige flavonoidide rikkamad 'Golden Delicious' ja 'Granny Smith' (Mitic *et al.* 2013). Antud katse erinevast sordist õunte flavonoidide üldsisaldus jäi vahemikku 36...112 mg kat/100g (joonis 3), olles sarnased eelnevalt mainitud tulemustega.

Sarnaselt fenoolsete ühenditega, sisaldasid maheviljeluses kasvanud õunad tendentsina rohkem flavonoide (joonis 3). 'Krista', 'Sputnik', 'Talvenauding' ja 'Tellissaare' puhul oli maheviljeluses kasvanud viljades statistiliselt oluliselt suurem flavonoidide sisaldus kui tavaviljelusviisil kasvanud viljades. Sortide 'Katre', 'Alesja' ja 'Cortland' puhul ei olnud mõju statistiliselt oluline, kuid siiski oli märgata tendentsi, et maheviljelusviis suurendas mõnevõrra flavonoidide sisaldust õuntes. Katse keskmisena oli maheviljeluses kasvanud õunte flavonoidide sisaldus statistiliselt oluliselt kõrgem kui tavaviljeluses kasvanud viljades. Flavonoidid kuuluvad fenoolsete ühendite hulka, seega sõltub ka nende sisaldus suuresti taimestressi tekitavatest faktoritest. See võib olla põhjuseks, miks maheviljeluses kasvanud õunad sisaldavad flavonoide rikkalikumalt. Samuti on leitud, et suurenenud lämmastikväetiste kasutamine vähendab flavonoidide kontsentratsiooni õunakoores (Awad, de Jager 2002). Sellistes tingimustes kasvanud õunte viljakoor oli vähem punaseks värvunud. Flavonoidide rühma kuuluvad antotsüaniinid annavad õunte koorele punase

värvuse ja selle ühendi sisaldus sõltub suuresti valgusest (Ritenou, Khemira 1997). Lämmastikväetist saanud õunapuud on lopsakama lehestikuga, mis varjavad vilju ja seetõttu on õunad vähem värvunud. Seega võib tavaviljelusviisiga õunaaias lämmastikväetiste kasutamine seletada, miks maheviljeluses kasvanud õunad olid punasemad kui tavaviljeluses kasvanud õunad. Seda väidet kinnitavad ka Johnson, Samuelson (1990) ja Raese, Drake (1997) katseandmed. Mõnedes teadustöodes on leitud, et lämmastik võib flavonoidide sünteesi mõjutada geenitasemel (Bongue-Bartelsman, Phillips 1995; Awad, de Jager 2002).

Flavonoidide üldsisaldus õuntes sõltub suuresti sordist (Boyer, Liu 2004). Katseõuntest olid kõige flavonoidide rikkamad nii tavaviljeluses kui ka maheviljeluses kasvanud 'Alesja' ja 'Cortland'. Kõige madalam sisaldus oli aga tavaviljeluses kasvanud sordi 'Talvenauding' õuntes.



Joonis 3. Viljade flavonoidide sisaldus (mg kat/100g) sõltuvalt viljelusviisist ja sordist ning kasvatustehnoloogia keskmine mõju flavonoidide sisaldusele. Sarnaste tähtedega tähistatud väärtused ei ole statistiliselt oluliselt erinevad. PD95% variandile = 18; PD95% kasvatustehnoloogia keskmise mõjule = 7

Flavonoidide kohta pole samuti välja toodud soovitatud päevast kogust, kuid Pérez-Jiménez *et al.* (2011) leidsid, et 370 mg flavonoidide tarbimine päevas aitab langetada vererõhku.

Käesoleva katse andmete põhjal võib öelda, et selle koguse saamiseks tuleb ära süüa ligikaudu seitse tavaviljeluses kasvanud `Talvenauding` õuna või kaks maheviljeluses kasvanud `Alesja` õuna. Brasiilia elanikud tarbivad 138 mg flavonoide päevas (Correa *et al.* 2015). Rohkem tarbivad hispaanlased, 443 mg päevas ja prantslased, 512 mg päevas (Tresserra-Rimbau *et al.* 2013; Perez-Jimenez *et al.* 2011).

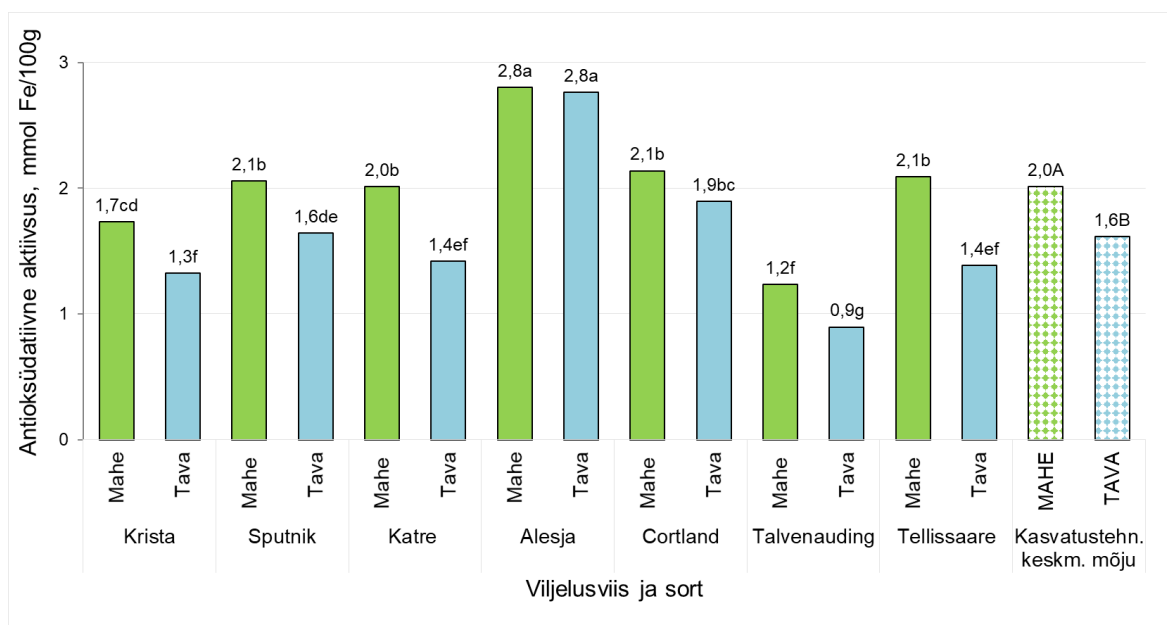
5.4. Antioksidatiivne aktiivsus

5.4.1. Antioksidatiivne aktiivsus FRAP meetodil

Erinevast sordist õunte antioksidatiivne aktiivsus jäi vahemikku 0,9...2,8 mmol Fe/100g (joonis 4). Imeh, Khokhar (2002) leidsid, et poest ostetud levinud importõunte antioksidatiivne aktiivsus oli sarnases vahemikus: 1,04...2,89 mmol Fe/100g. Kõrgema tulemuse said Quitral *et al.* (2012): levinud importõunade antioksidatiivne aktiivsus oli vahemikus 4,24...7,62 mmol Fe/100g.

Maheviljeluses kasvanud õuntes oli tendentsina kõrgem antioksidatiivne aktiivsus. Sortide `Krista`, `Sputnik`, `Katre`, `Talvenauding` ja `Tellissaare` õunad olid maheviljeluses kasvanult kõrgema antioksidatiivse aktiivsusega kui tavaviljeluses kasvanud viljad. Viljelusviis ei avaldanud statistiliselt olulist mõju `Alesja` ja `Cortland` viljade antioksidatiivsele aktiivsusele. Katse keskmisena olid maheviljeluses kasvanud viljad kõrgema antioksidatiivse aktiivsusega kui tavaviljeluses kasvanud viljad. Antioksidatiivne aktiivsus sõltub viljade polüfenoolide kontsentratsioonist ja koostisest (Kondo *et al.* 2002; Stracke *et al.* 2009). Maheviljeluses kasvanud viljade keskmine fenoolsete ühendite (joonis 2) ja flavonoidide (joonis 3) sisaldus oli kõrgem kui tavaviljeluses kasvanud viljades ning sellest tuleb ka kõrgem antioksidatiivne aktiivsus.

Katsevariantidest olid kõige kõrgema antioksidatiivse aktiivsusega mahe- ja tavaviljeluses kasvanud `Alesja` viljad (joonis 4). Kõige madalama aktiivsusega olid sordi `Talvenauding` tavaviljeluses kasvanud õunad. Sordi `Alesja` nii mahe- kui ka tavaviljeluses kasvanud viljad sisaldasid kõige enam flavonoide ja sordi `Talvenauding` viljad olid ühed madalama sisaldusega (joonis 3). See justkui kinnitab Tsao *et al.* (2005) väidet, et flavonoidide gruppi kuuluvad flavonoolidel on tugev positiivne seos antioksidatiivse aktiivsusega.



Joonis 4. Viljade antioksidatiivne aktiivsus (mmol Fe/100g) sõltuvalt viljelusviisist ja sordist ning kasvatustehnoloogia keskmine mõju antioksidatiivsele aktiivsusele. Sarnaste tähtedega tähistatud väärtused ei ole statistiliselt oluliselt erinevad. PD95% variandile = 0,3; PD95% kasvatustehnoloogia keskmise mõjule = 0,1

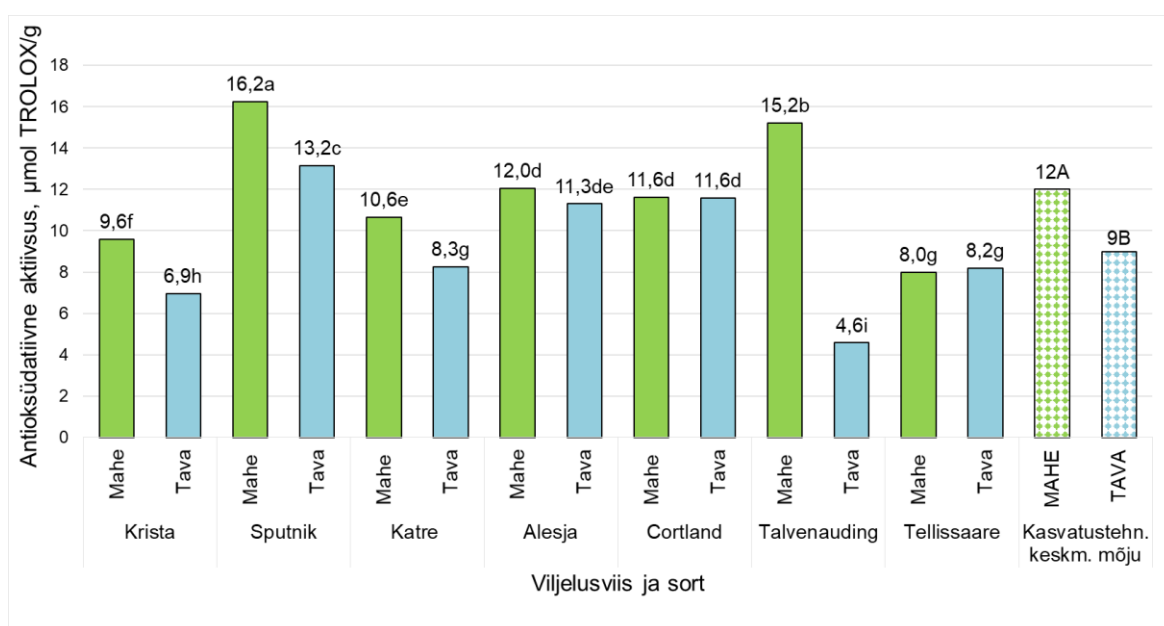
5.4.2. Antioksidatiivne aktiivsus ABTS meetodil

Varasematest uuringutest on selgunud, et Eesti kaubanduses levinud importõunte viljakoore antioksidatiivne aktiivsus jäi vahemikku 2,89...11,20 $\mu\text{mol TROLOX/g}$ ja viljalihas 1,67...2,90 $\mu\text{mol TROLOX/g}$ (Karav *et al.* 2015). Vieira *et al.* (2009) leidsid, et sordi 'Fuji' viljade antioksidatiivne aktiivsus oli 7,5 $\mu\text{mol TROLOX/g}$. Käesoleva katses selgus, et erinevast sordist viljade antioksidatiivne aktiivsus jäi vahemikku 4,6...16,2 $\mu\text{mol TROLOX/g}$ (joonis 5).

Viljelusviisil ei olnud sortidele ühesuunalist mõju. Sortide 'Krista', 'Sputnik', 'Katre' ja 'Talvenauding' puhul oli maheviljeluses kasvanud viljades kõrgem antioksidatiivne aktiivsus kui tavaviljeluses kasvanud viljades. Sortide 'Alesja', 'Cortland' ja 'Tellissaare' viljade antioksidatiivsele aktiivsusele ei avaldanud viljelusviis statistiliselt usutavat mõju. Sarnaselt FRAP meetodile oli keskmine antioksidatiivne aktiivsus maheviljeluses kasvanud

viljades suurem kui tavaviljeluses kasvanud viljades, mida põhjendab maheviljeluses kasvanud õunte kõrgem fenoolsete ühendite ja flavonoidide sisaldus.

Katsevariantidest olid kõige kõrgema antioksüdatiivse aktiivsusega maheviljeluses kasvanud sortide `Sputnik` ja `Talvenauding` viljad (joonis 5). Samas oli sordi `Talvenauding` õuntes üks madalaim fenoolsete ühendite ja flavonoidide sisaldus. See võib tähendada seda, et ABTS meetodil võisid reageerida sellised ühendid, mida antud töös ei käsitletud. Sarnaselt FRAP meetodile olid kõige madalama aktiivsusega tavaviljeluses kasvanud `Talvenauding` viljad.



Joonis 5. Viljade antioksüdatiivne aktiivsus ($\mu\text{mol TROLOX/g}$) sõltuvalt viljelusviisist ja sordist ning kasvatustehnoloogia keskmine mõju antioksüdatiivsele aktiivsusele. Sarnaste tähtedega tähistatud väärtused ei ole statistiliselt oluliselt erinevad. PD95% variandile = 1; PD95% kasvatustehnoloogia keskmise mõjule = 0,5

Õunad on ühed kõrgema antioksüdatiivse aktiivsusega (ABTS) viljad inimeste toiduratsioonis. Duda-Chodak, Tarko (2007) leidsid, et sortide `Idared` ja `Šampion` õunakooses ja seemnetes oli kõrgem antioksüdatiivne aktiivsus kui karusmarjades, arbuusis, ploomides, melonis, erinevates greipides, sidrunis, küvis ja apelsinis. Selles saab järeldada, et õunad sobivad hästi kasulike ühendite allikaks.

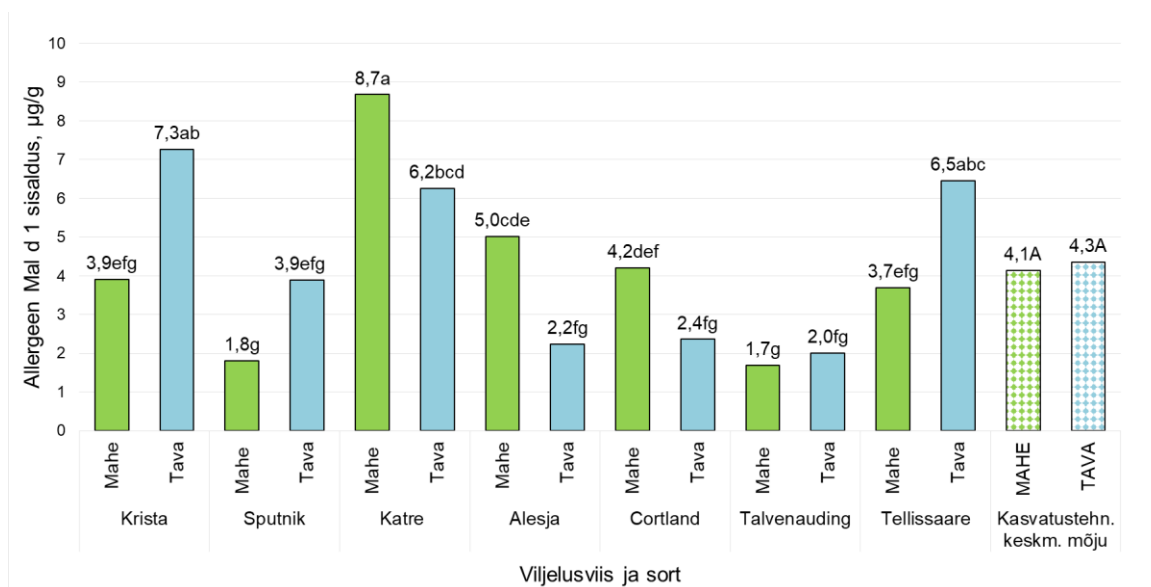
5.5. Allergeen Mal d 1 sisaldus

Erinevate sortide allergeen Mal d 1 sisaldus jäi vahemikku 1,8...8,7 µg/g (joonis 6). Austria teadlased määrasid levinud õunasortide viljadest allergeen Mal d 1 sisaldust ja see jäi vahemikku 0,15...15 µg/g (Mathhes, Schmitz-Eiberger 2009), 0,84...12,18 (Asero *et al.* 2006) ja ainult viljalihas 3,8...72,5 µg/g (Sancho *et al.* 2006). Saksamaal kohalike õuntega tehtud katsed näitasid, et allergeen Mal d 1 sisaldus jäi vahemikku 0,84...33,17 µg/g (Marzban *et al.* 2005). Selline erinevus võib olla tingitud erinevatest kasvukoha kliimaatilistest tingimustest ja kasvatustehnoloogiate erinevusest. Näiteks on varjulises kohas või madalamal kõrgusel merepinnast kasvanud õunad vähem allergeensemad kui päikese käes kasvanud õunad (Botton *et al.* 2008; Sancho *et al.* 2006). Veepuudus avaldas allergeeni Mal d 1 sisaldusele küll nõrgemat mõju, kuid sellegipoolest võib olla oluliseks faktoriks (Botton *et al.* 2008). Samuti mõjuvad erinevad pestitsiidid allergeeni sünteesile omamoodi, kuid selle kohta on veel vähe andmeid (Matthes, Schmitz-Eiberger 2009).

Viljelusviisil ei olnud ühesuunalist mõju allergeeni sisaldusele. Sortide `Krista`, `Katre` ja `Alesja` puhul oli allergeeni sisaldus maheviljeluses kasvanud viljades suurem, seevastu `Sputnik`, `Cortland` ja `Tellissaare` viljade allergeeni sisaldusele ei avaldanud viljelusviis statistiliselt usutavat mõju. Põhjuseks võib olla see, et erinevad sordid võivad reageerida teatud kasvukoha tingimustele erinevalt. Kuna allergeen Mal d 1 süntees sõltub suuresti abiootilistest ja biootilistest faktoritest, võib sordi eripära mõjutada selle sünteesi nii positiivselt kui ka negatiivselt. Katse keskmisena ei erinenud allergeeni Mal d 1 sisaldus mahe- ja tavaviljelusviisil kasvanud õuntes. Andmeid viljelusviisi mõjust õunte allergeensusele on vähe. Osad autorid on leidnud samuti, et üldiselt ei ole viljelusviisil allergeenide sisaldusele mõju (Marzban *et al.* 2005; Klockenberg *et al.* 2001). Samad autorid leidsid küll üksikuid erandeid, mispuhul oli osade sortide maheviljeluses kasvanud viljad allergeensemad kui tavaviljeluses kasvanud viljad. Samas leidsid Mathhes, Schmitz-Eiberger (2009), et tavaviljeluses kasvanud õunad oli allergeensemad kui maheviljeluses kasvanud õunad. Katsete erinevus võib tulla sellest, et katsetes on kasutatud erinevaid sorte ja sort avaldab allergeen Mal d 1 sisaldusele tugevamat mõju kui abiootilised ja biootilised tingimused.

Katsevariantidest olid kõige allergeensemad maheviljeluses kasvanud `Katre` ja tavaviljeluses kasvanud `Krista` viljad (joonis 6). Kõige vähem allergeensemad olid

`Sputnik´ ja `Talvenauding´ maheviljeluses kasvanud viljad ning `Alesja´, `Cortland´ ja `Talvenauding´ tavaviljeluses kasvanud viljad.



Joonis 6. Viljade allergeen Mal d 1 sisaldus ($\mu\text{g/g}$) sõltuvalt viljelusviisist ja sordist ning kasvatustehnoloogia keskmine mõju allergeeni sisaldusele. Sarnaste tähtedega tähistatud väärtused ei ole statistiliselt oluliselt erinevad. PD95% variandile = 2,3; PD95% kasvatustehnoloogia keskmise mõjule = 0,9

Marzban *et al.* (2005) klassifitseerisid õunasordid allergeeni Mal d 1 sisalduse järgi kolme gruppi: madala (alla $5 \mu\text{g/g}$), keskmise ($5-10 \mu\text{g/g}$) ja kõrge allergeensusega sordid (üle $10 \mu\text{g/g}$). Grupeerides katses kasutatud õunasordid sarnaselt, jäävad enamuse madala allergeensusega sortide rühma. Keskmise allergeensusega rühmas on tavaviljeluses kasvanud `Krista´, `Katre´ ja `Tellissaare´ viljad ning maheviljeluses kasvanud `Katre´ viljad. Kõrge allergeensusega grupi alal ei kvalifitseeru ükski katses kasutatud sort. Nende tulemuste abil on allergikul võimalik tarbida vähem allergeensemada kodumaist õuna.

KOKKUVÕTE

Käesoleva magistritöö eesmärgiks oli teha kindlaks mahe- ja tavaviljeluses kasvatatud seitsme õunasordi peamiste antioksidantide ja allergeen Mal d 1 sisaldus. Hüpoteesiks püstitati järgnev: maheviljeluses kasvatatud õuntes võib võrreldes tavaviljeluses kasvatatud õuntega olla kõrgem antioksidantide sisaldus, aga ka suurem allergeenide sisaldus.

Magistritöö olulisemad tulemused olid järgmised:

- Viljelusviis ei avaldanud askorbiinhappe sisaldusele ühesuunalist mõju, kuid katse keskmisena sisaldasid maheviljeluses kasvanud õunad askorbiinhapet rikkalikumalt.
- Kõige askorbiinhappe rikkamad olid sortide `Alesja´ tavaviljeluses kasvanud õunad ja maheviljeluses kasvanud `Tellissaare´ õunad.
- Maheviljeluses kasvanud õuntes oli tendentsina kõrgem fenoolsete ühendite, sealhulgas flavonoidide üldsisaldus.
- Kõige fenoolsete ühendite rikkamad oli tavaviljeluses kasvanud `Alesja´ ja maheviljeluses kasvanud `Sputnik´ õunad.
- Kõige enam flavonoide sisaldasid nii mahe- kui ka tavaviljeluses kasvanud `Alesja´ ja `Cortland´ õunad.
- Viljelusviis ei avaldanud antioksidatiivsele aktiivsusele ühesuunalist mõju, kuid katse keskmisena olid maheviljeluses kasvanud õunte antioksidatiivne aktiivsus kõrgem kui tavaviljeluses kasvanud õuntel.
- Kahel erineva meetodil määratud antioksidatiivse aktiivsuse näitajad erinesid üksteisest: FRAP meetodil oli kõige kõrgem antioksidatiivne aktiivsus mahe- ja tavaviljeluses kasvanud `Alesja´ õuntes. ABTS meetodil määratuna oli kõige kõrgem antioksidatiivne aktiivsus sortide `Sputnik´ ja `Talvenauding´ õuntes.
- Allergeen Mal d 1 sisaldusele ei olnud viljelusviisil usutavat mõju.
- Katses kasutatud sortidest olid kõige allergeensemamad maheviljeluses kasvanud `Katre´ ja tavaviljeluses kasvanud `Krista´ viljad. Kõige vähem allergeensemamad olid maheviljeluses kasvanud sortide `Sputnik` ja `Talvenauding` ning tavaviljeluses kasvanud `Alesja`, `Cortland` ja `Talvenauding´ õunad.

Katses püstitatud hüpotees leidis osaliselt kinnitust. Lähtudes tulemustest võib järeldada, et maheviljeluses kasvanud õuntes on tendentsina kõrgem peamiste antioksidantide sisaldus ja antioksidatiivne aktiivsus. Allergeen Mal d 1 sisaldusele avaldab sort suuremat mõju kui viljelusviis. Katses kasutatud sordid kvalifitseerusid kõik kas madala või keskmise allergeensusega õunte gruppi. Kõrge allergeensusega sorte ei leitud. Käesoleva uurimustöö andmed võivad olla abiks tervislikuma õuna valikul. Kase õietolmu allergiaga inimestel on võimalus valida tarbimiseks vähem allergeensem sort, milleks sobib näiteks 'Talvenauding'.

KASUTATUD KIRJANDUS

- Afonso, S., Ribeiro, C., Bacelar, E., Ferreira, H., Oliveira, I., Silva, A.P., Concalves, B.** (2017). Influence of training system on physiological performance, biochemical composition and antioxidant parameters in apple tree (*Malus domestica* Borkh.) – *Scientia Horticulturae*. Nr. 225, pp. 394-398.
- Aichert, A., Spuru, N.** (1996). Ascorbic acid (Vitamin C): Voltamperometric titration/M569/570 [veebileht] https://www.mt.com/dam/mt_ext_files/.../M569_M570.../m569_e.pdf (24.05.2018)
- Andersen, M.B., Hall, S., Dragsted, L.O.** (2011). Identification of European allergy patterns to the allergen families PR-10, LTP, and profilin from Rosaceae fruits. – *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*. Nr. 41, pp. 4–19
- Andrikopoulou, N.K., Kaliora, A.C., Assimopoulou, A.N., Papageorgiou, V.P.** (2002). Inhibitory activity of minor polyphenolic and nonpolyphenolic constituents of olive oil against in vitro low-density lipoprotein oxidation. – *Journal of Medicinal Food*. Nr. 5(1), pp. 1-7.
- Aprikian, O., Besson, C., Busserolles, J., Demigne, C., Levrat-Verny, M.A., Remesy, C.** (2001). Apple favourably affects parameters of cholesterol metabolism and of anti-oxidative protection in cholesterol-fed rats – *Food Chemistry*. Nr. 75(4), pp. 445-452.
- Aprikian, O., Busserolles, J., Manach, C., Mazur, A., Morand, C., Davicco, M.J., Besson, C., Rayssiguier, Y., Rémésy, C., Demigné, C.** (2002). Lyophilized apple counteracts the development of hypercholesterolemia, oxidative stress, and renal dysfunction in obese Zucker rats. – *The Journal of Nutrition*. Nr. 132(7), pp. 1969-1976.
- Benzie, I.F., Strain, J.J.** (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. – *Analytical Biochemistry*. Nr. 239(1), pp. 70-76.
- Björkstén, F., Halmepuro, L., Hannuksela, M., Lahti, A.** (1980). Extraction and properties of apple allergens. – *Allergy*. Nr. 35, pp. 671-677.
- Blomhoff R.** (1994). *Vitamin A in Health and Disease*. New York: Marcel Dekker Inc- 704 pp.
- Bolhaar, S., Zuidmeer, L., Ma, Y., Ferreira, F., Bruijnzeel-Koomen, C., Hoffmann-Sommergruber, K., van Ree, R., Knulst, A.** (2005). A mutant of the major apple allergen, Mal d 1, demonstrating hypo-allergenicity in the target organ by double-blind placebo-controlled food challenge. – *Clinical and Experimental Allergy*. Nr. 35, pp. 1638-1644.
- Bondonno, N. P., Bondonno, C.P., Ward, N.C., Hodgson, J.M., Croft K.D.** (2017). The cardiovascular health benefits of apples: whole fruits vs isolated compounds. – *Trends in Food Science and Technology*. Nr. 69, pp. 243-256.
- Bongue-Bartelsman, M., Phillips, D.A.** (1995). Nitrogen stress regulate gene expression of enzymes in the flavonoid biosynthetic pathway of tomato. – *Plant Physiology*. Nr. 33, pp 539-546
- Borges, J.P., Jauneau, A., Brule, C., Culerrier, R., Barre, A., Didier, A., Rouge, P.** (2006). The Lipid transfer proteins (LTP) essentially concentrate in the skin of Rosaceae fruits as cell surface exposed allergens. – *Plant Physiology and Biochemistry*. Nr. 44, pp. 535-542.
- Borges, J-P., Barre, A., Culerrier, R., Granier, C., Didier, A., Rouge, P.** (2008). Lipid transfer proteins from Rosaceae fruits share consensus epitopes responsible for their IgE binding

- cross-reactivity. – *Biochemical and Biophysical Research Communications*. Nr. 363, pp. 685-690
- Botton, A., Lezzer, P., Dorigoni, A., Barcaccia, G., Ruperti, B., Ramina, A.** (2008). Genetic and environmental factors affecting allergen-related gene expression in apple fruit (*Malus domestica* L. Borkh). - *Journal of Agricultural Food Science*. Nr. 56(15), pp. 6707-6716.
- Boyer, J., Liu, R.H.** (2004). Apple phytochemicals and their health benefits. – *Nutrition Journal*. Nr. 3, pp. 1-15.
- Breiteneder, H.**(2004). Thaumatin-like proteins, A new family of pollen and fruit allergens. – *Allergy*. Nr.59, pp. 479–481
- Breiteneder, H., & Ebner, C.** (2000). Molecular and biochemical classification of plant-derived food allergens. – *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. Nr. 106, pp. 27–36.
- Burney, P., Summers, C., Chinn, S., Hooper, R., van Ree, R., Lidholm, J.** (2010). Prevalence and distribution of sensitization to foods in the European Community Respiratory Health Survey: a EuroPrevall analysis. – *Allergy*. Nr. 66, pp. 1182-1188
- Chen, D.M, Cai, X., Kwik-Urbe, C.L., Zeng, R., Zhu, X.Z.**(2006) Inhibitory effects of procyanidin B2 dimer on lipidladen macrophage formation. – *Journal of cardiovascular Pharmacology*. Nr. 48, pp. 54-70.
- Chinnici, F., Bendini, A., Gaiani, A., Riponi, C.** (2004). Radical scavenging activities of peels and pulps from cv. golden delicious apples as related to their phenolic composition – *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Nr. 52(15), pp. 4684-4689.
- Chrysosoidis, G.** (2000). An Analysis of Consumer Purchases and Buying Behaviour in Organic Farming: Cost-Efficiency, Market Analysis and Marketing Strategies. – *National Agricultural Research Foundation Publications*, pp. 472-512.
- Davey, M.W., van Montagu, M., Inze, D.; Sanmartin, M., Kanellis, A., Smirnoff, N., Benzie, I., Strain, J.J., Favell, D., Fletcher, J., et al.** (2000). Plant l-ascorbic acid: Chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. – *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Nr. 80, pp. 825–860
- Duda-Chodak, A., Tarko, T.** (2007). Antioxidant properties of different fruit seeds and peels. – *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*. Nr. 6(3), pp. 29-36.
- Ebner, C., Hirschwehr, R., Bauer, L., Breiteneder, H., Valentina, R., Ebner, H., Kraft, D., Schreiner, O.** (1995). Identification of allergens in fruits and vegetables: IgE cross-reactivities with the important birch allergens Bet v 1 and Bet v 2 (birch profilin). – *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. Nr. 95, pp. 962-969
- Eesti Mahepõllumajanduse Sihtasutus.** (2008). Mahepõllumajanduse alused. AS Folger Art. 174 lk.
- Eesti Statistikaamet.** (2018). PM060: Viljapuu- ja marjaaiad maakonna järgi. (24.04.2018).
- F.W. Ma, L.L. Cheng.** (2004). Exposure of the shaded side of apple fruit to full sun leads to upregulation of both xanthophyll cycle and the ascorbate–glutathione cycle. – *Plant Science*. Nr. 166, pp. 1479–1486
- Fernandez-Cruz, M.L., Mansilla, M.L., Tadeo, J.L.** (2010). Mycotoxins in fruits and their processed products: Analysis, occurrence and health implications. – *Journal of Advances Research*. Nr. 1, pp. 113-122.
- Fernandez-Rivas, M., Bolhaar, S., Gonzalez-Mancebo, E. et al.** (2006). Apple allergy across Europe: how allergen sensitization profiles determine the Clinical expression of allergies to plant foods. – *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. Nr. 118, pp. 481–488.

- Gao, Z.S., van den Weg, W.E., Schaart, J.G., van der Meer, I. M., Kodde, L., Laimer, M., Breiteneder, H., Hoffmann-Sommergruber, K., et al.** (2005). Linkage map positions and allelic diversity of two Mal d 2 genes in the cultivates apple. – *Theoretical Applied Genetics*. Nr. 110, pp. 479-491
- Geroldinger-Simic, M., Zelniker, T., Aberer, W. et al.** (2011). Birch pollen-related food allergy: clinical aspects and the role of allergen-specific IgE and IgG4 antibodies. – *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. Nr.127, pp. 616–622.
- Gorinstein, S., Zachwieja, Z., Folta, M., Barton, M., Barton, H., Piotrowicz, J., Zemser, M., Weisz, M., trakhtenberg, S., Martin-Belloso, O.** (2001). Comparative contents of dietary fiber, total phenolics and minerals in persimmons and apples. - *Journal of Agricultural Chemistry*. Nr. 91, pp. 952-957
- Grosso, G.; Godos, J.; Lamuela-Raventos, R.; Ray, S.; Micek, A.; Pajak, A.; Sciacca, S.; D’Orazio, N.; Del Rio, D.; Galvano, F.** (2017). A comprehensive meta-analysis on dietary flavonoid and lignan intake and cancer risk: Level of evidence and limitations. – *Molecular Nutrition and Food Research*. Nr. 61(4), pp. 1-10.
- Gudas LJ, Sporn MB, Roberts AB.** (1994). Cellular biology and biochemistry of the retinoids. Raven Press, New York.
- Haak, E.** (2003). Kloonaluste ja vahepoogendite mõjust õunapuude kasvule ja saagile. – *Agaarteadus*. Nr. 5, lk. 251-259.
- He, X.; Sun, L.M.** (2016). Dietary intake of flavonoid subclasses and risk of colorectal cancer: Evidence from population studies. – *Oncotarget*, Nr. 7, pp. 26617–26627.
- Heck, K., Herbinger, K., Veberič, R., Trobec, M., Toplak, H, Štampar, F., Keppel, H., Grill, D.** (2006). Sugar-, acid- and phenol contents in apple cultivars from organic and integrated fruit cultivation. – *European Journal of Clinical Nutrition*. Nr. 60, pp. 1136–1140
- Heinmaa, L., Moor, U.** (2012). Kontrollitud ja modifitseeritud atmosfääris säilitamise mõju õunasordi `Liivi kuldrenett´ viljade kvaliteedile. – *Agronomia 2012*. lk. 199-206.
- Hemavathi, U.C.P., Akula, N., Young, K.E., Chun, S.C., Kim, D.H. et al.** (2010). Enhanced ascorbic acid accumulation in transgenic potato confers tolerance to various abiotic stresses. – *Biotechnology Letters*. Nr. 32, pp. 321-330.
- Henriquez, C., Almonacid, S., Chiffelle, I., Valenzuela, T., Araya, M., Cabezas, L., Simpson, R., Speisky, H.** (2010). Determination of antioxidants capacity, total phenolic content and mineral composition of different fruit tissue of five Apple cultivars grown in Chile. - *Chilean Journal of Agricultural Research*. Nr.70(4), pp. 523-536.
- Hsieh, L.S, Moos, M. Jr, Lin, Y.** (1995) Characterization of apple 18 and 31 kd allergens by microsequencing and evaluation of their content during storage and ripening. - *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. Nr. 96(1), pp. 960-70.
- Huang, C., He, W., Gue, J., Chang, X., Su, P., Zhang, L.** (2005). Increased sensitivity to salt stress in an ascorbate-deficient Arabidopsis mutant. – *Journal of Experimental Botany*. Nr. 56, pp. 3041-3049.
- Ioro, R.A., del Duca, S., Calamelli, R., Lodolini, M., Scamardella, F., Pession, A., Ricci, G.** 2013. Citrus allergy from pollen to Clinical symptoms. *Plos One*. Nr. 8(1), pp. 1-10.
- Judzientiené, A., Misiunas, A.** (2017). Chemical composition of Apple-tree (*Malus domestica* Borkh.) leaf essential oils. – *Chemija*. Nr. 28(3), pp. 172-176.
- Kahn, H., Loit, H.M.** (2009). Tervise ABC. Kirjastus Valgus. Tallinn. 664 lk.

- Kahu, K.** (2009). Mahetootmisele ülemineku ja mahetoetuste mõju põllumajandusettevõtete tootmis- ja majandusnäitajatele: õunad. Maaeluministerium. 107 lk.
- Kahu, K.** (2012). Mahepõllumajanduslik marja- ja puuviljakasvatus. Eesti Mahepõllumajandus Sihtasutus. AS Ecoprint. 28 lk.
- Kahu, K., Luik, A.** (2016). Mahepõllumajanduslik puuviljakasvatus. Ecoprint AS. 28 lk.
- Kalinowska, M., bielawska, A., Lewandowska-Siwkiewicz, H., Priebe, W., Lewandowski, W.** (2014). Apples: Content of phenolic compounds vs variety, part of Apple and cultivation model, extraction of phenolic compounds, biological properties. – *Plant Physiology and Biochemistry*. Nr. 84, pp. 169-188.
- Karav, S., Arikal, A. O., Eksi, A.** (2015). Apple peel is promising source of natural bioactive compounds that promote human health. – *Journal of Food and Nutrition Research*. Nr. 3(10), pp. 624-628.
- Kelt, K., Lamp, L., Piir, Robert.** (1997). Puuviljad, Marjad, Tervis: Toiteväärtus, säilitamine ja kodune töötlemine. Kirjastus Valgus. 230 lk.
- Khanizadeh, S., Tsao, R., Rekika, D., Yang, R., Charles, M.R., Rupasinghe, H.P.V.** (2008). Polyphenol composition and total antioxidant capacity of selected Apple genotypes for processing. – *Journal of Food Composition and Analysis* Nr. 21, pp. 396-401.
- Kiewning, D., Schmitz-Eiberger, M.** (2014). Effects of long-term storage on Mal d 1 content of four apple cultivars with initial low Mal d 1 content. – *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94:198-802.
- Kiewning, D., Wolffseifen, R., Schmitz-Eiberger, M.** (2013). The impact of catechin and epicatechin, total phenols and PPO activity on the Mal d 1 content in apple fruit. – *Food chemistry*. Nr. 140, pp. 99-104.
- Kinaciyan, T., Nagl, B., Faustmann, S., Frommlet, F., Kopp, S., Woppersdorfer, M. et al.** (2017). Efficacy and safety of 4 months of sublingual immunotherapy with recombinant Mal d 1 and Bet v 1 in patients with birch pollen-related apple allergy. – *American Academy of Allergy, Asthma and Immunology*. Nr. 141(3), pp. 1002-1008.
- Kivistik, J.** (1983). Puuviljandus. Tallinn Valgus. 304 lk.
- Konopacka, D., Jesionkowska, K., Krucynska, D., Stehr, R., Schoorl, F., Buehler, A. et al.** (2010). Apple and peach consumption habits across European countries. – *Appetite*. Nr. 55, pp. 478-483.
- Kucukyumuk, Z., Erdal, I.** (2011). Rootstock and cultivar effect on mineral nutrition, seasonal nutrient variation and correlations among leaf, flower and fruit nutrient concentrations in apple trees. – *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, Nr. 17(5), pp. 633-641.
- Lamperi, L., Chiuminatto, U., Cincinelli, A., Galvan, P., Giordani, E., Lepri, L.** (2008). Polyphenol levels and free radical scavenging activities of four apple cultivars from integrated and organic farming in different Italian areas – *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Nr. 56(15), pp. 6536-6546.
- Lee, K.Q., Kim, Y. J., Lee, H.J., Lee, C. Y.** (2003). Major phenolics in apple and their contribution to the total antioxidant capacity. – *Journal of Agricultural Food Chemistry*. Nr. 51, pp. 6516-6520
- Lee, S.K., Kader, A.A.** (2000). Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. – *Postharvest Biology and Technology*. Nr. 20(3), pp. 207-220
- Leis, L., Lepik, A., Lepik, T., Karus, A.** (2002). Mineraalelementide sisaldus õunapuu viljades ja lehtedes. – *Agaarteadus*. Nr. 3, pp. 176-181

- Li, F., Wu, Q.Y., Sun, Y.L., Wang, L.Y., Yang, X.H., Mend, Q.W.** (2010). Overexpression of chloroplastic monodehydroascorbate reductase enhanced tolerance to temperature and methyl viologen-mediated oxidative stresses. – *Plant Physiology*. Nr. 139, pp. 421-434.
- Li, M.J., Ma, F.W., Zhang, M., Pu, F.** (2008). Distribution and metabolism of ascorbic acid in apple fruits (*Malus domestica* Bork cv. Gala). – *Plant Science*. Nr. 174, pp. 606-612.
- Liu, X.M., Liu, Y.J., Huang, Y., Yu, H.J., Yuan, S., Tang, B.W., Wang, P.G., He, Q.Q.** (2017). Dietary total flavonoids intake and risk of mortality from all causes and cardiovascular disease in the general population: A systematic review and meta-analysis of cohort studies. – *Molecular Nutrition and Food Research*. Nr. 61(6), pp. 1-7.
- Liu, Y.J., Zhan, J., Liu, X.L., Wang, Y., Ji, J., He, Q.Q.** (2014). Dietary flavonoids intake and risk of type 2 diabetes: A meta-analysis of prospective cohort studies. – *Clinical Nutrition*. Nr. 33, pp. 59–63.
- Ma, F., Cheng, L.** (2004). Exposure of the shaded side of apple fruit to full sun leads to up-regulation of both the xanthophylls cycle and the ascorbate-glutathione cycle. – *Plant Science*. Nr. 166, pp. 1479–1486.
- Mahepõllumajanduse register.** (2017). Mahepõllumajanduslik taimekasvatus 2017 (vabariik kokku). (26.04.2018)
- Mainla, L.** (2013). Changes in the biochemical composition of apple (*Malus domestica* Borkh.) fruits depending on rootstock and calcium treatment. A Thesis for applying for the degree of Doctor of Philosophy in Agriculture. 108 pp.
- Mainla, L., Moor, U., Karp, K.** (2009). Põhjamaised õunad on tervislikud. *Maamajandus*. Nr. 7, lk. 18-19.
- Mainla, L., Moor, U., Karp, K., Püssa, T.** (2011). The effect of genotype and rootstock on polyphenol composition of selected apple cultivars in Estonia. *Žemdirbystē = Agriculture*. Nr. 98(1), pp. 63-70.
- Malik, N., Perez, J., Lombardini, L., Cornacchia, R., Cisneros-Zevallo, L., Bradford, J.** (2009). Phenolic compounds and fatty acid composition of organic and conventional green kernels. – *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Nr. 89(13), pp. 2207–2213.
- Manzoor, M., Anwar, F., Saari, N., Ashraf, M.** (2012). Variations of antioxidant characteristics and mineral contents in pulp and peel of different Apple (*Malus domestica* Borkh.) cultivars from Pakistan. – *Molecules*. Nr. 17, pp. 390-407
- Marzban, G; Puehringer, H; Dey, R; Brynda, S; Ma, Y; Martinelly, A; Zaccarini, M; van der Weg, E; Housley, Z; Kolarich, D; Altmann, F; Laimer, M.** (2005). Localisation and distribution of the major allergens in apple fruits. – *Plant Science*. Nr. 169, pp. 387-395.
- Matthes, A., Schmitz-Eiberger, M.** (2009). Apple (*Malus domestica* L. Borkh.) Allergen Mal d 1: Effect of cultivar, cultivation system, and storage conditions. – *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Nr. 57, pp. 10548-10553.
- Meyers, K.J., Watkins, C.B., Pritts, M.P., Liu, R.H.** (2003). Antioxidant and antiproliferative activities of strawberries. – *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Nr. 51, pp. 6887–6892.
- Mitchell, A.E., Hong, Y.J., Koh, E., Barrett, D.M., Bryant, D.E., Denison, E.F., Kaffka, S.** (2007). Ten-Year Comparison of the Influence of Organic and Conventional Crop Management Practices on the Content of Flavonoids in Tomatoes. – *Journal of Agricultural Food Chemistry*. Nr. 55, pp. 6154-6159.

- Mitic, S.S., Stojanovic, B.T., Stojanovic, M.B., Mitic, N.N., Pavlovic, J.L.** (2013). Total phenolics, flavonoids and antioxidant activity of different apple cultivars. – *Bulgarian Chemical Communications*. Nr. 45(3), pp. 326-331.
- Moor, U., Heinmaa, L., Põldma, P.** (2017). Mükotoksiin patuliin maheõunamahlas ja selle teket mõjutavad tegurid. – *Teaduselt mahepõllumajandusele 2017*. Lk. 101-104.
- Moor, U., Moor, A., Põldma, P., Heinmaa, L.** (2014). Consumer preferences of apples in Estonia and changes in attitudes over five years. – *Agricultural and Food Science*. Nr. 23, pp. 135-145.
- Moor, U., Põldma, P., Heinmaa, L.** (2016). Õunamahla kvaliteet sõltuvalt õunte tootmisviisist, säilitustingimustest ja pressimismeetodist. – *Aiandusfoorum 2016*. Lk. 16-20.
- Nachtigall, G.R., Dechen, A.R.** (2006). Seasonality of nutrients in leaves and fruits of Apple trees. – *Scientia Agricola*. Nr. 63(5), pp. 493-501
- Nemeskeri, E., Kovacs-Nagy, E., Nyeki, J., Sardi, E.** (2015). Responses of apple tree cultivars to drought: carbohydrate composition in the leaves. – *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 39:949-957. Postharvest physiological disorders, diseases and mineral concentrations of organically and conventionally grown McIntosh and Cortland apples. – *Canadian Journal of Plant Science*. Nr. 73(1), pp. 223-230.
- Nõmm, V., Karus, V., Lepiku, T., Kõlli, R., Leis, L., Pällin, R., Oraste, L., Lepik, A.** (2001). Kui valite õuna. – *Transactions of the Estonian Academic Agricultural Society*. Nr. 15, pp. 55-58.
- O'Neil, C.E., Nicklas, T.A., Fulgoni, V. L.** (2015). Consumption of apples is associated with a better diet quality and reduced risk of obesity in children: National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2003–2010. – *Nutritional Journal*. Nr. 14, pp. 1-9.
- Ovaskainen ML, Törrönen R, Koponen JM, Sinkko H, Hellström J, Reinivuo H, et al.** (2008). Dietary intake and major food sources of polyphenols in Finnish adults. – *The Journal of Nutrition*. Nr. 138(3), pp. 562-566.
- Pagliarani, G., Paris, R., Arens, P., Tartarini, S., Ricci, G., Smulders, M., van de Weg, W.E.** (2013). A qRT-PCR assay for the expression of all Mal d 1 isoallergen genes. – *BMC Plant Biology*. Pp.13-51.
- Pagliarani, G., Paris, R., Iorio, A.R., Tartarini, S., Del Duca, S., Arens, P., Peters, S., van de Weg, E.** (2011). Genomic organization of the Mal d 1 gene cluster on lineage group 16 in apple. – *Molecular Breeding*. Nr. 29, pp. 759-778
- Pagliarani, G., Paris, R., Tartarini, S., Sansavini, S.** (2009). Cloning and expression of the major allergen genes in apple fruit. - *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. ISAFRUIT Special Issue, pp. 176-181.
- Palacin, A., Rivas, L.A., Gomez-Casado, C., Aguirre, J., Tordesillas, L., Bartra, J., Blanco, C., Carrillo, T., Guesta-Herranz, J., et al.** (2012). The involvement of thaumatin-like proteins in plant food cross-reactivity: a multicenter study using a specific protein microarray. – *Plos One*. Nr 8(9), pp. 1-11.
- Paquariello, M. S., Palazzo P., Tuppo, L., Mariana, L., Petriccione, M., Rega, P., tartaglia, A., Tamburrini, M., Alessandri, C., Ciardiello M. A., Mari, A.** (2012). Analysis of the potential allergenicity of traditional apple cultivars by Multiplex Biochip-Based Immunoassay. – *Food Chemistry*. Nr. 135, pp. 219-227.
- Peck, G.M., Merwin, I.A., Watkins, C.B.** (2009). Maturity and Quality of 'Liberty' Apple Fruit Under Integrated and Organic Fruit Production Systems Are Similar. – *HortScience*. Nr. 44(5), pp. 1382-1389.

- Pérez-Jiménez J, Arranz S, Tabernero M, Díaz-Rubio ME, Serrano J, Goñi I, et al.** (2008). Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results- *Food Research International*. Nr. 41(3), pp. 274- 285.
- Pérez-Jiménez J, Fezeu L, Touvier M, Arnault N, Manach C, Hercberg S, et al.** (2011). Dietary intake of 337 polyphenols in French adults. – *The American Journal of Clinical Nutrition*. Nr. 93(6), pp. 1220-28..
- Pitsi, T. et al.** (2017). Eesti toitumis- ja liikumissoovitused 2015. Tervise Arengu Instituut. Tallinn. 338 lk.
- Planchon, V., Lateur, M., Dupont, P., Lognay, G.** (2004). Ascorbic acid level of Belgian apple genetic resources. – *Scientia Horticulturae*. Nr. 100, pp. 1-61.
- Põllumajandusministeerium.** (2015). Eesti aiandussektori arengukava aastateks 2015–2020, lisa 1. 87 lk.
- Puehringer, H., Moll, D., Hoffmann-Sommergruber, K., Watillon,B., Katinger, H., Laimer da Camara Machado, M.** (2000). The promoter of an apple Ypr10 gene, encoding the major allergen Mal d 1, is stress- and pathogen inducible. – *Plant Science*. Nr. 152, pp 35-50.
- Puehringer, H.M., Zinoecker, I., Marzban, G., Katinger, H., Laimer, M.** (2003). MdAP, a novel protein in apple, is associated with the major allergen Mal d 1. – *Gene*. Nr. 321, pp. 173-183.
- Re, R., Pellergini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C.** (1999). Antioxidant activity applying an improve ABTS radical cation decolorization assay. –*Free Radical Biology and Medicine*. Nr. 26(9-10), pp. 1237-1237.
- Ritenour, M., Khemir, H.** (2007). Red color development of apple: A literature review. Washington State University – Tree Fruit Research and Extension Centre. 10 pp.
- Ross, S.A., McCaffery, P.J., Drager, U.C., De Luca, L.M.** (2000). Retinoids in embryonal development. – *Physiological Reviews*. Nr. 80(3), pp. 1021–1054.
- Rupasinghe, H.P.V., Thilakarathna, A., Nair, S.** (2013). Polyphenols of apples and their potential health benefits. – *Nova Science Publishers, chapter*. Nr. 16, pp. 333-368.
- Sanchez-Rangel, J.C., Benavides, J., Heredia, J.B., Cisneros-Zevallos, C., Jacobo-Velazques, D.A.** (2013). The Folin–Ciocalteu assay revisited: Improvement of its specificity for total phenolic content determination. – *Analytical Methods*. Nr. 5, pp. 5990–5999.
- Sancho, A.I., Foxall, R., Browne, T., Dey, R., Zuidmeer, L., Marzban, G., Waldron, K.W., van Ree, R., Hoffmann-Sommergruber, K., Laimer, M., Mills, E.N.C.** (2006). Effect of postharvest storage on the expression of the apple allergen Mal d 1. – *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Nr. 54, pp. 5917-5923.
- Scalbert, A., Williamson, G.** (2000). Dietary Intake and bioavailability of polyphenols. – *Journal of Nutrition*. Nr. 130(8), pp. 2073-2085.
- Scheurer, S., Wangorsch, A., Nerkamp, J., Skov, P.S., Ballmer-Weber, B., Wüthrich, B., Wüthrich, B., Haustein, D., Vieths, S.** (2001). Cross-reactivity within the profilin panallergen family investigated by comparison of recombinant profilins from pear (Pyr c 4), cherry (Pru av 4) and celery (Api g 4) with birch pollen profilin Bet v 2. – *Clinical and Experimental Allergy*. Nr 36, pp 1087-1096.
- Stracke, B.A., Rufer, C.E., Weibel, F.p., Bub, A., Watzl, B.** (2009). Three-Year Comparison of the Polyphenol Contents and Antioxidant Capacities in Organically and Conventionally Produced Apples (*Malus domestica* Bork. Cultivar ‘Golden Delicious’) – *The Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Nr. 57(11), pp. 4598-4605.

- Sun, J., Chu, Y.F., Wu, X., Liu, R.H.** (2002). Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. – *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Nr. 50, pp. 7449-7454.
- Suni, M., Nyman, M., Eriksson, N.A., Björk, L., Björck, I.** (2000) Carbohydrate composition and contents of organic acids in fresh and stored apples. – *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Nr. 80, pp. 1538-1544.
- Szamos, J; Takacs, K; Szabo, E.E; Kovacs, E; Gelencser, E.** (2011). Purification of natural Mal d 1 and Mal d 2 allergens and monitoring of their expression levels during ripening in Golden Delicious apple. – *Food Research International*. Nr. 44, pp. 2674-2678
- Todea, D., Cadar, O., Dimedru, D., Roman, C., Tanaselia, C., Suatean, I., Naghiu, A.** (2014). Determination of major-to-trace minerals and polyphenols in different apple cultivars. – *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. Nr. 42(2), pp. 523-529.
- Tresserra-Rimbau A, Medina-Remón A, PérezJiménez J, Martínez-González MA, Covas MI, Corella D, et al.** (2013). Dietary intake and major food sources of polyphenols in a Spanish population at high cardiovascular risk: The PREDIMED study. – *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. Nr. 23(10), pp. 953-959.
- Tsao, R., Yang, R., Christopher, J., Zhu, Y., Zhu H.H.** (2003). Polyphenolic profiles in eight apple cultivars using high-performance liquid chromatography (HPLC). – *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Nr. 51, pp. 6347–6353.
- Tsao, R., Yang, R., Xie, S., Sockovie, E., Khanizadeh, S.** (2005). Which polyphenolic compounds contribute to the total antioxidant activities of apples? – *Journal of Agricultural Food Chemistry*. Nr. 53, pp. 4989-4995.
- Univer, N., Univer, T., Tiirmaa, K.** (2012). Õunapuu pookealuse E75 mõju enamlevinud ja uute õunasortide puu kasvule, saagile ja selle kvaliteedile. – *Agronoogia 2012*. Lk. 225-232.
- Valavanidis, A., Vlachogianni, T., Psomas, A., Zovoili, A., Siatis, V.** (2009). Polyphenolic profile and antioxidant activity of five apple cultivars grown under organic and conventional agricultural practices. – *International Journal of Food Science and Technology*. Nr. 44, pp. 1167-1175.
- Varming, C., Petersen, M.A., Toldam-Andersen, T.B.** (2013). Ascorbic acid contents in Danish apple cultivars and commercial apple juices. – *Food science and Technology*. Nr. 54(2), pp. 597-599.
- Veberic, R.; Trobec, M.; Herbinger, K.; Hofer, M.; Grill, D.; Stampar, F.** (2005). Phenolic compounds in some apple (*Malus domestica* Borkh.) cultivars of organic and integrated production. – *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Nr. 85, pp. 1687–1694.
- Vieira, F., Borges, G., Copetti, C., Valdemiro, G., Nunes, E., Fett, R.** (2009). Activity and contents of polyphenolic antioxidants in the whole fruit, flesh and peel of three apple cultivars. - *Archivo Latinoamericano de Nutricion*. Nr. 59, pp. 101-106.
- Vieths, S., Scheurer, S., Ballmer-Weber, B.** (2002). Current understanding of cross-reactivity of food allergens and pollen. – *Annals of the New York Academy of Sciences*. Nr. 964, pp. 47–68.
- Vrhovsek, U.; Rigo, A.; Tonon, D.; Mattivi, F.** (2004). Quantitation of polyphenols in different apple varieties. – *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Nr. 52, pp. 6532–6538.
- Wang, J., Xhang, Z., Huang, R.** (2013). Regulation of ascorbic acid synthesis in plants. - *Plant Signaling and Behavior*. Nr. 8, pp. 1-3.
- Wolfe, K., Wu, X.Z., Liu, R.H.** (2003). Antioxidant activity of apple peels. – *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Nr. 51, pp. 609–614.

- Yamaki, S.**, (1984). Isolation of vacuoles from immature apple fruit flesh and compartmentation of sugars organic acids, phenolic compounds and amino acids. – *Journal of Agricultural and Food Science*. Nr. 25, pp. 151–166.
- Zhang, Y.Z., Li, P.M., Cheng, L.L.** (2010) Developmental changes of carbohydrates, organic acids, amino acids, and phenolic compounds in ‘Honeycrisp’ apple flesh. – *Food Chemistry*. Nr. 123, pp. 1013–1018.

LISAD

Lisa 1. Lihtlitsents lõputöö salvestamiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks ning juhendaja(te) kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta

Mina, Rachel Puusta

(sünnipäev 07.02.1992)

1. annan Eesti Maaülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud lõputöö

Mõnede Eestis kasvatatud õunte (*Malus domestica* Borkh.) allergeensus ja antioksidantide sisaldus sõltuvalt sordist ja viljelusviisist,

mille juhendaja on dotsent Ulvi Moor ja teadur Tõnu Tõnutare,

- 1.1. salvestamiseks säilitamise eesmärgil,
- 1.2. digiarhiivi DSpace lisamiseks ja
- 1.3. veebikeskkonnas üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile;
3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Lõputöö autor

allkiri

Tartu, 28.05.2018

Juhendaja(te) kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta

Luban lõputöö kaitsmisele.

(juhendaja nimi ja allkiri)

(kuupäev)

(juhendaja nimi ja allkiri)

(kuupäev)